



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE



FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Trabalho de Licenciatura

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO LICOR DE
Vangueria infausta



Autora: Saquia Mussá Mustafa

Maputo, Junho de 2012



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



Trabalho de Licenciatura

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO LICOR DE
Vangueria infausta



Autora: Saquia Mussá Mustafa

Supervisor: Prof. Doutor François Munyemana

Maputo, Junho de 2012

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu esposo, IBRAIMO AMIR ABDUL CARIMO, e à minha maravilhosa filha, BELKISS SHARIZADE MUSTAFA ABDUL CARIMO, pelo amor, alegria, carinho e todo o apoio em todos os momentos.

Os que se encantam com a prática sem a ciência
são como os timoneiros que entram no navio
sem timão nem bússola,
nunca tendo certeza do seu destino.

Leonardo Da Vinci

AGRADECIMENTOS

Em primeiríssimo lugar agradeço a ALLAH, todo-poderoso e misericordioso, pela vida, benção e por estar sempre comigo iluminando os meus passos.

Agradeço aos meus pais, Mussá Mustafa e Fátima Abdala Assane, por todo o amor que têm por mim e pela preocupação e esforços feitos para minha educação.

Agradeço ao meu esposo Ibraimo Amir Abdul Carimo pelo apoio constante durante a realização deste trabalho e pela química que criou entre nós, fazendo com que a nossa família ficasse cada dia mais unida e forte.

Agradeço aos meus irmãos, meus sogros e minhas cunhadas pelo apoio, incentivo e muito carinho.

Agradeço ao meu supervisor Prof. Doutor François Munyemana pela paciência, ensinamentos, orientação, confiança em mim depositada, assistência e incentivo durante todas as fases do meu trabalho.

Agradeço a Prof. Doutora Fung Dai Kin pela orientação e colaboração prestada neste trabalho.

À dr^a Amélia e ao Nélio, vai o meu muito obrigado pela amizade e apoio que me concederam durante as práticas laboratoriais.

Agradeço imenso a todo o corpo docente da Faculdade de Ciências, com especial ênfase os do Departamento de Química, pelo esforço dado para a minha educação.

Aos Laboratórios Nacional de Higiene de Alimentos e Água (LNHAA) e de Investigação Agrária de Mocambique (IIAM), vai o meu muito obrigado pela orientação, atenção, paciência e acesso aos materiais para efectuar as análises.

Aos meus colegas e amigos Emília, Célia, Joice, Vina, Fátima, Odete, Abdulgani, Tchambule, Abdul Francisco, Cavele, Zucula, Zimila e todos aqueles que aqui não foram mencionados - mas que sempre desejaram o meu sucesso - agradeço bastante pela companhia que me fizeram durante o curso.

DECLARAÇÃO SOB COMPROMISSO DE HONRA

Declaro que este trabalho de fim do curso é o resultado da minha investigação e nunca foi apresentado na sua essência para quaisquer fins, estando indicadas no texto e nas referências bibliográficas todas as fontes por mim consultadas.

Autora

(Saquia Mussá Mustafa)

RESUMO

Vangueria infausta é uma das espécies nativas de Moçambique e de alguns países no sul da África cujas frutas são usadas para alimentação por pessoas e animais selvagens. As outras partes da planta são usadas na medicina tradicional para o tratamento da malária, feridas, problemas menstruais, uterinos, inchaços genitais, entre outros. No sul de Moçambique é conhecida pelo nome *Npfilua* e as suas frutas por *Mapfilua*.

Uma das principais aplicações das frutas de *Vangueria infausta* é na produção do licor, uma bebida alcoólica cuja produção é relativamente simples e representa uma alternativa para ter os componentes da fruta por longo tempo, uma vez que este (o licor) conserva-se à temperatura ambiente e apresenta uma extensa vida de prateleira.

No presente trabalho fez-se o estudo fitoquímico qualitativo e determinou-se as características físico-químicas da polpa e do licor produzido à base das frutas da espécie *Vangueria infausta*. Para o estudo fitoquímico, apenas a polpa da fruta foi macerada com o sistema de solventes MeOH-CH₂Cl₂ (1:1) e MeOH a 100% para a obtenção do extracto bruto. Os metabólitos secundários presentes nos extractos brutos da polpa e licor da fruta, foram identificados através de testes qualitativos específicos de identificação descritos por Brito *et al.* (2008), Matos (1997) e Di Stasi (1995). As análises físico-químicas das amostras de fruta e do licor foram realizadas de acordo com as normas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), excepto os minerais que foram determinados segundo o protocolo do Laboratory for Soil, Plant and Water Analysis (1991).

Os resultados deste trabalho mostram que para além de possuírem, nas suas composições, compostos de interesse farmacológico (tais como alcalóides, taninos, flavonóides, saponinas e esteróides), a polpa e o licor da fruta de *Vangueria infausta* são fontes de carboidratos, proteínas, vitamina C e minerais (tais como potássio, fósforo, sódio, ferro, zinco, cálcio e magnésio), podendo ser considerados como uma opção nutricional e medicinal.

ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS.....	iii
DECLARAÇÃO SOB COMPROMISSO DE HONRA.....	iv
RESUMO.....	v
GLOSSÁRIO DAS ABREVIATURAS/SÍMBOLOS.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJECTIVOS DO TRABALHO	3
2.1. Objectivo geral.....	3
2.2. Objectivos específicos.....	3
3. METODOLOGIA DO TRABALHO	4
3.1. Revisão bibliográfica	4
3.2. Amostragem	4
3.3. Análise laboratorial.....	4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4.1. Descrição e caracterização taxonómica de <i>Vangueria infausta</i>	5
4.2. Cultivo e propagação	7
4.3. Informação nutricional da polpa da fruta de <i>Vangueria infausta</i>	7
4.4. Actividades biológicas da planta <i>Vangueria infausta</i>	8
4.4.1. <i>Actividade antiinflamatória</i>	8
4.4.2. <i>Actividade antiviral</i>	8
4.4.3. <i>Actividade antimicrobiana</i>	8
4.4.4. <i>Actividade antioxidante</i>	8
4.4.5. <i>Actividade antiplasmodial</i>	8
4.4.6. <i>Outras actividades</i>	9
4.5. Principais constituintes químicos identificados na <i>Vangueria infausta</i>	9

4.6.	Caracterização do licor.....	12
4.6.1.	<i>Definição</i>	12
4.6.2.	<i>Classificação do licor</i>	12
4.6.3.	<i>Composição do licor</i>	12
4.6.4.	<i>Processamento do licor</i>	14
4.7.	Descrição das características físico-químicas determinadas e dos nutrientes quantificados	15
4.7.1.	<i>pH</i>	15
4.7.2.	<i>Grau alcoólico</i>	15
4.7.3.	<i>Índice de refração</i>	15
4.7.4.	<i>Sólidos solúveis (°Brix)</i>	16
4.7.5.	<i>Densidade relativa</i>	16
4.7.6.	<i>Resíduo seco</i>	16
4.7.7.	<i>Acidez</i>	16
4.7.8.	<i>Cinzas</i>	17
4.7.9.	<i>Carboidratos</i>	17
4.7.10.	<i>Proteínas</i>	18
4.7.11.	<i>Vitamina C</i>	20
4.7.12.	<i>Minerais</i>	21
5.	PARTE EXPERIMENTAL	23
5.1.	Colecta e preparação das amostras	23
5.2.	Extracção por maceração e preparação das fracções	23
5.3.	Testes fitoquímicos qualitativos	26
5.3.1.	<i>Identificação de flavonóides</i>	26
5.3.2.	<i>Identificação de taninos</i>	26
5.3.3.	<i>Identificação de saponinas</i>	26

5.3.4.	<i>Identificação de esteróides e triterpenóides.....</i>	26
5.3.5.	<i>Identificação de alcalóides.....</i>	27
5.4.	Determinação das características físico-químicas e dos teores dos nutrientes.....	27
5.4.1.	<i>Determinação de pH.....</i>	27
5.4.2.	<i>Determinação de grau alcoólico</i>	27
5.4.3.	<i>Determinação de índice de refração.....</i>	28
5.4.4.	<i>Determinação de sólidos solúveis (°BRIX)</i>	28
5.4.5.	<i>Determinação de densidade relativa</i>	28
5.4.6.	<i>Determinação de resíduo seco</i>	28
5.4.7.	<i>Determinação de acidez total titulável</i>	28
5.4.8.	<i>Determinação de cinzas</i>	29
5.4.9.	<i>Determinação de glícidos redutores em glicose.....</i>	29
5.4.10.	<i>Determinação de glícidos não redutores em sacarose</i>	30
5.4.11.	<i>Determinação de vitamina C.....</i>	30
5.4.12.	<i>Determinação de nitrogénio total.....</i>	30
5.4.13.	<i>Determinação de composição mineral</i>	31
6.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	37
6.1.	Resultados dos testes fitoquímicos da polpa e do licor da fruta	37
6.2.	Resultados das análises físico-químicas do licor e polpa de fruta de <i>Vangueria infausta</i>	38
6.3.	Resultados da composição mineral da polpa e do licor da fruta de <i>Vangueria infausta</i>	41
7.	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição da polpa de fruta <i>Vangueria infausta</i> em 100g	7
Tabela 2. Lista dos compostos identificados nas folhas de <i>Vangueria infausta</i>	10
Tabela 3. Classificação do licores segundo o teor de sacarose	12
Tabela 4. Minerais e suas funções no organismo humano	22
Tabela 5. Resumo da preparação de soluções-padrão de cálcio.....	33
Tabela 6. Resumo da preparação de soluções-padrão de magnésio	33
Tabela 7. Resumo da preparação de soluções-padrão de sódio.....	33
Tabela 8. Resumo da preparação de soluções-padrão de potássio	34
Tabela 9. Resumo da preparação de de soluções-padrão de fósforo	34
Tabela 10. Resumo da preparação de soluções-padrão de ferro.....	34
Tabela 11. Resumo da preparação de de soluções-padrão de zinco	35
Tabela 12. Resultados obtidos nos testes de identificação fitoquímica na polpa de fruta de <i>Vangueria infausta</i>	37
Tabela 13. Resultados dos testes de identificação fitoquímica no licor de <i>Vangueria infausta</i>	37
Tabela 14. Resultados das análises físico-químicas para a amostra da polpa da fruta	38
Tabela 15. Resultados das análises físico-químicas para a amostra do licor	39
Tabela 16. Comparação do grau alcoólico e SST nos licores	40
Tabela 17. Teor de minerais na polpa de fruta	41
Tabela 18. Teor de minerais no licor	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagem ilustrativa de <i>Vangueria infausta</i>	5
Figura 2. Frutas de <i>Vangueria infausta</i> (<i>Mapfilua</i>)	6
Figura 3. Extensão nativa de <i>Vangueria infausta</i>	6
Figura 4. Estruturas dos compostos isolados das folhas de <i>Vangueria infausta</i> (<i>Npfilua</i>).	11
Figura 5. Esquema da composição do licor.....	14
Figura 6. Fluxograma de sequência metodológica para obtenção das fracções usadas para análises fitoquímicas.	25

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Padrões usados para leituras.....	A-I
ANEXO B : Fórmulas usadas para cálculos.....	A-II
ANEXO C: Gráficos e tabelas de emissões e absorvâncias das soluções-padrão.....	A-VI
ANEXO D: Concentrações dos minerais nas amostras	A-X

GLOSSÁRIO DAS ABREVIATURAS/SÍMBOLOS

%RSD	Desvio padrão relativo percentual
Abs	Absorvância
ATT	Acidez total titulável
But	Butanol
⁰ Brix	Concentrações percentuais dos sólidos solúveis numa amostra
Conc	Concentrado
EDTA	Ácido etilenodiaminotetraacético
EtOAc	Acetato de etilo
f dil	Factor de diluição
Hex	Hexano
int.	Intermediária
ppm	Partes por milhão
R	Réplica
s	Desvio padrão
SE	Sinal de emissão
sol.	Solução
SST	Sólidos solúveis totais
V	Volume
\bar{x}	Média aritmética

1. INTRODUÇÃO

As frutas nativas representam um importante recurso alimentar, valor medicinal e sócio-económico. As frutas de *Vangueria infausta* (*Mapfilua*) são alimentos para as pessoas bem como para os animais selvagens, enquanto as diferentes partes da planta são usadas na medicina para o tratamento da malária, feridas, problemas menstruais, uterinos, inchaços genitais, entre outros. As frutas são castanho-alaranjadas quando maduras e a parte comestível é doce com aspecto alaranjado. A fruta fresca pode ser secada e armazenada por um ano para uma eventual época de crise. Estas frutas são colhidas entre Janeiro e Maio e tem um valor comercial considerável, podendo ser encontradas em muitos mercados e bancas informais da cidade de Maputo.

Pelo seu elevado valor nutritivo as frutas desta planta são vistas como uma das mais viáveis alternativas para aliviar a subnutrição, razão pela qual o Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM), segundo o seu boletim trimestral nº7 de 2011, desencadeou uma campanha de enxertia, nos princípios de 2007, de tal modo que a espécie de *Vangueria infausta* (*Npfilua*) fosse domesticada e plantada nas residências ou machambas das comunidades afim de vencer a subnutrição verificada em alguns pontos do país.

Além de servirem como recurso alimentar, a partir das frutas de *Vangueria infausta* produz-se, de entre outros, o licor, que é uma bebida alcoólica obtida pela mistura das frutas, álcool, água e açúcar. O licor, por sua vez, representa uma bebida nutricional cuja técnica de produção é relativamente simples e é uma alternativa para o aproveitamento das frutas, uma vez que conserva-se à temperatura ambiente e resiste por um intervalo de tempo considerável comparativamente às frutas. Além disso, a produção artesanal do licor constitui uma forma de aumentar a renda familiar de pequenos agricultores ou produtores. O seu processamento consiste em misturar proporções adequadas dos ingredientes acima citados.

O licor analisado de marca “GUTSAMBA” é de preparação caseira e pode ser obtido em diferentes lojas de conveniência dos postos de abastecimento de combustíveis e estadias turísticas de Maputo, Gaza, Inhambane, etc.

No presente trabalho realizaram-se estudos fitoquímicos qualitativos, determinou-se as características físico-químicas da polpa e do licor produzido na base das frutas de *Vangueria infausta*.

A análise fitoquímica refere-se à pesquisa dos princípios activos elaborados pela planta que são responsáveis pelas propriedades curativas que explicam o seu uso na medicina tradicional. As análises físico-químicas referem-se à determinação de pH, ATT, resíduo seco, cinzas, densidade, grau alcoólico, índice de refração, SST, vitamina C, carboidratos, nitrogénio total, proteína e minerais (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, e Zn).

É de grande importância a determinação dos componentes nutricionais bem como a identificação dos metabólitos secundários presentes na polpa e no licor à base de frutas de *Vangueria infausta*, pois servem de alimentos e bebida, respectivamente, para as comunidades.

Este estudo é importante na medida em que contribui para fornecer informações sobre a composição fitoquímica e físico-química, que são importantes no controlo de qualidade, no desenvolvimento de novos produtos e na monitorização da legislação sobre os licores. Desta forma, esta pesquisa foi realizada com o intuito de contribuir para um aproveitamento mais racional dos recursos naturais gerando benefícios sociais e económicos.

2. OBJECTIVOS DO TRABALHO

2.1. Objectivo geral

- Avaliar a composição fitoquímica e características físico-químicas da polpa e do licor derivado da fruta de *Vangueria infausta*, no âmbito de determinar o seu potencial nutricional e medicinal.

2.2. Objectivos específicos

- Realizar testes fitoquímicos qualitativos nos extractos da polpa e do licor da fruta de *Vangueria infausta*;
- Determinar algumas características físico-químicas da polpa (pH, ATT, cinzas, açúcares redutores e não redutores, proteína e vitamina C);
- Determinar as características físico-químicas do licor (SST, resíduo seco, grau alcoólico, densidade relativa, índice de refração, pH, ATT, cinzas, açúcares redutores e não redutores, nitrogénio total e vitamina C);
- Determinar a composição mineral da polpa e do licor da fruta de *Vangueria infausta* (Na, K, Ca, Mg, P, Fe e Zn).

3. METODOLOGIA DO TRABALHO

Este trabalho teve como principais fases metodológicas a revisão bibliográfica, amostragem e a análise laboratorial.

3.1. Revisão bibliográfica

Com base na revisão da literatura existente, foram sistematizadas as informações fitoquímicas e físico-químicas sobre a espécie de *Vangueria infausta*, o seu valor nutritivo, uso na medicina tradicional, as principais classes de compostos por esta elaborados, as actividades biológicas e farmacológicas.

Foram também sistematizadas informações sobre os licores no geral, principalmente as suas características.

3.2. Amostragem

Passado o processo teórico inicial do trabalho, seguiu-se a fase prática que teve como incidência a preparação das amostras para a análise laboratorial. As frutas de *Vangueria infausta* foram obtidas em Bobole. O licor de preparação caseira foi obtido no posto de venda de abastecimento de combustíveis GALP-praça da OMM na Cidade de Maputo.

3.3. Análise laboratorial

A análise laboratorial, ou parte experimental, consistiu da preparação do material vegetal, extracção por solvente a frio e obtenção do extracto bruto. A partir do extracto bruto concentrado obtido, fez-se sucessivas partições para a separação e identificação das principais fracções de constituintes químicos da espécie em questão, no laboratório de produtos naturais do Departamento de Química da UEM.

Consistiu ainda de análises físico-químicas da polpa e do licor da fruta para a determinação de pH, ATT, resíduo seco, cinzas, densidade, grau alcoólico, índice de refacção, SST, vitamina C, açúcares redutores em glicose, açúcares não redutores em sacarose, nitrogénio total e minerais (Ca, Mg, P, K, Na, Fe, e Zn). De referir que o resíduo seco, grau alcoólico, índice de refacção, SST e densidade não foram determinadas para amostra da polpa de fruta. As análises foram feitas no laboratório do IIAM, no LNHA e no Departamento de Química da UEM.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Descrição e caracterização taxonômica de *Vangueria infausta*



Reino - Plantae

Sub.divisão - Magnoliophyta

Classe - Magnoliopsida

Ordem - Gentianales

Família - Rubiaceae

Gênero - *Vangueria*

Espécie – *infausta*

(USDA, ARS, National Genetic Resources Program, 2011)

Figura 1. Imagem ilustrativa de *Vangueria infausta*

'*Vangueria*', o nome genérico, é derivado de uma palavra de Madagáscar, e '*infausta*', que significa azar, pois não se deve fazer da madeira uma fonte de combustível, ela deve ser apenas usada para outros fins como postes de casas e implementos agrícolas (Orwa *et al.*, 2009).

O gênero *Vangueria* contém cerca de 50 espécies distribuídas pela África Austral. A *Vangueria infausta* (figura 1) é uma planta de 2-7 m de altura com tronco curto, folhas verdes médias ou grandes, variando de forma oval a arredondada. Durante a floração ela apresenta flores com cerca de 4 mm de comprimento e 6 mm de diâmetro com pétalas verde-amarelas. As suas frutas são verdes quando não maduras e castanho-alaranjadas quando maduras, conforme ilustrado na figura 2. É uma fruta carnuda, macia, de polpa doce (parte comestível) e possui 3 a 5 rígidas sementes (Watt e Breyer-Brandwijk, 1962).

Vangueria infausta é uma espécie nativa de Moçambique onde é mais conhecido no sul deste país (em tsonga) por "*Npfilua*" e a sua fruta por "*Mapfilua*". É conhecida em português como "nêspera selvagem" (Watt e Breyer-Brandwijk, 1962).

As frutas de *Vangueria infausta* são alimentos para as pessoas bem como para os animais selvagens, enquanto as diferentes partes da planta são usadas na medicina. Estas frutas têm

como a época de colheita entre Janeiro e Maio podendo ser secadas e armazenadas por um ano para uma eventual época de crise (Chhabra *et al.*, 1984).



Figura 2. Frutas de *Vangueria infausta* (*Mapfilua*) (Fonte: Verdcourt e Bridson, 1991).

Esta espécie para além de ser considerada nativa de Moçambique, é também nativa de Botswana, Quênia, Madagáscar, Malawi, Namíbia, África do Sul, Tanzânia, Uganda, Zimbabwe, conforme ilustrado na figura 3 (Verdcourt e Bridson, 1991).

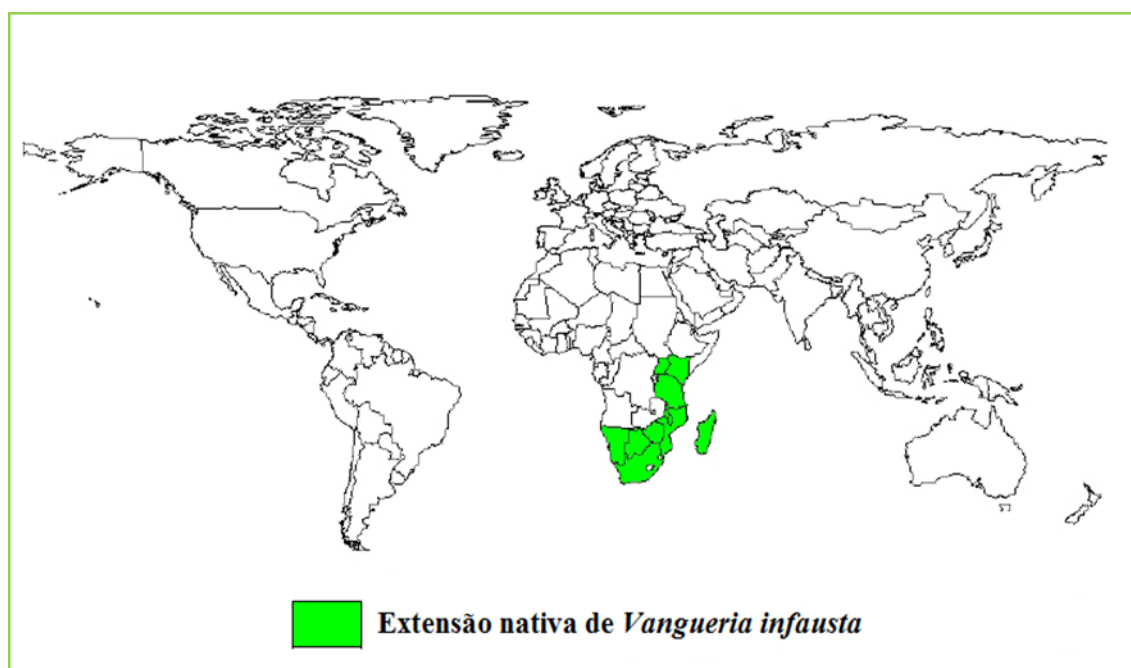


Figura 3. Extensão nativa de *Vangueria infausta* (Fonte: Orwa *et al.*, 2009).

4.2. Cultivo e propagação

Estas plantas podem ser cultivadas a partir de estacas ou sementes, mas raramente é encontrada em cultura. Antes de plantar as sementes são retiradas da polpa, secadas e batidas para enfraquecer o revestimento (Orwa *et al.*, 2009).

A *Vangueria infausta* tem uma distribuição mundial e é encontrada em todos os tipos de florestas, especialmente em cumes rochosos, preferindo, entretanto, solos vermelhos ou amarelo-avermelhados, argilosos ou arenosos, em locais rochosos ou arenosos, também próximo do mar. Depois de plantada ela é resistente à seca e ao frio moderado. Pode ser cultivada a uma temperatura média anual entre 17-28 °C, e a precipitação média anual entre 1000 - 1500 mm (Orwa *et al.*, 2009).

4.3. Informação nutricional da polpa da fruta de *Vangueria infausta*

As frutas de *Vangueria infausta* são uma fonte de carboidratos, proteínas, vitamina C (ácido ascórbico) e de minerais, em destaque potássio (K), sódio (Na), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P), ferro (Fe) e zinco (Zn).

A tabela 1 mostra a dispersão de valores obtidos na análise da polpa da fruta de *Vangueria infausta* em Tanzania por Emmanuel *et al.* (2011), e em Botswana por Orwa *et al.* (2009) e por Amarteifio e Mosase (2006).

Tabela 1. Composição da polpa de fruta *Vangueria infausta* em 100g

Em 100g de polpa de fruta	(Emmanuel <i>et al.</i> , 2011) Tanzania	(Orwa <i>et al.</i> , 2009) Botswana	(Amarteifio e Mosase, 2006) Botswana
pH	-	-	3.38
Proteína	3.1 mg	1.4 g	-
Vitamina C	11.50 mg	3.7g	67.7 mg
Na	160.81 mg	28 mg	13.7 mg
K	747.26 mg	-	1683 mg
P	86.86 mg	-	128 mg
Ca	186.86 mg	-	124 mg
Mg	18.62 mg	-	99 mg
Fe	24.43 mg	-	0.09 mg
Zn	7.05 mg	-	0.02 mg

4.4. Actividades biológicas da planta *Vangueria infausta*

4.4.1. Actividade antiinflamatória

A cataplasma feita das folhas da planta *Vangueria infausta* é usada na medicina tradicional para tratar inchaços nas pernas e inflamação do umbigo em crianças (Orwa *et al.*, 2009). A actividade antiinflamatória das folhas de *Vangueria infausta* resulta da presença de compostos fenólicos, tais como taninos e flavonóides (Herrmann e Kucera, 2008).

4.4.2. Actividade antiviral

Actualmente estão sendo aprofundadas pesquisas que visam comprovar a intervenção dos vários produtos do metabolismo secundário das plantas inibir a acção do vírus de HIV. Face a isto, Herrmann e Kucera (2008) estudaram a influência dos extractos aquosos das folhas da planta *Vangueria infausta* e descobriram que estes inibiam a infecção e a replicação do vírus HIV-1. Eles concluíram que este efeito resulta das actividades antivirais dos compostos polifenólicos presentes nestes extractos.

4.4.3. Actividade antimicrobiana

A infusão de raízes da planta *Vangueria infausta* revelou a actividade antimicrobiana acentuada contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* e *Escherichia coli*. Esta interessante actividade farmacológica das raízes da planta *Vangueria infausta* deve-se principalmente à presença nela de saponinas e compostos fenólicos (tais como taninos, flavonóides) (Doss *et al.*, 2009 e Mbukwa *et al.*, 2007).

4.4.4. Actividade antioxidante

Como era esperado pela ocorrência de flavonóides, esteróides, vitamina C, taninos e saponinas, os extractos foliares da planta *Vangueria infausta* exibiram a actividade antioxidante (Nundkumar e Ojewole, 2002).

4.4.5. Actividade antiplasmodial

Os médicos tradicionais usam as raízes para várias doenças como malária por possuírem na sua composição a cloroquina. Os alcalóides apresentam actividade contra certos hematozoários, tais como *vivae*, *vivax*, *ovale*, *malariae* e *falciparum* (Nundkumar e Ojewole, 2002)..

4.4.6. Outras actividades

A infusão de raízes é usada para tratar tosses e outras dificuldades de tórax e pneumonia (Orwa *et al.*, 2009).

A decocção das raízes é usada como um purgante e um anti-helmíntico, e também é um remédio popular para tratar mordeduras de cobras (Orwa *et al.*, 2009).

A infusão das folhas é usada no tratamento de dores no abdómen e para o alívio de dor de dentes (Orwa *et al.*, 2009).

Na África Austral, a decocção é usada como um remédio para problemas menstruais e uterinos (Orwa *et al.*, 2009).

4.5. Principais constituintes químicos identificados na *Vangueria infausta*

A literatura descreve poucos estudos sobre a fitoquímica da espécie de *Vangueria infausta*. Nos poucos estudos realizados, segundo Mbukwa *et al.* (2007) e Abeer (2011) predomina mais o isolamento de flavonóides, entretanto já foram também isolados um biflavonóide e um derivado policétido. A tabela 2 apresenta a lista dos compostos isolados das folhas, e na figura 4 as respectivas estruturas. Estudos realizados por Yenesew *et al.* (2006) revelam nas raízes da planta a presença de flavonóides, alcalóides, taninos, saponinas, cumarinas, esteróides e antraquinonas nas raízes da planta.

Tabela 2. Lista dos compostos identificados nas folhas de *Vangueria infausta*.

Classe / Compostos	Nº Estrutura	Referência
Flavonóides		
Luteína-7-O-rutinósido	1	Abeer (2011)
Apigenina-7-rutinósido	2	Abeer (2011)
Luteína-4'-O-glicósido	3	Abeer (2011)
Quercetina-3-glicósido	4	Abeer (2011)
Quercetina	5	Abeer, 2011)
Luteolina	6	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
Epiáfzelequina	7	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
(-)-epicatequina	8	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
Dihidroquercetina-3'-O-glicósido	9	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
Daidzeína	10	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
Genisteína	11	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
Dihidrocaempferol	12	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
Biflavonóide		
5,7,3',5'',7'',4'''-hexahidroxi (4'-O-3''')-biflavona	13	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)
Policétido		
Metilciclohex-1-eno	14	Mbukwa <i>et al.</i> (2007)

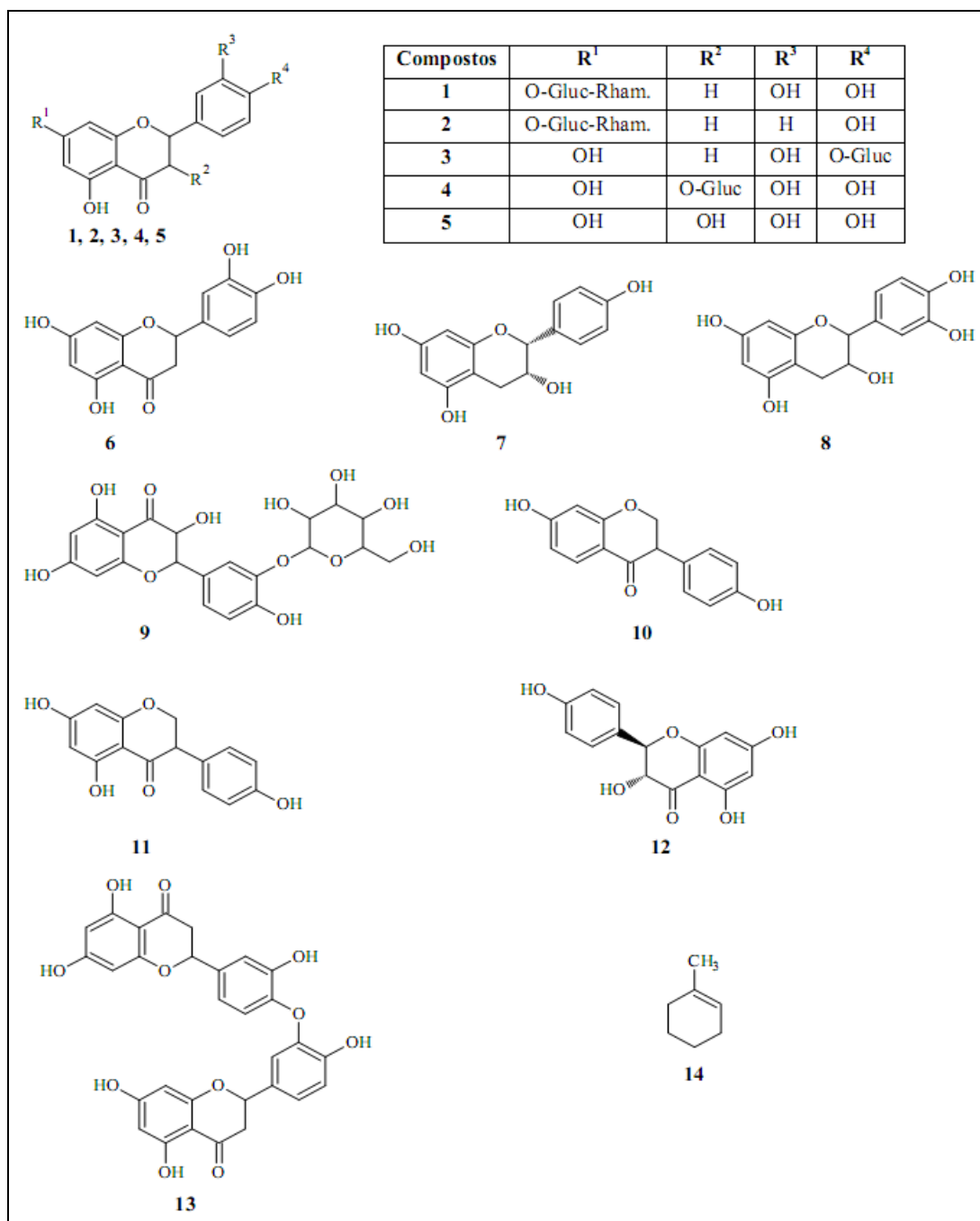


Figura 4. Estruturas dos compostos isolados das folhas de *Vangueria infausta* (*Npfilua*).

4.6. Caracterização do licor

4.6.1. Definição

A literatura apresenta definições variadas para o licor, mas nelas podem ser evidenciados elementos comuns considerados essenciais na sua composição: álcool, aromatizantes e açúcar. Uma das definições aceites é: “bebida que compreende a mistura de álcool, açúcar, água e aromatizantes” (Teixeira *et al.*, 2007).

4.6.2. Classificação do licor

Segundo Teixeira *et al.* (2011), a classificação dos licores leva em conta, principalmente, o teor de açúcar, expresso em sacarose. Deste modo, os licores são classificados em secos, doces, finos e cremosos como mostra a tabela 3.

Tabela 3. Classificação dos licores segundo o teor de sacarose

Tipos de Licores	Concentração de sacarose
Secos	30 a 100 g de Sacarose/litro
Doces	100 a 200 g de Sacarose/litro
Finos	200 a 350 g de Sacarose/litro
Cremosos	Mais que 350 g de Sacarose/litro

Aos licores onde ocorre a cristalização do açúcar que se encontra além do ponto de saturação, dá-se a denominação de *cristalizados*.

4.6.3. Composição do licor

4.6.3.1. Álcool

O álcool empregado na preparação dos licores deve ser potável pelo que o álcool etílico comum vendido em farmácias, não pode ser utilizado pelo facto de conter compostos tóxicos como o metanol que é prejudicial à saúde. O álcool de cereais, o whisky e a vodka são exemplos de fontes de álcool que são mais utilizados na preparação de licores de frutas (Teixeira, 2004).

4.6.3.2. Açúcar

A fonte de açúcares pode ser o açúcar branco comercial ou xarope de açúcar obtido pela simples fervura do açúcar com água até à dissolução completa. Este último procedimento facilita a posterior homogeneização com a solução hidroalcoólica (Penha *et al.*, 2003).

A sacarose melhora a qualidade do licor. Para isso é necessário evitar a turvação ou coloração do xarope, com precipitação de impurezas dissolvidas ou em suspensão (Enturini e Waldemar, 2010).

Os licores são bebidas que possuem grandes variações quanto à matéria-prima, teor alcoólico e quanto ao teor de açúcar. Conforme Teixeira *et al.* (2011), o licor deve possuir no mínimo 30 g de açúcar por litro e, não havendo limite superior, são normalmente empregados valores superiores ao mínimo exigido.

4.6.3.3. Aromatizantes

Os aromatizantes conferem o bom aroma e sabor ao licor de modo que é muito importante o cuidado no estabelecimento da proporção entre estes e os outros componentes, o álcool, o açúcar e a água (Borges, 1975).

A maior variedade dos licores está relacionada com a escolha do aroma e tipo de extracção empregado para a obtenção dos aromatizantes. A obtenção do aroma vai desde a utilização de essências adquiridas no mercado, até à sua extracção por processos de maceração alcoólica, seguida, ou não, de destilação (Teixeira, 2004).

No caso dos licores naturais os aromas são extraídos de frutas, sementes e ervas. Os licores comerciais produzidos por grandes empresas são normalmente compostos por essências artificiais (Lynch e Mulvihill, 1997).

4.6.3.4. Água

Como os licores são bebidas destinadas ao consumo humano, a água deve ser de excelente qualidade, com destaque para os licores que são preparados através de processos a frio, ou seja, onde não há algum tratamento térmico. Portanto, a água deverá ser previamente purificada, filtrada ou destilada, isenta de contaminação microbiana -com destaque para os patogénicos-,

não possuir sabor e aroma. As águas duras devem ser evitadas, pois estas provocam a turvação do licor (Teixeira, 2004 e Penha, 2006).

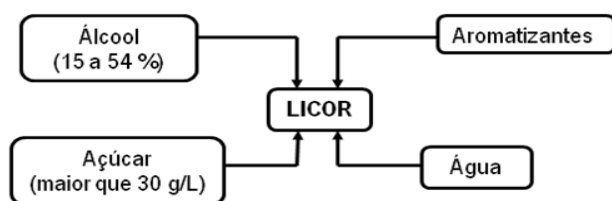


Figura 5. Esquema da composição do licor.

4.6.4. Processamento do licor

A técnica de produção de licores é relativamente simples e representa uma alternativa para o aproveitamento de frutas, produtos perecíveis, uma vez que o licor conserva-se à temperatura ambiente e resiste por um intervalo de tempo considerável, comparativamente às frutas que são a base da sua produção. O licor é uma bebida composta por uma fonte alcoólica, uma fonte de sabor. (Barros *et al.*, 2008 e Teixeira *et al.*, 2011).

Para o seu processamento, a fruta entra em contacto com o álcool por um tempo, para depois a solução ser filtrada e misturada com o açúcar. Depois dessa adição deixa-se a solução em repouso, clarifica-se, decanta-se e envasa-se para o seu envelhecimento. O seu excelente processamento e qualidade do licor consiste em misturar proporções adequadas dos ingredientes citados (Barros *et al.*, 2008 e Teixeira *et al.*, 2011)

Segundo Barros *et al.* (2008) e Teixeira *et al.* (2007), a legislação brasileira estabelece que o licor deve conter entre 15 e 54% de álcool (v/v) e a concentração do açúcar superior a 30 g/L, ambos os parâmetros analisados a 20°C.

O álcool comum das bebidas alcoólicas é o etanol, proveniente das bebidas destiladas (tais como aguardentes), enquanto os aromatizantes são os extractos das frutas e plantas, sucos das frutas ou óleos essenciais (Hebert, 1989).

Ao contrário das bebidas destiladas, os licores devem ser elaborados com álcool desodorizado, para não haver influência dos odores próprios dos destilados sobre os odores das essências usadas na produção dos licores.

Os licores tradicionais são elaborados pela mistura de destilados alcoólicos com xarope que contém essências de ervas em pequenas quantidades (Teixeira *et al.*, 2007).

4.7. Descrição das características físico-químicas determinadas e dos nutrientes quantificados

4.7.1. pH

O pH é a medida da concentração dos iões H^+ livres existentes numa dada solução.

Vários factores tornam importante a determinação do pH de um produto, tais como a coloração, sabor, desenvolvimento de microrganismos, escolha da temperatura de esterilização, escolha do tipo de material de limpeza e desinfecção, escolha do equipamento com o qual se vai trabalhar, escolha de aditivos, entre outros (Chaves, 1993).

O pH é usualmente determinado pela potenciometria directa. Neste método mede-se a diferença de potencial entre dois eléctrodos imersos na solução em estudo, na ausência de correntes apreciáveis, e relaciona-se com a concentração dos iões H^+ . Um dos eléctrodos tem um potencial que é uma função definida do pH desta solução, o outro tem um potencial fixo e conhecido, e constitui o eléctrodo de referência (Nielsen, 2009).

4.7.2. Grau alcoólico

Grau alcoólico, de uma bebida, é o volume medido de álcool etílico (CH_3CH_2OH) contido em 100 cm^3 da bebida, sendo estes dois volumes medidos às temperaturas de 15°C ou 20°C . Um meio para a determinação do grau alcoólico é através do alcoolímetro ou da densidade em relação à água. Bebidas fermentadas ou de mistura, como o licor, devem ser destiladas e a densidade é medida a partir do destilado (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.7.3. Índice de refacção

Em análise de bebidas, o índice de refacção serve como meio para determinar a concentração de sólidos solúveis. O índice de refacção da água a 20°C é 1.333. A presença de sólidos solúveis na água resulta numa alteração do índice de refacção. É possível determinar a quantidade de soluto pelo conhecimento do índice de refacção da solução aquosa (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.7.4. Sólidos solúveis (°Brix)

Os sólidos solúveis totais (°Brix) são usados como índice de maturidade para alguns frutos e indicam a quantidade de substâncias que se encontram dissolvidas no suco, sendo constituído na sua maioria por açúcares (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.7.5. Densidade relativa

A densidade é a relação entre o peso e o volume de um líquido a uma dada temperatura.

A determinação da densidade é, geralmente, feita em análise de alimentos que se apresentam no estado líquido. Os picnómetros e densímetros são os mais usados na determinação da densidade, dos quais os primeiros são os mais precisos. A densidade em relação à água pura é uma ferramenta utilizada para determinar o teor de álcool em soluções hidroalcoólicas, a uma dada temperatura.

Os picnómetros dão resultados precisos pois são construídos e graduados de modo a permitir a pesagem de volumes exactamente iguais de líquidos a uma dada temperatura. Da relação destes pesos e volumes resulta a densidade dos mesmos à temperatura da determinação. Usando água como um líquido de referência, tem-se a densidade relativa à água ou peso específico.

O método com picnómetro consiste na medida da massa de um volume conhecido de líquido num recipiente denominado picnómetro. O mesmo é calibrado em relação à massa da água pura a 20°C. Da relação destas massas e volumes resulta a densidade relativa à água (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.7.6. Resíduo seco

O resíduo seco representa os sólidos totais presentes na amostra. Isto é importante na avaliação do conteúdo da amostra. O resíduo seco é obtido geralmente pela submissão da amostra ao aquecimento a 105°C por 2 horas ou a 70°C por 6 horas, sob pressão reduzida (≤ 100 mm de Hg) (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.7.7. Acidez

A acidez fornece um dado importante sobre o estado de conservação de um produto alimentício ou de uma bebida. Através desta, pode-se avaliar o estado de alteração (ou deterioração) de um

produto na medida em que a concentração dos iões H^+ nas condições normais altera-se com a deterioração. Os métodos de avaliação de acidez titulável resumem-se em titular a solução de álcali padrão à solução ácida do produto. Pode ser expressa em mL de solução molar, por cento ou em gramas do componente ácido principal (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

A acidez de um alimento resulta fundamentalmente da existência de ácidos tartárico, málico, láctico, cítrico, acético, fosfórico e carbónico (Nielsen, 2009).

4.7.8. Cinzas

A cinza de uma amostra de alimento é o resíduo inorgânico que permanece após a queima de matéria orgânica de uma amostra. Isto é feito geralmente a 550-570°C em mufla. A composição das cinzas corresponde à quantidade de substâncias minerais presentes em um alimento.

A cinza é constituída principalmente de grandes quantidades de K, Na, Ca e Mg, pequenas quantidades de Al, Fe, Cu, Mn, Zn, quantidades traços de Ar, I, F e outros elementos (Nielsen, 2009).

As cinzas são consideradas como medida geral de qualidade e frequentemente é utilizada como critério na identificação da adulteração dos alimentos (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

A cinza obtida não é necessariamente da mesma composição que a matéria mineral presente originalmente no alimento, pois pode haver perda por volatilização ou alguma interacção entre os constituintes da amostra. Os elementos minerais apresentam-se na cinza sob a forma de óxidos, sulfatos, fosfatos, silicatos e cloretos, dependendo das condições de incineração e da composição do alimento (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.7.9. Carbohidratos

Os carbohidratos são os constituintes mais abundantes dos vegetais. Classificam-se em monossacarídeos, os mais simples como a frutose, além destes, os dissacarídeos, trissacarídeos e polissacarídeos, que por hidrólise libertam duas, três ou mais moléculas de monossacarídeos, respectivamente (Solomons, 2006).

Os carbohidratos são a principal fonte de energia química para os organismos vivos. Também servem, nos vegetais e em alguns animais, como constituintes fundamentais de tecidos de suporte (Solomons, 2006).

A literatura descreve vários métodos para a determinação da concentração e do tipo de carboidratos presentes nos alimentos. Os métodos cromatográficos como a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência são descritos como os mais precisos, mas por serem de alto custo não são usados na maioria dos laboratórios das indústrias de alimentos bem como em laboratórios de pesquisa (Tavares *et al.*, 2010).

A concentração dos carboidratos também pode ser determinada por titulação (Lane-Eynon, EDTA e Luff Schoorl), por gravimetria (Musson-Walker e Tollens) ou por espectrofotometria (Somogyi-Nelson, Antrona, Fenol-Sulfúrico) (Silva *et al.*, 2003).

Um dos métodos químicos muito usados é o método de Lane-Eynon. O método de Lane-Eynon baseia-se no facto dos iões cúpricos, em solução tartárica alcalina (solução de Fehling), poderem ser reduzidos a quente por aldoses ou cetoses transformando-se em óxido cuproso vermelho, que se precipita, perdendo a sua cor azul primitiva. O tartarato, ao unir-se ao cobre, forma um complexo solúvel que impede a formação de hidróxido cúprico insolúvel que teria lugar se existisse cobre livre na solução alcalina. Como critério de positividade da reacção verifica-se a formação de um precipitado vermelho tijolo de óxido cuproso (Silva *et al.*, 2003).

Os carboidratos não redutores podem ser determinados pelos mesmos métodos de determinação dos açúcares redutores, desde que sejam previamente hidrolisados, enzimática ou quimicamente, para se tornarem redutores (Silva *et al.*, 2003).

4.7.10. Proteínas

As proteínas apresentam uma grande diversidade funcional e vital para os organismos vivos. As proteínas são fundamentais sob todos os aspectos da estrutura e função celular, podendo, portanto, serem consideradas uma base vital. São as moléculas orgânicas mais abundantes nas células e perfazem cerca de 50% do peso celular (Lehninger, 1984).

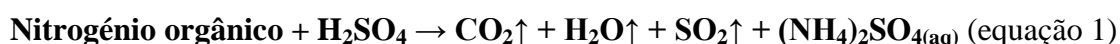
As proteínas desempenham funções como:

- *Controlo de crescimento e diferenciação celular* (Stryer, 1995);
- *Geração e transmissão de impulsos nervosos*, como resposta das células nervosas a estímulos específicos (Stryer, 1995);
- *Transportadores* - são capazes de se ligar e transportar tipos específicos de moléculas no sangue (Lehninger, 1984);
- *Elementos essenciais nos sistemas contráteis e de mobilidade*, na contracção dos músculos esqueléticos (Lehninger, 1984);

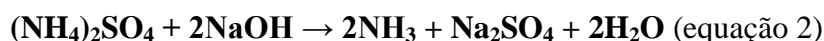
- *Sustentação mecânica* - a alta força de tensão da pele e do osso é devida à presença de proteínas fibrosas, como o colagénio (Lehninger, 1984);
- *Protecção imunitária ou defensiva* - os anticorpos são proteínas altamente específicas que se combinam com vírus, bactérias e células de outros organismos estranhos neutralizando-os (Lehninger, 1984 e Stryer, 1995);
- *Enzimas* - catalisadores biológicos cujo poder catalítico é muito superior ao dos catalisadores preparados pelo homem (Lehninger, 1984).

A determinação da proteína numa amostra é comumente feita pelo método de Kjeldahl (desenvolvido em 1883 por Johann Kjeldahl). Este método determina o teor de nitrogénio orgânico total proveniente da amostra. O método compreende quatro etapas, nomeadamente: a digestão, neutralização e destilação, titulação e conversão do nitrogénio total para teor de proteínas (Purgatto, 2005 e Galvani e Gaertner, 2006).

a) Digestão – é feita através do ácido sulfúrico concentrado e um catalisador a 350-400°C. O carbono contido na matéria orgânica é oxidado e o dióxido de carbono (CO₂) desprende-se. Todo o nitrogénio presente na amostra (o qual pode existir na forma protéica, sob a forma de amina, amida e nitrilo) é convertido em amónia (NH₃), a qual reage com o H₂SO₄, formando o sulfato de amónio, como mostra a equação 1 (Purgatto, 2005 e Galvani e Gaertner, 2006).



b) Neutralização e Destilação - após a digestão, iniciam-se os processos de neutralização e destilação que ocorrem de uma forma combinada. A destilação pode ser feita por aquecimento directo ou por arraste de vapor. O sulfato de amónio é tratado com hidróxido de sódio (NaOH), em excesso, e ocorre a libertação de amoníaco. O amoníaco que se desprende na reacção é destilado, e colectado num frasco contendo o ácido bórico (H₃BO₃) com o indicador, previamente adaptado ao conjunto da destilação. Considera-se terminado o processo quando todo o amoníaco se desprende (Purgatto, 2005 e Galvani e Gaertner, 2006). Estes processos são ilustrados pelas equações 2 e 3, a seguir:



c) Titulação - é feita com o ácido clorídrico (titulante) e o titulado é o borato de amónio formado na destilação, como mostra a equação da reacção 4.

O nitrogénio da amostra inclui para além do nitrogénio das proteínas, o proveniente de outras fontes como: ácidos nucleicos, alcalóides, lípidos e carboidratos nitrogenados, pelo que se recorre a um factor de conversão para corrigir o erro. A maioria dos alimentos possui em média 16% de nitrogénio protéico, o que corresponde a um factor de conversão de $(100/16) = 6.25$. Assim o teor de proteína bruta de um alimento é obtido pela multiplicação do teor de nitrogénio total pelo factor de conversão (6.25) (Purgatto, 2005 e Galvani e Gaertner, 2006).



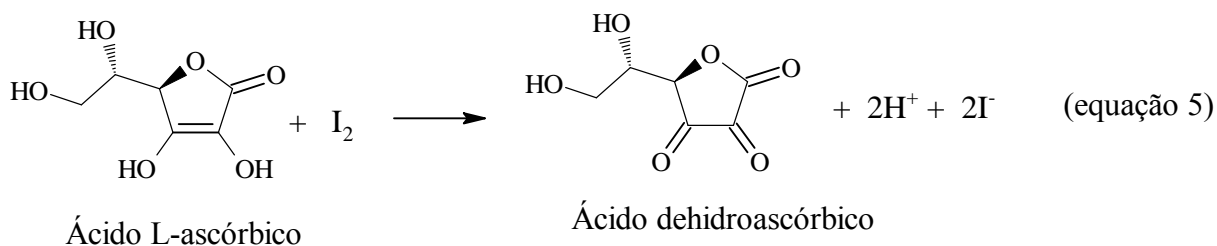
4.7.11. Vitamina C

A vitamina C encontra-se na natureza sob duas formas: reduzida, ácido L-ascórbico, e oxidada, ácido dehidroascórbico; ambas são igualmente activas, porém a forma oxidada está muito menos difundida nas substâncias naturais. Para além de ocorrerem nas frutas de *Vangueria infausta*, os ácidos L-ascórbico e dehidroascórbico ocorrem em quantidades significativas nas frutas cítricas, tomate, batata e em várias outras frutas e verduras (Welch *et al.*, 1995).

O teor da vitamina C bem como de outros constituintes elaborados nas frutas varia em função das condições ambientais ou climáticas em que a planta se desenvolve (Amarteifio e Mosase, 2006 e Orwa *et al.*, 2009)

A vitamina C é um poderoso antioxidante pois captura e neutraliza os radicais livres (geralmente espécies reactivas de oxigénio, tais como radicais superóxido, $\cdot\text{O}_2$, e hidroxilo, $\cdot\text{OH}$) em excesso no organismo, doando-lhes os electrões. Isto deve-se ao facto de se oxidar antes que outras moléculas se oxidem, impedindo e protegendo essas outras moléculas da oxidação. Devido a isto, a vitamina C previne o organismo contra vários tipos de cancro, arteriosclerose e contra as doenças cardíacas (Bergerot e Bergerot, 2006).

Um dos métodos clássicos comuns para a determinação do conteúdo de vitamina C, especialmente em produtos alimentares, é o *método iodimétrico*. Neste método, o ácido L-ascórbico é oxidado a ácido dehidro-L-ascórbico pelo iodo molecular (I_2), o qual é reduzido a ião iodeto (I^-) de acordo com a reacção (Slowinski *et al.*, 2009):



Uma vez que o I_2 não é bem solúvel em água, este é comumente dissolvido em solução de KI na qual o I_2 existe basicamente na forma de I_3^- , um ião complexo (Slowinski *et al.*, 2009).

Embora a coloração amarelada da solução diluída de iodo possa ser usada para detectar o ponto final da titulação, geralmente, utiliza-se o amido como indicador. Este reage com o pequeno excesso de I_2 para formar um complexo azul-púrpuro, isto depois do ponto de equivalência (Slowinski *et al.*, 2009).

4.7.12. Minerais

As frutas de *Vangueria infausta* possuem na sua composição os macromelementos Ca, Mg, P, Na e K. Contudo, possuem também os microelementos, Fe e Zn.

Cerca de 4% do nosso peso corporal corresponde à existência de minerais. Estes compostos desempenham as mais diversas funções e podem encontrar-se nos órgãos, esqueleto ósseo, sangue e outros fluidos corporais, quando combinados com enzimas, integrados em hormonas, proteínas e em muitas outras moléculas. Os minerais contribuem decisivamente para a regulação da actividade e manutenção celular, facilitam o transporte de diversas substâncias, mantêm a actividade muscular e nervosa, e estão também envolvidos de modo indirecto no processo de crescimento (Biesek *et al.*, 2005).

A tabela 4 apresenta os minerais e suas funções no organismo humano.

Tabela 4. Minerais e suas funções no organismo humano (Biesek *et al.*, 2005)

Minerais	Principais funções
Sódio	Participa na regulação dos líquidos corporais, na transmissão electroquímica no músculo e permeabilidade celular, promove o funcionamento de músculos e do metabolismo.
Potássio	Responsável pela contracção muscular, pelo funcionamento cardíaco e participa da transmissão dos impulsos nervosos. Participa na regulação dos líquidos corporais, na síntese proteica e de glícidos.
Cálcio	Participa na constituição do tecido ósseo e dentes. Intervém em diversas funções orgânicas: contracção muscular, sistema nervoso e coagulação sanguínea.
Fósforo	Participa na constituição dos ossos e dentes e é componente de todas as células do organismo e de produtos do metabolismo.
Magnésio	Participa em quase todos os processos orgânicos. Intervém no relaxamento muscular, funcionando como antagonista do cálcio.
Ferro	Indispensável a um grande número de funções vitais. Participa ainda no transporte de O ₂ e CO ₂ pelo sangue como constituinte da hemoglobina. Importante constituinte de enzimas e fundamental para o desenvolvimento físico e intelectual, bem como para a capacidade de defesa do organismo perante o risco de infecções.
Zinco	É essencial para a acção de numerosas enzimas. Participa no metabolismo proteico, nomeadamente na síntese de ADN, de colágeno e da insulina.

5. PARTE EXPERIMENTAL

Na parte experimental são apresentados os procedimentos usados desde a amostragem até aos ensaios laboratoriais, obedecendo aos objectivos traçados e tendo em conta as condições analíticas disponíveis nos laboratórios do Departamento de Química da UEM, do IIAM e do LNHA, que são os locais onde foram realizados os ensaios laboratoriais.

5.1. Colecta e preparação das amostras

A amostra da fruta de *Vangueria infausta* foi colhida no distrito de Marracuene na localidade de Bobole no dia 22 de Fevereiro de 2011, sendo que foi primeiramente lavada no local, e, posteriormente, transportada para o laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química e acondicionada num frigorífico por três dias. Depois deste tempo, descongelou-se, separou-se a polpa da casca e das sementes onde cerca de 400 gramas da polpa da fruta foi levada à secar à temperatura ambiente isenta da luz solar por 20 dias.

A amostra da polpa da fruta de *Vangueria infausta* foi moída com auxílio dum moínho que permite a redução de partículas até 1mm de diâmetro.

A amostra do licor da fruta de *Vangueria infausta* foi obtida no posto de venda (bombas da Galp da praça da OMM) em dois frascos de vidro de 325 mL cada. A parte superior estava fechada por uma rolha. A amostra do licor de *Vangueria infausta* foi conservada à temperatura ambiente isenta da luz solar.

5.2. Extração por maceração e preparação das fracções

Depois da preparação da amostra de laboratório, submeteu-se 60g da amostra da polpa da fruta de *Vangueria infausta* à extração por maceração para a obtenção de extracto bruto. A maceração foi feita com 200 mL de um sistema de solventes MeOH-CH₂Cl₂ (1:1) durante 3 dias. Findo o tempo, filtrou-se e separou-se o extracto bruto do material vegetal extraído; este último foi posteriormente submetido a uma segunda maceração com 150 mL de MeOH por 3 dias, tendo-se obtido segundo extracto.

Após a filtração seguiu-se a remoção dos solventes dos dois extractos brutos, separadamente, a pressão reduzida com auxílio de um evaporador rotativo. De seguida, adicionou-se 25 mL de água destilada em cada extracto e misturou-se as suspensões resultantes.

Por partição em solvente, procedeu-se à separação das fracções apolares e polares, obedecendo a seguinte sequência: n-hexano, diclorometano, acetato de etilo e n-butanol.

Depois de evaporado o solvente de cada fracção, com auxílio do evaporador rotativo, cada extracto foi submetido a testes fitoquímicos para identificação das possíveis classes dos metabólitos secundários existentes na amostra.

A amostra do licor não foi submetida a maceração. Tomou-se 50 mL desta, evaporou-se o álcool que nele continha, adicionou-se 50 mL de água destilada e seguiu-se a mesma sequência metodológica descrita para amostra da polpa, desde a partição aos testes fitoquímicos para a identificação das possíveis classes dos metabólitos secundários existentes.

A figura 6 mostra de forma resumida no fluxograma os procedimentos supracitados.

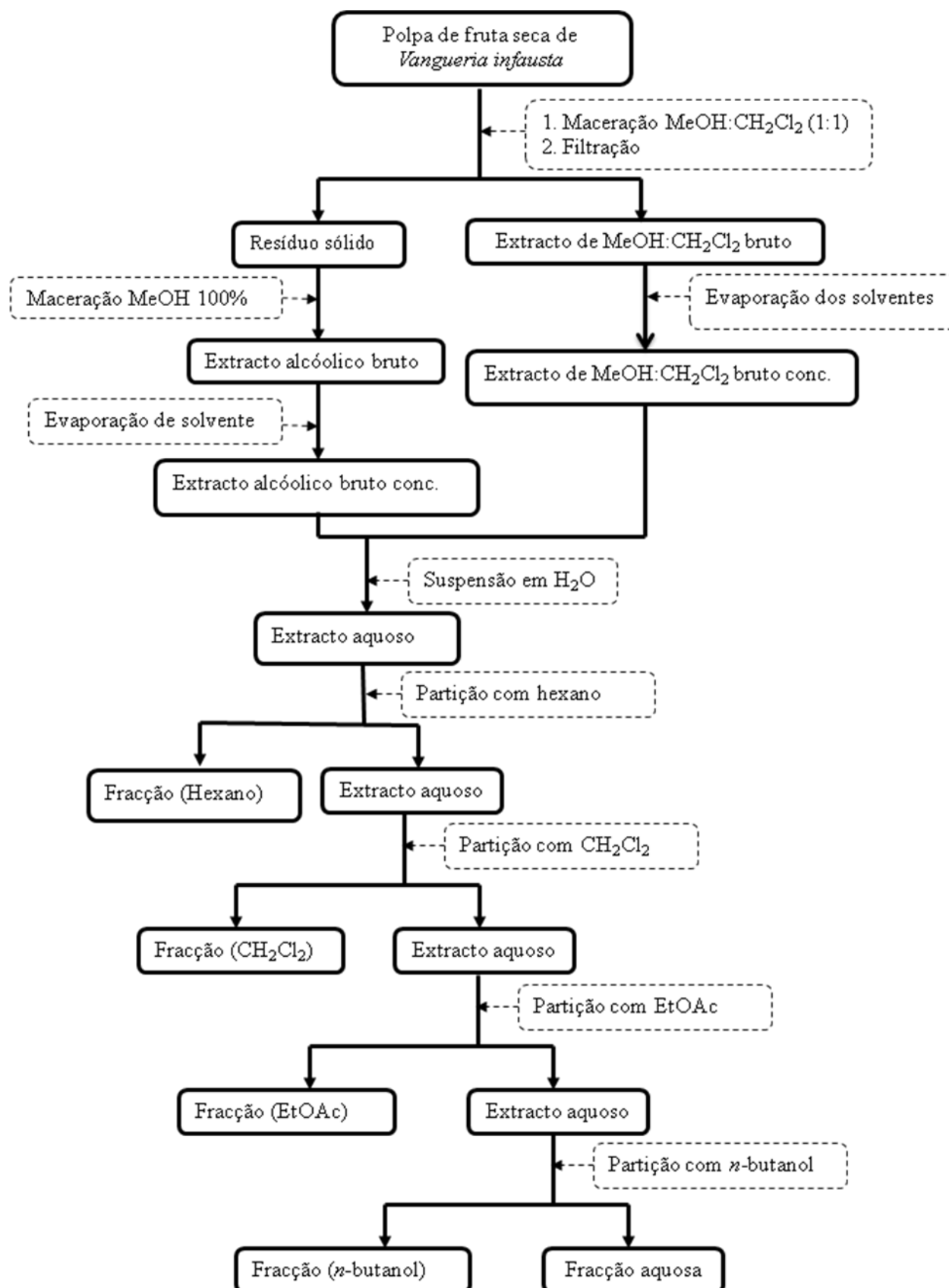


Figura 6. Fluxograma de sequência metodológica para obtenção das frações usadas para análises fitoquímicas.

5.3. Testes fitoquímicos qualitativos

Para os testes de identificação de flavonóides, taninos e saponinas foi usada a metodologia descrita por Matos (1997); para esteróides e triterpenóides a metodologia descrita por Di Stasi (1995) e para alcalóides foi usada a metodologia descrita por Brito *et al.* (2008).

5.3.1. Identificação de flavonóides

Procedimento

Para a identificação dos flavonóides empregou-se o teste de cianidina ou Shinoda (HCl_(conc) e magnésio) por ser característico para o maior número de substâncias desta classe. O procedimento do teste consistiu da adição de cerca de 2 mL do extracto, aproximadamente 0.5 cm de magnésio em fita com 2 mL de ácido clorídrico concentrado. O fim da reacção deu-se pelo término de efervescência.

5.3.2. Identificação de taninos

Procedimento

Os taninos foram caracterizados por reacções de coloração. O teste para a identificação de taninos consistiu em adicionar cerca de 2 mL do extracto num tubo de ensaio e, de seguida, adição de três gotas de solução de cloreto de férrico, com uma agitação forte.

5.3.3. Identificação de saponinas

Procedimento

Para a identificação das saponinas procedeu-se da seguinte maneira: em 1 mL do extracto adiciona-se 1 mL de clorofórmio, 2.5 mL de água destilada e logo após filtrou-se para um outro tubo de ensaio. Em seguida agitou-se a solução permanentemente por 3 minutos.

5.3.4. Identificação de esteróides e triterpenóides

Procedimento

Os esteróides foram identificados pela reacção de Lieberman-Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado). Para tal, juntou-se 2 mL do extracto com 2 mL de clorofórmio, em seguida a solução clorofórmica foi filtrada gota a gota para um funil com algodão coberto com

alguns decigramas de Na_2SO_4 anidro. Num tubo de ensaio, adicionou-se o extracto clorofórmico filtrado e 1 mL de anidrido acético, agitou-se suavemente, acrescentou-se cuidadosamente três gotas de H_2SO_4 concentrado sob agitação.

5.3.5. Identificação de alcalóides

Procedimento

Levou-se à secagem em banho-maria cerca de 10 mL de extracto contido num tubo de ensaio, e depois adicionou-se 15 mL ácido sulfúrico diluído, levou-se à placa de aquecimento para fervura por 1 minuto. Depois de frio filtrou-se e distribuiu-se em 2 tubos de ensaio, onde se adicionaram gotas de reagente de Mayer e de Dragendorff .

5.4. Determinação das características físico-químicas e dos teores dos nutrientes

Para cada característica físico-química determinada na polpa e no licor da fruta de *Vangueria infausta* foram feitas três réplicas; determinou-se na polpa da fruta: pH, , ATT, cinzas, glúcidos redutores em glicose, glúcidos não redutores em sacarose, vitamina C e proteína, e no licor: pH, grau alcoólico, índice de refração, SST, densidade, resíduo seco, ATT, cinzas, glúcidos redutores em glicose, glúcidos não redutores em sacarose, vitamina C e nitrogénio total.

5.4.1. Determinação de pH

Procedimento

Transferiu-se para um béquer 10g de amostra da polpa de fruta e 100mL de água destilada. Agitou-se o conteúdo até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. Com ajuda do aparelho pH-metro previamente calibrado com pH 4 e 7, colocaram-se os eléctrodos no béquer e fez-se a leitura do pH. Na amostra do licor fez-se directamente a leitura do pH.

5.4.2. Determinação de grau alcoólico

O grau alcoólico foi determinado apenas no licor por meio de alcoolímetro de Gay-Lussac. Para tal, o alcoolímetro foi previamente calibrado com água destilada. Fez-se a leitura directa na escala do alcoolímetro.

5.4.3. Determinação de índice de refração

Procedimento

O índice de refração foi determinado apenas no licor pelo refractómetro de Abbé com prévia limpeza dos prismas inferior e superior usando acetona e calibração com água destilada.

5.4.4. Determinação de sólidos solúveis (^oBRIX)

Procedeu-se do mesmo modo na determinação do índice de refração com calibração para ^oBrix.

5.4.5. Determinação de densidade relativa

Procedimento

A densidade relativa foi determinada com recurso ao picnómetro. Para tal lavou-se o picnómetro com água destilada, de seguida enxaguou-se com álcool e posteriormente com éter. Deixou-se secar naturalmente e pesou-se o picnómetro vazio.

Encheu-se depois o picnómetro com água a 20°C e pesou-se. Feito isto, lavou-se, secou-se o picnómetro e procedeu-se da mesma forma com a amostra.

5.4.6. Determinação de resíduo seco

Procedimento

Transferiu-se com auxílio de uma pipeta, 10 mL de amostra de licor para uma cápsula previamente aquecida a 105°C por duas horas, sob pressão reduzida menor ou igual a 100 mm Hg, arrefeceu-se no exsiccador até à temperatura ambiente e pesada. Evaporou-se em banho-maria. Aqueceu-se em estufa a 105°C por duas horas sob pressão reduzida menor ou igual a 100 mm Hg. Arrefeceu-se no exsiccador até à temperatura ambiente e pesou-se. Repetiram-se as operações de aquecimento e arrefecimento por 30 minutos até peso constante.

5.4.7. Determinação de acidez total titulável

A acidez foi determinada usando método volumétrico através da titulação, usando a solução alcalina de concentração conhecida.

Procedimento

Tomou-se 3g da amostra da polpa e 3 mL do licor, transferiu-se para frasco erlenmeyer de 125 mL com adição de 50 mL de água. Adicionou-se 3 gotas de solução de fenolftaleína e titulou-se com a solução de NaOH a 0.1 M até ao ponto de viragem (coloração rósea).

5.4.8. Determinação de cinzas

Procedimento

Pesou-se 5g da amostra de polpa de fruta para uma cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla a 550°C, arrefeceu-se no exsiccador até à temperatura ambiente e pesou-se. Pipetou-se 5 mL do licor para uma cápsula de porcelana, evaporou-se em banho-maria.

Secou-se cada amostra numa placa de aquecimento, carbonizou-se em temperatura baixa e incinerou-se em mufla a 550°C, até à eliminação completa do carvão e adquirir uma cor ligeiramente acinzentada. Arrefeceu-se no exsiccador até à temperatura ambiente e pesou-se. Foram repetidas as operações de aquecimento e arrefecimento até peso constante.

5.4.9. Determinação de glícidos redutores em glicose

Procedimento

Usou-se o método de Lane-Eynon na determinação de glícidos redutores em glicose.

Pesou-se 3g da amostra de polpa de fruta para um béquer de 100 mL; transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, com adição de água destilada e filtrou-se para um frasco Erlenmeyer de 250 mL; transferiu-se o filtrado para a bureta. Para amostra de licor, pipetou-se 2.5 mL de licor para outro balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume e depois transferiu-se a solução para outra bureta. Para um erlenmeyer de 250 mL, pipetou-se 10 mL de cada uma das soluções Fehling A e B, e depois 40 mL de água, aqueceu-se até à ebulição. Titulou-se adicionando-se às gotas, a solução da bureta sobre a solução do erlenmeyer em ebulição, agitando sempre, até que a solução passasse de azul a incolor (no fundo do erlenmeyer observou-se um resíduo vermelho de Cu_2O).

5.4.10. Determinação de glícidos não redutores em sacarose

Procedimento

Usou-se o método de Lane-Eynon na determinação de glícidos não redutores em sacarose.

Pipetou-se 20 mL de solução de glícidos redutores em glicose, para um balão volumétrico de 100 mL. Acidulou-se fortemente com o ácido clorídrico (1 mL); colocou-se em banho-maria a 100°C por 45 minutos. Depois de arrefecer neutralizou-se com a solução de NaOH a 40% com auxílio de papel indicador. Completou-se o volume com água destilada e agitou-se; transferiu-se o filtrado para a bureta. Pipetou-se 10 mL de cada uma das soluções Fehling A e B e depois 40 mL de água, para erlenmeyer de 250 mL; aqueceu-se até à ebulição. Adicionou-se às gotas, a solução da bureta sobre a solução do balão em ebulição, agitando sempre, até que a solução passasse de azul a incolor (no fundo do erlenmeyer observou-se um resíduo vermelho de Cu_2O).

5.4.11. Determinação de vitamina C

Procedimento

Determinou-se o teor de vitamina C com iodato de potássio

Pesou-se 40 g de polpa de fruta e pipetou-se 100 mL do licor. Transferiu-se cada amostra para o respectivo frasco erlenmeyer de 300 mL, adicionou-se 50 mL de água destilada e 10 mL de ácido sulfúrico a 20%. Homogeneizou-se e filtrou-se apenas a solução com amostra de polpa de fruta para outro Erlenmeyer lavando o filtro com água destilada e ácido sulfúrico a 20%. Depois adicionou-se em cada erlenmeyer volumes iguais de solução de ácido ascórbico (25 mg de ácido ascórbico em 50 mL), 1 mL de solução de iodeto de potássio a 10% e 1 mL de solução de amido a 1%. Titulou-se com a solução de iodato de potássio a 0.002 M até à coloração azul. Analisou-se também a prova em branco.

5.4.12. Determinação de nitrogénio total

Procedimento

Foi determinado o teor de proteína na amostra da polpa de fruta a partir da determinação de Nitrogénio usando o método de Kjeldahl.

Transferiu-se para um tubo digestor 40 mL do licor, evaporou-se e secou-se a 350^oC por dois dias até que se obteve amostra sólida.

Pesou-se 0,3 gramas da polpa de fruta seca para um tubo de digestão de Kjeldahl limpo.

Adicionou-se em cada amostra 2.5 mL da solução mista (ácido sulfúrico concentrado, selênio e ácido salicílico), deixou-se em repouso por 1 dia.

Depois desse tempo adicionou-se 3 mL de água oxigenada e depois levada ao digestor a 330^oC por 3 horas para completar o processo de digestão.

À solução digerida depois de arrefecer, foi adicionada água destilada até a marca de aferição do tubo digestor (75 mL), e em seguida filtrada.

Do filtrado retirou-se 15 mL para um tubo de digestão de Kjeldahl onde adicionou-se 35 mL de NaOH e três gotas do indicador. O amónio que se libertou foi recolhido num balão contendo 10 mL de H₃BO₃ a 2% até que a solução no balão de recolha passou de cor violeta a verde, o que indicava a presença de nitrogénio.

A solução do balão de recolha foi titulada com HCl a 0.02M. Analisou-se também a prova em branco.

5.4.13. Determinação de composição mineral

Os minerais Ca, Mg, Fe e Zn foram determinados usando o espectrofotómetro de absorção atómica com chama. O Na e o K, por fotometria de chama, enquanto que o P foi determinado por espectroscopia no ultravioleta-visível. Todas as análises foram feitas em três réplicas.

5.4.13.1. Digestão da amostra de polpa de fruta de Vangueria Infausta

A amostra foi digerida por via húmida segundo o protocolo do Laboratory for Soil, Plant and Water Analysis (1991), procedendo-se do seguinte modo:

1. Pesou-se 10 g da amostra de polpa seca de *Vangueria infausta* para tubos de digestão de capacidade de 75 mL;
2. Adicionou-se 3 bolas de vidro;
3. Adicionou-se 20 mL da solução mista, deixou-se em repouso por uma noite;

4. Adicionou-se 10 mL de H₂O₂ a 30%.
5. Digeriu-se a amostra por 2 horas a 330°C;
6. Deixou-se arrefecer, adicionou-se água destilada e diluiu-se a amostra para balão de 500 mL.
7. Filtrou-se para um balão volumétrico.

5.4.13.2. Digestão da amostra de licor de *Vangueria Infausta*

A amostra do licor foi tratada usando a via seca seguindo também o protocolo do Laboratory for Soil, Plant and Water Analysis (1991), procedendo-se do seguinte modo:

1. Pipetou-se para um cadinho de porcelana limpo e seco, 80 mL da amostra de licor de *Vangueria Infausta*;
2. Transformou-se a amostra em cinzas;
3. Adicionou-se 5 mL de H₂SO₄ a 97%;
4. Agitou-se para acelerar a dissolução das cinzas;
5. Adicionou-se cerca de 20 mL de água destilada;
6. Passou-se a solução para um balão volumétrico de 200 mL;
7. Adicionou-se água destilada até à marca da aferição;
8. Filtrou-se para outro balão volumétrico.

5.4.13.3. Resumo da preparação de soluções-padrão.

A partir das soluções stock de 1000 ppm de Ca, Mg, Na, K, P, Fe e Zn foram preparados os padrões como mostram de forma resumida as tabelas 5-11.

- Para Ca, Mg e Fe foram preparadas as soluções intermediárias de 100 ppm, pipetou-se 10 mL da solução stock para balão de 100 mL, e completou-se o volume até à marca de aferição com água destilada.
- Para Na e K as séries padrões foram preparadas tomando-se directamente os volumes da solução stock de 1000 ppm.

- Foi preparada solução intermediária de P a 10 ppm, pipetando-se 1mL da solução stock para aferir no balão de 100 mL.
- Para o Zn foi preparada uma solução intermediária de 50 ppm, pipetando-se 2.5 mL da solução stock para balão de 50 mL onde se completou o volume com água destilada.

Tabela 5. Resumo da preparação de soluções-padrão de cálcio

Solução	Concentração (ppm)	V(mL) tomado do int. de 100 ppm	V (mL) de H ₂ SO ₄ (conc)	V (mL) de La ³⁺ a 30000 ppm	V _{final} (mL)
Branco	0.0	0.0	1.0	5	50
Padrão 1	4.0	2.0	1.0	5	50
Padrão 2	8.0	4.0	1.0	5	50
Padrão 3	12.0	6.0	1.0	5	50
Padrão 4	16.0	8.0	1.0	5	50

Tabela 6. Resumo da preparação de soluções-padrão de magnésio

Solução	Concentração (ppm)	V(mL) tomado do int. de 100 ppm	V(mL) de H ₂ SO ₄ (conc)	V(mL) de La ³⁺ a 30000 ppm	V _{final} (mL)
Branco	0.0	0.0	1.0	5	50
Padrão 1	5.0	2.5	1.0	5	50
Padrão 2	10.0	5.0	1.0	5	50
Padrão 3	15.0	7.5	1.0	5	50
Padrão 4	20.0	10.0	1.0	5	50

Tabela 7. Resumo da preparação de soluções-padrão de sódio

Solução	Concentração (ppm)	V(mL) tomado da sol. stock de 1000 ppm	V(mL) da sol. de K ⁺ a 20000 ppm	V(mL) de H ₂ SO ₄ (conc)	V _{final} (mL)
Branco	0.0	0.0	5.0	1.0	50
Padrão 1	10.0	0.50	5.0	1.0	50
Padrão 2	15.0	0.75	5.0	1.0	50
Padrão 3	20.0	1.0	5.0	1.0	50
Padrão 4	25.0	1.25	5.0	1.0	50

Tabela 8. Resumo da preparação de soluções-padrão de potássio

Solução	Concentração (ppm)	V(mL) tomado da sol. Stock a 1000 ppm	V (mL) da sol. de Na a 20000 ppm	V (mL) de H ₂ SO ₄ (conc)	V _{final} (mL)
Branco	0.0	0.0	5.0	1.0	50
Padrão 1	20.0	1.0	5.0	1.0	50
Padrão 2	40.0	2.0	5.0	1.0	50
Padrão 3	60.0	3.0	5.0	1.0	50
Padrão 4	80.0	4.0	5.0	1.0	50
Padrão 5	100.0	5.0	5.0	1.0	50

Tabela 9. Resumo da preparação de de soluções-padrão de fósforo

Solução	Concentração (ppm)	V(mL) tomado de int. de 10 ppm	V(mL) tomado do complexo azul	V (mL) de H ₂ SO ₄ (conc)	V _{final} (mL)
Branco	0.0	0.0	15	1.0	50
Padrão 1	1.0	5.0	15	1.0	50
Padrão 2	2.0	10.0	15	1.0	50
Padrão 3	3.0	15.0	15	1.0	50
Padrão 4	4.0	20.0	15	1.0	50
Padrão 5	5.0	25.0	15	1.0	50

Tabela 10. Resumo da preparação de soluções-padrão de ferro

Solução	Concentração (ppm)	V(mL) tomado de int. de 100 ppm	V (mL) de H ₂ SO ₄ (conc)	V _{final} (mL)
Branco	0.0	0.0	1.0	50
Padrão 1	0.50	0.25	1.0	50
Padrão 2	1.00	0.50	1.0	50
Padrão 3	1.50	0.75	1.0	50
Padrão 4	2.00	1.00	1.0	50

Tabela 11. Resumo da preparação de de soluções-padrão de zinco

Solução	Concentração (ppm)	V(mL) de int. de 50 ppm	V(mL) de H ₂ SO ₄ (conc)	V _{final} (mL)
Branco	0.0	0.0	1.0	50
Padrão 1	0.25	0.25	1.0	50
Padrão 2	0.50	0.50	1.0	50
Padrão 3	0.75	0.75	1.0	50
Padrão 4	1.00	1.0	1.0	50

5.4.13.4. Preparação das amostras para leituras

a) Determinação de Ca

Para a leitura das amostras de polpa da fruta e de licor de *Vangueria infausta*, tomou-se 12.5 mL da amostra e adicionou-se 5 mL de La³⁺ para eliminar interferências químicas, e foram aferidos para 50 mL de solução.

b) Determinação de Mg

Para a leitura da amostra de polpa de fruta fez-se uma diluição de 50 /25 e na amostra de licor fez-se uma diluição de 50/2.5 e para cada adicionou-se 5 mL de La³⁺ para eliminar interferências químicas.

c) Determinação de Fe e Zn

Para a leitura dos elementos não foram efectuadas nenhuma diluições.

d) Determinação de Na

Para as duas amostras em estudo foi adicionado o supressor de ionização e feitas diluições de 50/25.

e) Determinação de K

Para a amostra da polpa de fruta foi feita uma diluição 50/25 e para a amostra do licor foi de 50/12.5. Foi também adicionado o supressor de ionização.

f) Determinação de P

Para a amostra de polpa da fruta de *Vangueria infausta* foi feita uma diluição de 50/5 e para o licor de *Vangueria Infausta* a diluição foi de 50/1. Em cada amostra foi adicionado 15 mL do complexo azul (resultante da redução do ácido fosfomolibdico pelo ácido L-ascórbico) e fez-se 50 mL com água destilada.

6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

6.1. Resultados dos testes fitoquímicos da polpa e do licor da fruta

Nas tabelas 12 e 13, são apresentados os resultados dos testes fitoquímicos da polpa e do licor respectivamente.

Tabela 12. Resultados obtidos nos testes de identificação fitoquímica na polpa de fruta de *Vangueria infausta*

Metabólitos secundários	Fracção (Hex)	Fracção (CH ₂ Cl ₂)	Fracção (EtOAc)	Fracção (But)	Fracção Aquosa
Alcalóides	-	-	+	+	-
Esteróides	+	-	-	-	-
Flavonóides	-	-	+	+	-
Saponinas	-	-	-	-	+
Taninos	-	-	+	-	-

+ ...Presença, - ...ausência.

Tabela 13. Resultados dos testes de identificação fitoquímica no licor de *Vangueria infausta*

Metabólitos secundários	Fracção (Hex)	Fracção (CH ₂ Cl ₂)	Fracção (EtOAc)	Fracção (But)	Fracção Aquosa
Alcalóides	-	-	+	+	-
Esteróides	-	-	-	-	-
Flavonóides	-	-	+	+	-
Saponinas	-	-	-	-	+
Taninos	-	-	+	-	-

+ ...Presença, - ...ausência.

- O teste de identificação de alcalóides foi positivo nos extractos da polpa e do licor de *Vangueria infausta* nas fracções de acetato de etilo e butanol. Nas duas fracções observou-se a formação de precipitados branco e laranja-avermelhado após a adição dos reagentes de Mayer e de Dragendorff, respectivamente.

- No teste de identificação de esteróides/triterpenóides, apenas a presença de esteróides teve resultado positivo na fracção hexano da polpa com aparecimento da cor verde usando o teste de Liebermann-Burchard. A não identificação de esteróides no licor pode ser devido ao seu modo de preparação e/ou à extracção incompleta.
- O teste de identificação de flavonóides foi positivo para as fracções de acetato de etilo e butanol com o aparecimento da coloração castanha nas amostras da polpa e do licor da fruta usando o teste de Shinoda.
- A presença de saponinas foi identificada pelo teste de espuma nas fracções aquosas da polpa e do licor da fruta.
- Nas fracções de acetato de etilo das amostras da polpa e do licor foram identificados taninos condensados pelo desenvolvimento da cor verde.
- Os dados apresentados nas tabelas 12 e 13 mostram que tanto a polpa como o licor produzido à base das frutas de *Vangueria infausta* contêm vários metabólitos secundários, em destaque os alcalóides, as saponinas, os flavonóides, os taninos que possuem actividades biológicas diversas, tais como actividade antiinflamatória, antiviral, antimicrobiana e antioxidante.

De referir que os resultados obtidos neste estudo, são complementares aos estudos feitos por Mbukwa *et al.* (2007) e Abeer (2011) nas folhas de *Vangueria infausta* e por Yenesew *et al.* (2006) nas raízes da mesma planta.

6.2. Resultados das análises físico-químicas do licor e polpa de fruta de *Vangueria infausta*

As fórmulas usadas nos cálculos das diferentes determinações físico-químicas estão apresentadas no anexo B.

Tabela 14. Resultado das análises físico-químicas para a amostra da polpa da fruta

Determinação	R ₁	R ₂	R ₃	\bar{x}	s	%RSD
pH	3.10	3.10	3.10	3.10	0.00	0.0
Acidez titulável com indicador (%)	4.33	4.32	3.97	4.21	0.21	4.9
Glícidos redutores em glicose (%)	0.216	0.216	0.218	0.217	0.001	0.5
Glícidos não redutores em sacarose (%)	0.133	0.134	0.131	0.132	0.001	0.2
Cinzas (%)	1.14	1.16	1.15	1.15	0.01	0.9
Vitamina C (%)	7.4	7.7	7.4	7.5	0.2	2.6
Proteína (%)	3.35	3.29	3.29	3.31	0.04	1.2

Tabela 15. Resultados das análises físico-químicas para a amostra do licor

Determinação	R ₁	R ₂	R ₃	\bar{x}	s	%RSD
pH	3.41	3.41	3.41	3.41	0.00	0.0
Grau alcoólico (%)	20.8	20.8	20.8	20.8	0.0	0.0
Sólidos solúveis totais (°Brix)	42	42	42	42	0	0.0
Índice de refração	1.40	1.40	1.40	1.40	0.00	0.0
Densidade relativa	1.102	1.102	1.102	1.102	0.000	0.0
Acidez total titulável (%)	0.848	0.844	0.846	0.846	0.002	0.2
Glícidos redutores em glicose(%)	0.648	0.651	0.642	0.647	0.004	0.7
Glícidos não redutores em sacarose(%)	0.249	0.255	0.250	0.251	0.003	1.2
Resíduo seco (%)	39.5	41.4	39.9	40.3	1.0	2.5
Cinzas (%)	0.23	0.24	0.22	0.23	0.01	4.3
Vitamina C (%)	1.380	1.359	1.387	1.375	0.011	0.8
Nitrogénio (%)	0.048	0.048	0.051	0.049	0.001	2.0

Segundo Barros *et al.* (2008) e Teixeira *et al.* (2007), a legislação brasileira estabeleceu que o teor de açúcares em um licor deve ser superior a 30g/L e o teor alcoólico entre 15 a 54%. O valor encontrado para o licor das frutas de *Vangueria infausta* foi de 20.8% do teor alcoólico e 35.92 g/L de açúcar total, determinado a partir de glícidos redutores e não redutores, entretanto, pode-se afirmar que o licor em estudo está dentro dos parâmetros estabelecidos, pois, a literatura não dispõe de estudos referentes a caracterização e padronização do licor de *Vangueria infausta*.

Os valores de pH obtidos foram de 3.10 e 3.41 para a fruta e para o licor, respectivamente. Estes resultados mostram que a fruta é mais ácida que o licor. Em Botswana, Amarteifio e Mosase (2006) analisaram a fruta da mesma planta e obtiveram o pH de 3.38 que é superior ao obtido no presente estudo. Sendo o pH ácido um factor limitante para a inibição do crescimento de bactérias patogénicas, deterioração dos alimentos e a estabilidade da vitamina C (Franco e Landgraf, 1996), pode-se afirmar que a fruta analisada neste estudo terá maior vida de prateleira que a analisada por Amarteifio e Mosase (2006).

Segundo a legislação brasileira, citada por Teixeira *et al.* (2007), um licor deve ter entre 15 a 54% (v/v) do teor alcoólico. Contudo, os licores com mais aceitabilidade no mercado são aqueles cujo grau alcoólico é inferior a 25 % (Teixeira *et al.*, 2007). Portanto, com base no teor

alcoólico, o licor da fruta de *Vangueria infausta* em estudo, em virtude de possuir cerca de 20.8 % de teor de álcool, pode ser mais preferido em relação aos licores de banana e de *Tamarindus indica L* que possuem teor alcoólico mais alto como mostra a tabela 16 .

O valor de sólidos solúveis expressos em (°Brix) para o licor da fruta de *Vangueria infausta* foi de 42 °Brix, o qual apenas é relativamente menor ao reportado para o licor de fruta de *Tamarindus indica L*. analisado por Nunes (2011) e maior para os licores de acerola, banana, camu-camu e maracujá como mostra a tabela 16. É uma indicação de que a fruta de *Vangueria infausta* tem quantidades consideráveis de substâncias sólidas que se encontram dissolvidas no licor, sendo constituído na sua maioria por açúcares.

Tabela 16. Comparação do grau alcoólico e SST nos licores

Licores	Grau alcoólico (%)	SST (°Brix)
Acerola (Penha <i>et al.</i> , 2003)	18	30
Banana (Teixeira <i>et al.</i> , 2007)	61	27
Camu-camu (Vieira <i>et al.</i> , 2010)	18	33
Maracujá (Hashizume <i>et al.</i> , 1976)	21	23
<i>Tamarindus indica L</i> . (Nunes, 2011)	22	43
<i>Vangueria infausta</i> “Mapfilua”(em estudo)	20.8	42

O índice de acidez titulável do licor é de 0.846%, enquanto o da polpa da fruta é de 4.21%. Sendo a acidez titulável a medida da concentração total dos ácidos presentes em um alimento, pode-se afirmar que a polpa da fruta de *Vangueria infausta* é mais ácida que o seu licor. O baixo índice de acidez do licor comparativamente ao da polpa da fruta pode residir no facto de uma parte dos ácidos se perderem durante o seu processamento.

O conteúdo das cinzas na fruta de de *Vangueria infausta* (1.15%) é cerca de cinco vezes superior que no seu licor (0.23%); ou seja, a fruta é mais rica em minerais que o licor. Isto pode dever-se principalmente ao facto de parte da matéria mineral perder-se durante o processamento do licor.

O conteúdo de vitamina C encontrado na polpa da fruta de *Vangueria infausta* analisada foi de 7.5mg/100g da polpa, valor este que é inferior ao encontrado por Orwa *et al.* (2009) (3.7g/100g), Emmanuel *et al.* (2011) (11.50 mg/100g) e por Amartefio e Mosase (2006) com 67.7mg/100g mostrados na tabela 1. Por outro lado foi encontrado um baixo valor no licor que corresponde a

1.375mg. O valor baixo da vitamina C no licor relativamente à fruta deve-se provavelmente à degradação da vitamina no processo de produção e à diluição pela adição de água.

Foi verificado alto teor de glícidos redutores (0.647%) para o licor, em relação aos glícidos não redutores (0.251%). Esses valores superam, como se esperava em relação aos encontrados na polpa da fruta pelo facto de o licor ter uma quantidade de açúcar adicional como um dos componentes básicos na sua preparação. De facto o teor de açúcares redutores em glicose na polpa foi de 0.217% e os açúcares não redutores foi de 0.132%; também foi verificado alto teor de glícidos redutores, em relação aos glícidos não redutores.

Para o licor foi encontrado 0.049% de teor de nitrogénio, valor muito inferior ao encontrado na polpa de 0.529% que corresponde a 3.31% de teor de proteína. O valor de 3.31%, entra em concordância com a observação feita por Saka *et al.* (1994) citado por Amarteifio & Mosase (2006) segundo o qual o teor das proteínas nas frutas é inferior a 5%. Orwa *et al.* (2009) reporta o valor de 1.4%, valor inferior ainda ao encontrado no presente trabalho.

6.3. Resultados da composição mineral da polpa e do licor da fruta de *Vangueria infausta*

Nas tabelas 17 e 18 são apresentados os resultados dos teores de minerais nas amostras da polpa e de licor de fruta de *Vangueria infausta* expressos em mg/100g e mg/100mL, respectivamente, determinadas pela fórmula 9 do anexo B.

Tabela 17. Teor de minerais na polpa de fruta

Mineral	Conc. (mg/L) lida	mg /100g
Ca	11.542	230.84
Mg	13.665	136.65
Na	5.022	50.22
K	34.075	340.75
P	1.163	58.15
Fe	0.576	2.88
Zn	0.088	0.44

Tabela 18. Teor de minerais no licor

Mineral	Conc. (mg/L) lida	mg /100mL	mg/100 g
Ca	15.321	15.32	13.90
Mg	18.380	91.90	83.39
Na	20.294	10.15	9.21
K	63.682	63.68	57.79
P	1.196	14.95	13.57
Fe	1.027	0.26	0.24
Zn	0.113	0.03	0.03

Em 100g da polpa da fruta de *Vangueria infausta* foram encontrados 230.84mg, 2.88mg, 50.22mg, 0.44mg correspondentes a Ca, Fe, Na e Zn, respectivamente, que são relativamente superiores aos encontrados por Amarteifio e Mosase (2006) que reportaram 124mg, 0.09mg, 13.7mg e 0.02mg correspondentes a Ca, Fe, Na e Zn, respectivamente.

Os valores de Fe, Na e Zn são inferiores aos encontrados por Emmanuel *et al.* (2011) (24.43mg, 160.81mg e 7.05mg, respectivamente) nas mesmas frutas. Todavia, os minerais P e K apresentam-se em quantidades relativamente baixas (58.15mg e 340.75mg, respectivamente) às encontradas pelos mesmos autores, mostrados na tabela 1, quando analisaram as frutas de *Vangueria infausta*.

A polpa da fruta é rica em minerais Ca, Mg e K como reporta Orwa *et al.* (2009), e também entra em concordância com o Emmanuel *et al.* (2011) que teve teores altos de Ca e K (186.86mg e 747.26 mg respectivamente).

Conforme o previsto, o conteúdo de minerais em 100 g do licor (tabela 18) é inferior ao conteúdo de minerais encontrado em 100 g da polpa da fruta. Isto mostra que grande parte da matéria mineral (principalmente Ca, Fe e Zn) é perdida durante o processamento do licor.

A quantidade total de minerais determinada nas amostras é inferior ao teor de cinzas (1.15 % na polpa de fruta e 0.23% no licor). Esta diferença mostra que os minerais determinados neste trabalho não são os únicos existentes nestas amostras.

Em suma, as diferenças significativas dos valores nutritivos das frutas de *Vangueria infausta* em estudo neste trabalho e as analisadas em Botswana por Amarteifio e Mosase (2006), Orwa *et al.* (2009) e em Tanzania por Emmanuel *et al.* (2011) podem residir principalmente nas diferenças

dos factores físicos ou naturais (clima, relevo e tipo de solo) nas quais as respectivas plantas se desenvolveram. Já o licor, por ser um produto resultante do processamento da fruta, é de esperar que grande parte dos componentes da fruta se perca, parcial ou totalmente, durante o processamento.

7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

7.1. Conclusões

Os ensaios fitoquímicos realizados com reagentes específicos para o reconhecimento dos metabólitos secundários existentes na polpa da fruta e licor de *Vangueria infausta* no presente trabalho, indicaram a presença de flavonóides, alcalóides, saponinas e taninos, com identificação de esteróides apenas para a polpa da fruta. A presença destes metabólitos secundários com propriedades farmacológicas cientificamente reconhecidas, confere à polpa e ao licor da fruta de *Vangueria infausta* um certo valor medicinal.

A informação nutricional da polpa e licor da fruta revela a ocorrência de proteínas, carboidratos, vitamina C, minerais (Ca, Mg, Na, K, P, Fe e Zn) que são essenciais na dieta alimentar pelo que as frutas representam um forte meio alternativo para o alívio da subnutrição principalmente nas comunidades rurais.

A diminuição dos teores dos parâmetros nutricionais, físico-químicos e a ausência de esteróides no licor deve-se possivelmente a variados factores, como por exemplo alteração do pH durante a preparação do licor; não obstante, o licor continua com propriedades apreciáveis relativamente às características da fruta e às exigências definidas pela legislação brasileira sobre os licores possuindo assim a aceitabilidade para o consumo.

Os resultados experimentais do presente trabalho comparados com os obtidos por outros autores harmonizam-se qualitativamente, e os desvios quantitativos verificados podem ser explicados pelo simples facto de que a composição e conteúdo das frutas é uma função da região onde a espécie se desenvolve, condições climáticas e características do solo, dentre outras variáveis.

7.2. Recomendações

Recomenda-se que a planta de *Vangueria infausta* seja domesticada e se consuma moderadamente tanto a sua fruta quanto o licor derivado, pois são ricos em minerais, vitamina C e outros parâmetros nutricionais importantes para o consumo humano e, portanto, como forma de vencer a subnutrição e combater a pobreza.

Que se façam ensaios *in vitro* das fracções obtidas e, caso apresentem alguma actividade biológica, se identifiquem os componentes destes extractos que são responsáveis pelas actividades biológicas verificadas.

Que se façam mais estudos similares, porém, mais aprofundados, das frutas nativas existentes como forma de expandir a comercialização e processamento destas, promovendo assim a oportunidade de emprego e assim como auxiliar na melhoria da renda familiar das populações locais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abeer, T. (2011). Flavonoidal Content of *Vangueria infausta* Extract Grown in Egypt: Investigation of its Antioxidant Activity. *Inte. Res. J. Pharm.* **2**: 157-161.
- Amarteifio, J. O. e Mosase, M. O. (2006). The Chemical Composition of Selected Indigenous Fruits of Botswana. *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.* **10** (2): 43 – 47.
- Barros, J. C., Dos Santos, P. A., Isepon, J. S. e Da Silva, J. W., Da Silva, M. A. P. (2008). Obtenção e Avaliação de Licor de Leite a Partir de Diferentes Fontes Alcoólicas. *Global Sci. Tec* **1** (4): 27 - 33.
- Bergerot, C. e Bergerot, P. G. (2006). *Câncer: O Poder da Alimentação na Prevenção e Tratamento*. Pensamento – Curtix Editora. São Paulo. Brasil. pp 43-46.
- Biesek, S., Alves, L. A. e Guerra, I. (2005). *Estratégias de Nutrição e Suplementação no Esporte*. Barueri. 2^a ed. Revisada e Ampliada. Manole Editora. São Paulo. 516 p.
- Borges, J. M. (1975). *Práticas de Tecnologia de Alimentos*. Imprensa Universitária. UFV. 156 p.
- Brito, H. O., Noronha, E. P. e França, L. M. (2008). Análise da Composição Fitoquímica do Extracto Etanólico das Folhas da *Annona squamosa* (Ata). *Rev. Bras. Farm.* **89**(3): 180-184.
- Chaves, J. B. P. (1993). *Noções de Microbiologia e Conservação de Alimentos*. 57^a ed. UFV. Brasil. 114p.
- Chhabra S. C., Mahunnah, R. L. A. e Mshiu, E. N. (1984). Phytochemical Screening of Tanzanian Medicinal Plants. *J. Ethnopharmacol.* **11**: 157-179.
- Cseke, L. J., Kirakosyan, A, Kaufaman, P. B., Warber, S. L., Duke, J. A. e Brielmann, H. L. (2006). *Natural Products from Plants*. 2nd ed. Published by CRC Press. Taylor & Francis Group. USA. 569 p.
- Di Stasi, L. C. (1995) *Plantas Mediciniais: Arte e ciência*. Ed. Unesp. São Paulo. pp 108-119.
- Doss A., Mubarack, H. M. e Dhanabalan, R. (2009). Antibacterial Activity of Tannins from the Leaves of *Solanum trilobatum* Linn. *Indian J. of Sci. and Technology.* **2**(2): 41-43.

- Emmanuel, V. T., Njoka, T. J., Catherine, W. L. e Lyaruu, M. V. H. (2011). Nutritive and Anti-nutritive Qualities of Mostly Preferred Edible Woody Plants in Selected Drylands of Iringa District, Tanzania. *Pakistan J. of Nutri.* **10** (8): 786-791.
- Enturini, F. e Waldemar, G. (2010). *Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia*. Editora Edgard Blucher. São Paulo. pp 425-447.
- Fett, C. (2000). *Ciência da Suplementação Alimentar*. Sprint Ed. Rio de Janeiro. pp 54-57.
- Franco, B. D. G. M. e Landgraf, M. (1996). *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo, Atheneu. 226 p.
- Galvani, F. e Gaertner, E. (2006). *Adequação da Metodologia Kjeldahl para Determinação de Nitrogénio Total e Proteína Bruta*. Vol. 63. 1ª ed. Circular Técnica. Embrapa Pantanal. Curumba – Brasil. pp 1-8.
- Hashizume, T., Cuoco, A. C., Kiya, E. E. e Draetta, L.S. (1976). *Processamento de Licor de Maracujá*. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos. N^o 48. pp 97-116.
- Hebert, G. (1989). *Elaboración Artesanal de Licores*. Editora Acribia, S.A. Zaragoza. España. 117 p.
- Herrmann, E. C. Jr. e Kucera, L. S. (2008). Antiviral Substances in Plants of *Vangueria infausta*. *Biol. and Med. Proc. of the Society for Experimental.* **124**: 874-878.
- Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. Vol. 4. 4ª ed. digital. Imprensa Oficial do Estado de São Paulo. São Paulo. pp 94-110.
- Instituto de Investigação Agrária de Moçambique, Boletim do IIAM, (2008). N^o 7. Janeiro – Março. Moçambique. 7 p.
- Laboratory for Soil, Plant and Water Analysis. (1991), *Methods for Plant Analysis*. Part II. Analytical Methods. Rural Development Programme. Royal Tropical Institute. Amsterdam. 115 p.
- Lehninger, A. L. (1984). *Bioquímica*. Vol. 1. 2ª ed. Editora Edgard Blucher Ltda. São Paulo. Brasil. pp 39, 43, 240 e 229.

Lynch, A. G. e Mulvihill, D. M. (1997). Effect of Sodium Caseinate on the Stability of Cream Liqueurs. *Inter. J. Dairy Tec.* **50** (1): 1-7.

Matos, F. J. A. (1997). *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 2^a ed. Fortaleza edições UFC. 141 p.

Mbukwa, E., Chacha, M. e Majinda, R. R. T. (2007). *Phytochemical Constituents of Vangueria Infausta: their Radical Scavenging and Antimicrobial Activities*. *Arkivoc* (ix). Gaborone. Botswana. pp 104-112.

Nielsen, S. S (Eds). (2009). *Food Analysis*. 4th ed. Published by Springer. USA. 599 p.

Nunes, A. F. J. (2011). *Caracterização Química do Licor de Tamarindus indica L*. Tese de licenciatura em Química. UEM. Moçambique. 47 p.

Nundkumar, N. e Ojewole, J. A. (2002). Studies on the Antiplasmodial Properties of Some South African Medicinal Plants used as Antimalarial Remedies in Zulu Folk Medicine. *Met. Find Exp. Clin Pharmacol*. **24**: 397-401.

Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass R. e Simons, A. (2009). *Agroforestry Database: a Tree Reference and Selection Guide*. Version 4.0. pp 1-5. Disponível em <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>. Acesso em 17 de Dezembro de 2011.

Penha, E. M. (2006). *Licor de Frutas*. Embrapa Informação Tecnológica. Coleção Agroindústria Familiar. Brasília, DF. 40 p.

Penha, E. M., Modesta, R.C. D., Gonçalves, E. B., Silva, A. L. S. e Moretti, R. H. (2003). Efeito dos Teores de Álcool e Açúcar no Perfil Sensorial de Licores de Acerola. *Bras. J. of Food Technology*. **6** (1): 33-42.

Purgatto, E. (2005). *Análise de Proteínas*. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental FCF. Universidade de São Paulo. São Paulo. Brasil. 30 p.

Saka, J. D. K., Msonthi, J. D e Sambo, E.Y. (1992). Dry Matter, Acidity and Ascorbic Acid Contents of Edible Wild Fruits Growing in Malawi. *Tropi. Sci*. **32**: 217-221.

Silva, R. N., Monteiro, V. N., Alcanfor, J. D. X., Assis, E. M. e Asquiere, E. R. (2003). Comparação de Métodos para Determinação de Açúcares Redutores e Totais em Mel. *C. e Tecno. Alimentos*. **23**(3): 337-341.

Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., De Mello, J. C. P., Mentz, L. A. e Petrovick, P. R. (2000). *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. 2^aed. Santa Catarina: Editora da UFSC. pp 355 – 707.

Slowinski, E. J., Wolsey, W. C. e Rossi, R. C. (2009). *Chemical Principles in the Laboratory*. 10th ed. Brooks/Cole, Cengage Learning. USA. pp 342-343

Solomons, T. W. G. (2006). *Química Orgânica*. Vol. 2. 8^a ed. Livros Técnicos e Científicos Editora. Rio de Janeiro. Brasil. pp 350-351.

Stryer, A. (1995). *Bioquímica*. 4^a ed. Guanabara Koogan. Stanford University. pp 18-19, 428-429.

Tavares, J. T. Q. Cardoso, R. L., Costa, J. A., Fadigas, F. S. e Fonseca, A. A. (2010). Interferência do Ácido Ascórbico na Determinação de Açúcares Redutores pelo Método de Lane e Eynon. *Quim. Nova*. **33**(4): 805-809.

Teixeira, L. J. Q. (2004). *Avaliação Tecnológica de um processo de produção de licor de banana*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa. 81 p.

Teixeira, L. J. Q. Ramos. M. A., Chaves, P. B. J. e Stringheta, C. P., (2007). Testes de Aceitabilidade de Licores de Banana. *Rev. Bras. de Agrociência*. **13**(2): 205-209.

Teixeira, L. J. Q.; Simões, L. S., Rocha. C. T., Saraiva, S. H. e Junqueira, M. S., (2011). Tecnologia, Composição e Processamento de Licores. *Enci. Biosfera*. Centro Científico Conhecer – Goiânia. **7**(12): 1-17.

USDA, ARS, National Genetic Resources Program (2011). *Germplasm Resources Information Network* - (GRIN). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Disponível em <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?70820>. Acesso em 12 de agosto de 2011.

Varnam, A. H. e Shutheland, J. P. (1994). *Beverangs: Tecnology, Chemistry and Microbiology*. Vol. 2. 2nd ed. London. Chapman e Hall. 464 p.

Verdcourt, B. e Bridson, D. M. (1991). *Flora of Tropical East Africa Rubiaceae*. Part 3. CRC Press Ed. 1177 p.

Vieira, V. B., Rodrigues, J. B., Brasil, C.C.B e Rosa, C. S. (2010). Produção, Caracterização e Aceitabilidade do Licor de Camu-Camu (*Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh). *Agroc.* **21**(4): 519-522.

Watt, J. M. e Breyer-Brandwijk, M. G. (1962). *Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*. 2^a ed. Livingstone, Ltd. Edinbugh. 1457 p.

Welch, R. W, Wang, Y., Crossman, A. Jr., Park, J. B., Kirk, K. L. e Levine, M. (1995). Accumulation of Vitamin C (Ascorbate) and its Oxidized Metabolite Dehydroascorbic Acid Occurs by Separate Mechanisms. *J. Biol. Chem.* **270**(21): 12584-92.

Yenesew, A., Abosi. A.O., Raseroka, B. H., Mbukwa, E. , Akala, H., Midiwo, J. O., Waters N. C., Liyala, P. e Majinda, R. R. T. (2006). *Vangueria infausta* Root Bark: *In Vivo* and *In Vitro* Antiplasmodial Activity. *J. Biomed Sci.* **63**(3): 129-133.

ANEXOS

ANEXO A: Padrões usados para leituras

1. pH

pH à temperatura de 20⁰C

Padrão de pH 4 = 4.008

Padrão de pH 7 = 7.003

2. Grau alcoólico

Leitura efectuada à temperatura de 20⁰C

H₂O = 0

Padrão de etanol a 9.5% = 9.5%

3. Índice de refacção

Efectuada à temperatura de 19⁰C

H₂O = 1.333

4. Sólidos solúveis (°Brix)

Efectuada à temperatura de 19⁰C

H₂O = 0 °Brix

ANEXO B: Fórmulas usadas para cálculos

1. Determinação da densidade relativa

$$\frac{m_{pa} - m_p}{m_{H_2O} - m_p} = \text{densidade relativa}$$

onde :

m_{pa} - massa do picnómetro com amostra

m_p - massa do picnómetro vazio

m_{H_2O} - massa do picnómetro com água.

2. Determinação de resíduo seco

$$\frac{100 \cdot M}{V} = \text{resíduo seco por cento}$$

onde:

$M = n^0$ de gramas de resíduo seco;

$V = n^0$ de gramas ou mL da amostra.

3. Determinação de cinzas

$$\frac{100 \cdot N}{p} = \text{cinzas por cento}$$

onde:

$N = n^0$ de gramas de cinzas;

$p = n^0$ de gramas da amostra.

4. Determinação de acidez total titulável

$$\frac{100 \cdot V \cdot f}{p \cdot c} = \text{acidez em solução molar}$$

onde:

$V = n^0$ de mL da solução de NaOH a 0.1 M gasto na titulação;

$f =$ factor de solução da NaOH a 0,1M

$p = n^0$ de g da amostra usado na titulação

$c =$ correcção para a solução de NaOH, 10 para NaOH a 0,1M

5. Determinação de glúcidos redutores em glicose

$$\frac{100 \cdot A \cdot a}{p \cdot V} = \text{glúcidos redutores em glicose}$$

onde:

A = n^o de mL da solução de p gramas da amostra

a = n^o de gramas de glicose correspondente a 10 mL das soluções de Fehling

V = volume da solução da amostra gasto na titulação

p = massa da amostra em gramas.

6. Determinação de glúcidos não redutores em sacarose

$$\left(\frac{100 \cdot A \cdot a}{p \cdot V} - B \right) \times 0.95 = \text{glúcidos não redutores em sacarose}$$

onde:

A = n^o de mL da solução de p gramas da amostra

a = n^o de gramas de glicose correspondente a 10 mL das soluções de Fehling

V = volume da solução da amostra gasto na titulação

p = massa da amostra em gramas ou no de gramas usado na inversão

B = n^o de gramas de glicose por cento obtido em glúcidos redutores em glicose

7. Determinação do nitrogénio

$$\% N = \frac{(L-B) \cdot THCl \cdot 14 \cdot 100 \cdot \frac{75}{15}}{ma}$$

onde:

% N = percentagem do nitrogénio

L = volume usado para titular a amostra

B = volume usado para titular o branco

ma = massa da amostra

THCl = concentração de ácido clorídrico

8. Determinação da vitamina C

$$\frac{V \cdot F \cdot 100}{p} = \text{Vitamina C mg por cento m/v}$$

onde:

V= volume de iodato gasto na titulação

p = n° de gramas ou mL da amostra

F = 0,8806 para KIO₃ a 0,002M

9. Determinação dos minerais

Teores de minerais (mg/100g da polpa de fruta e mg/100mL do licor)

$$\frac{\text{Conc(mg/L)} \cdot f \text{ dil} \cdot V_a(\text{mL})}{X_a \cdot 1000} \times 100 = \text{teor do mineral(mg/100 g ou mL)}$$

onde:

Conc = concentração do mineral

f dil = factor de diluição

V_a = volume da solução preparada

X_a = massa (g) da amostra para a polpa de fruta ou volume (mL) para o licor.

10. Determinação da média amostral

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

onde:

\bar{x} = média

n = número de determinações

x_i = resultado individual da análise

11. Determinação do desvio padrão

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

onde:

s = desvio padrão

12. Determinação de desvio padrão relativo

$$\% \text{ RSD} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\%$$

Onde:

% RSD = percentagem desvio padrão relativo.

ANEXO C: Gráficos e tabelas de emissões e absorvâncias das soluções-padrão

1. Absorvâncias e curva de calibração dos padrões de cálcio

Tabela A. Absorvâncias de padrões de cálcio

Concentração (mg/L)	Abs
0	0.001
4	0.021
8	0.045
12	0.063
16	0.079

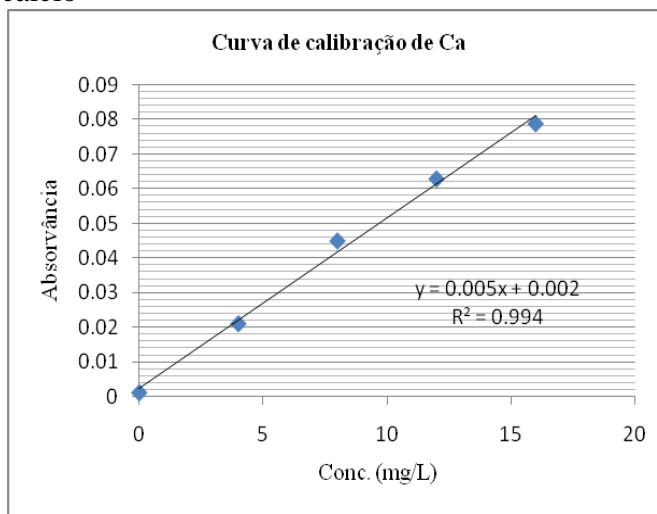


Gráfico 1. Curva de calibração de cálcio

2. Absorvâncias e curva de calibração dos padrões de magnésio

Tabela B. Absorvâncias de padrões de magnésio

Concentração (mg/L)	Abs
0	0.003
5	0.082
10	0.175
15	0.251
20	0.326

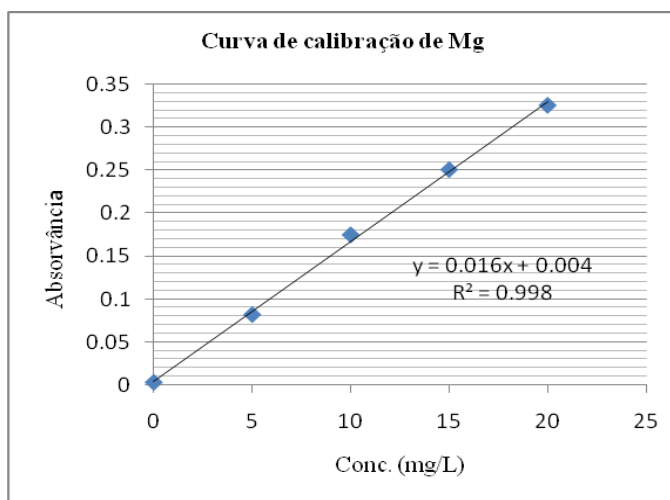


Gráfico 2. Curva de calibração de magnésio

3. Emissão e curva de calibração dos padrões de sódio

Tabela C. Sinal de emissão de padrões de sódio

Concentração (mg/L)	SE
0	0
10	9
15	16
20	21
25	25

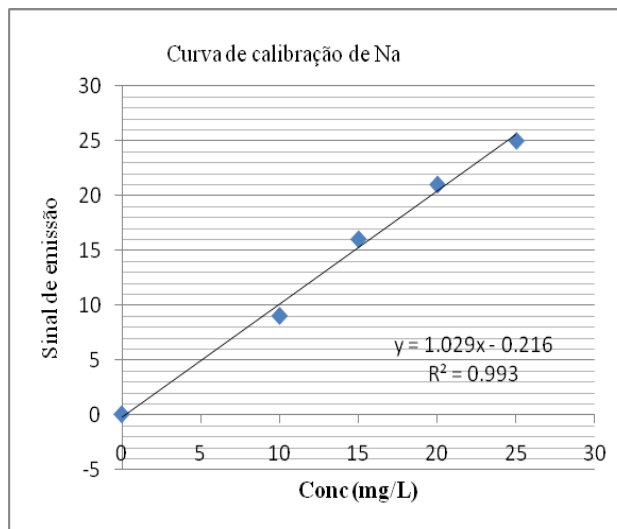


Gráfico 3. Curva de calibração de sódio

4. Emissão e curva de calibração dos padrões de potássio

Tabela D. Sinal de emissão de padrões de potássio

Concentração (mg/L)	SE
0	0
20	22
40	45
60	64
80	83
100	100

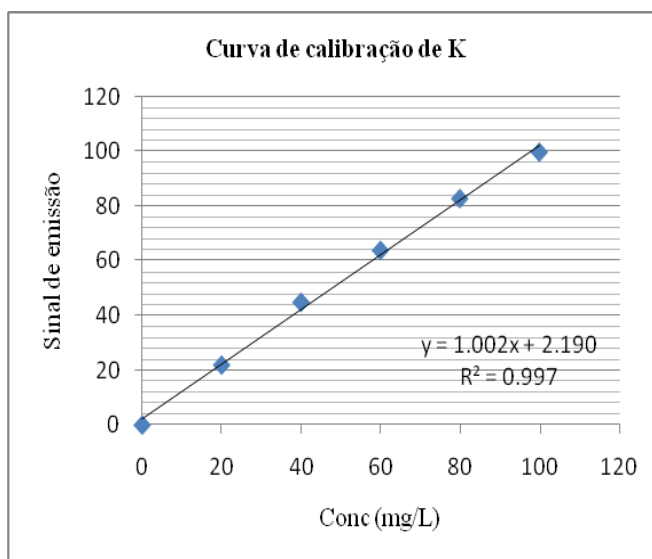


Gráfico 4. Curva de calibração de potássio

5. Absorvâncias e curva de calibração dos padrões de fósforo

Tabela E. Absorvâncias de padrões de fósforo

Concentração (mg/L)	Abs
0	0
1	40
2	86
3	151
4	188
5	250

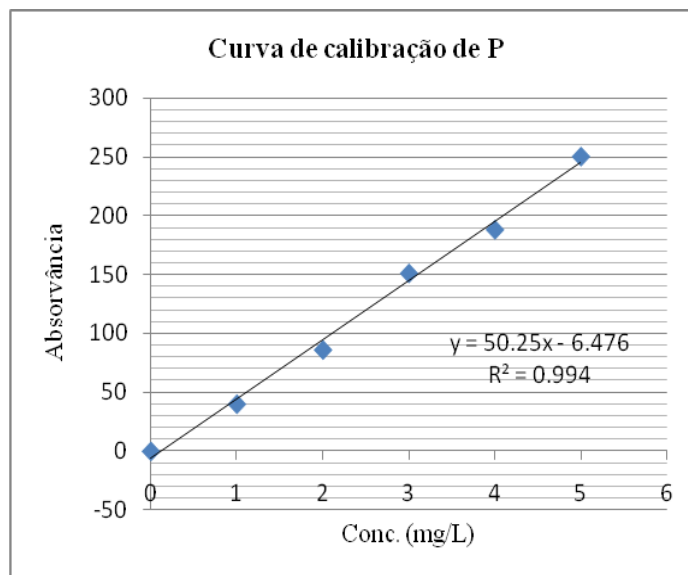


Gráfico 5. Curva de calibração de fósforo

6. Absorvâncias e curva de calibração dos padrões de ferro

Tabela F. Absorvâncias de padrões de ferro

Concentração (mg/L)	Abs
0	0.001
0.5	0.01
1	0.018
1.5	0.026
2	0.032

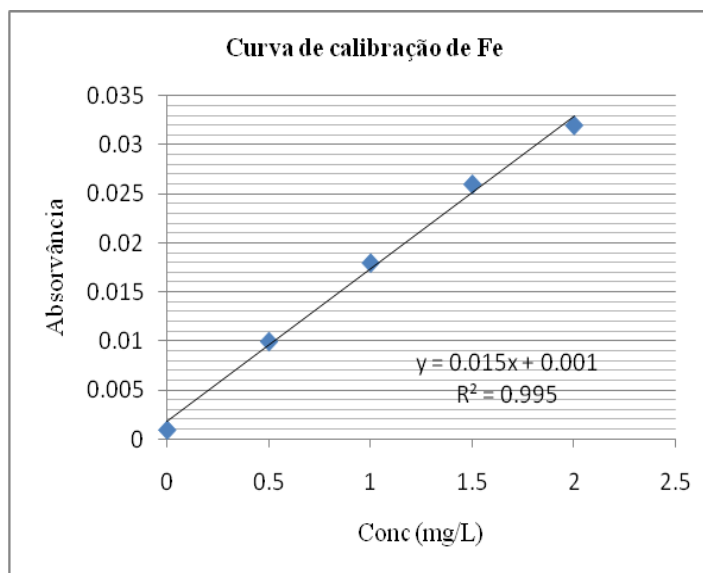


Gráfico 6. Curva de calibração de ferro

7. Absorvâncias e curva de calibração dos padrões de zinco

Tabela G. Absorvâncias de padrões de zinco

Concentração (mg/L)	Abs
0	0.002
0.25	0.268
0.50	0.451
0.75	0.652
1.00	0.799

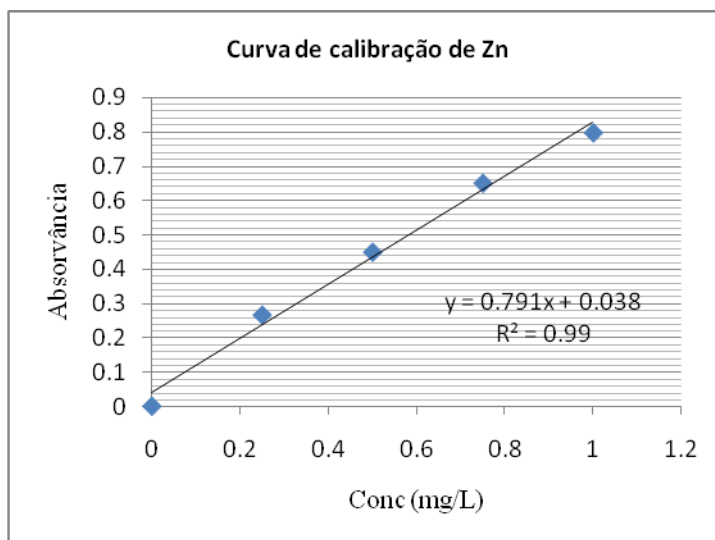


Gráfico 7. Curva de calibração de zinco

ANEXO D: Concentrações dos minerais nas amostras

Tabela H. Concentrações dos minerais nas amostras

Amostras	Minerais	f dil	Concentração (mg/L) R₁	Concentração (mg/L) R₂	Concentração (mg/L) R₃	\bar{x}	s	%RSD
Polpa da fruta de <i>Vangueria infausta</i>	Ca	4	11.464	11.673	11.488	11.542	0.114	0.991
	Mg	2	13.668	13.676	13.650	13.665	0.013	0.097
	Na	2	5.021	5.027	5.018	5.022	0.005	0.091
	K	2	33.742	33.742	34.740	34.075	0.576	1.691
	P	10	1.163	1.163	1.163	1.163	0.000	0.000
	Fe	1	0.593	0.563	0.572	0.576	0.015	2.673
	Zn	1	0.080	0.092	0.091	0.088	0.007	7.595
Licor da fruta de <i>Vangueria infausta</i>	Ca	4	15.234	15.370	15.360	15.321	0.076	0.495
	Mg	20	18.338	18.441	18.362	18.380	0.054	0.293
	Na	2	20.618	20.618	19.646	20.294	0.561	2.765
	K	4	63.682	63.682	63.682	63.682	0.000	0.000
	P	50	1.203	1.203	1.183	1.196	0.012	0.965
	Fe	1	1.010	1.031	1.040	1.027	0.015	1.499
	Zn	1	0.110	0.120	0.110	0.113	0.006	5.094