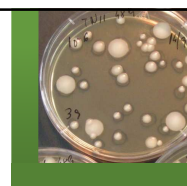




## IV Encontro do medronho e do medronheiro

Signo Samo, 8 de dezembro de 2019



# Análise de aguardentes de medronho da Região Centro e leveduras indígenas associadas: resultados preliminares

**Goreti Botelho**<sup>1</sup>, Ilda Caldeira<sup>2,3</sup>, Ludovina Galego<sup>4</sup>, Filomena Gomes<sup>1</sup>, Carolina Ferreira<sup>5</sup>,  
Margarida Baleiras-Couto<sup>2,6</sup> e **Filomena L. Duarte**<sup>2,6</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia Alimentar, CERNAS, Escola Superior Agrária de Coimbra, Instituto Politécnico de Coimbra

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, INIAV IP, Dois Portos

<sup>3</sup>ICAAM-Universidade de Évora

<sup>4</sup>Departamento de Engenharia Alimentar, MeditBio, Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve

<sup>5</sup>UCIBIO-Requimte, Departamento de Ciências da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

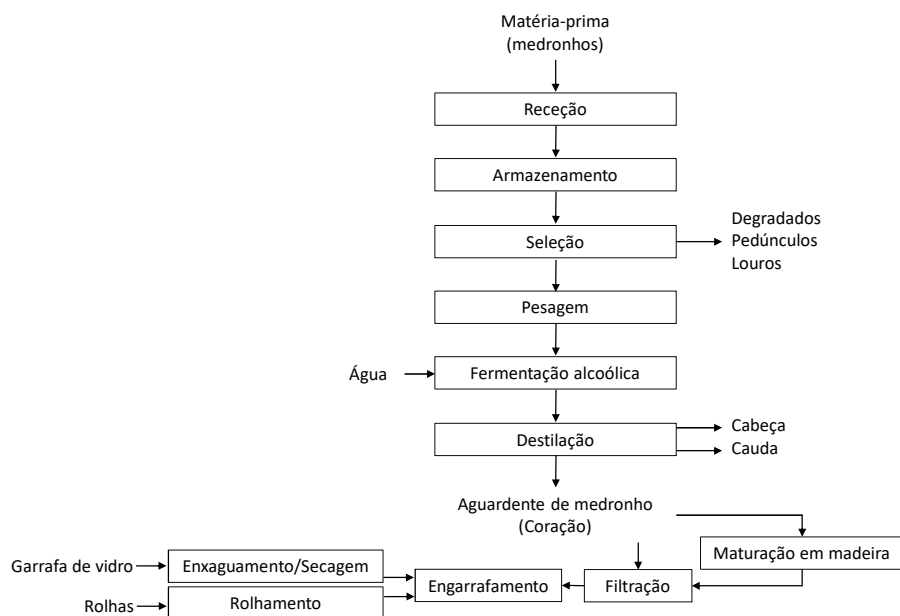
<sup>6</sup>Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, BioISI - Biosystems & Integrative Sciences Institute



## O que é a aguardente de medronho?

O Decreto-Lei N.º 238/2000 define a aguardente de medronho no Art.º 2:

“entende-se por aguardente de medronho a aguardente de frutos obtida exclusivamente por fermentação alcoólica e destilação do fruto carnudo do *Arbutus unedo* L. ou do seu respetivo mosto”.



In: Goreti Botelho e Ludovina Galego, 2016. *Manual de Boas Práticas de Fabrico de Aguardente de Medronho*. 2ª Ed. Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária de Coimbra, CERNAS. Coimbra. 63 p. ISBN: 978-972-99205-5-4 3

## Ano de 2017

**2 Locais de Amostragem:**  
Estreito, Oleiros  
Pampilhosa da Serra

**Recolha de amostras**

fermentação



destilação



## Ano de 2017

Recolha de amostras de fermentados (dia 31/01/2017)

### Estreito, Oleiros

#### Condições

Medronhos: 23 a 25 Brix (°B) iniciais.  
 Adição de água controlada.  
 Condições de anaerobiose.  
 Espaço de fermentação: 16 °C  
 Depósito A: 19,6°B (21/10/2016)  
 Depósito B: 12,2°B (16/12/2016)



### Pampilhosa da Serra

#### Condições

Medronhos: 23 a 25 Brix (°B) iniciais.  
 Adição de água controlada.  
 Condições de anaerobiose.  
 Espaço de fermentação: TND  
 Depósito A: 13,8°B (19/10/2016)  
 Depósito B: 13,8°B (14/12/2016)



## Determinações microbiológicas



- ☐ Contagem por cultura em placa de microrganismos totais, leveduras e bactérias acéticas
- ☐ Isolamento de leveduras para identificação

ChromEVS - C05\_3p14.1.h2

File Edit Analysis Options View Window Help

ChromEVS - C05\_3p14.1.h2

1 CCG CCG CCG TTT AAA TTT GGG GGA TGA GAC GGG GGA GAG CCG AAA TTT GAA ACC GGG GGA CCG AAT TTT AAA  
 140 CCG CCG AAT CCG TTT AAA GGA CCG AAT TTT TTT CCG CCG AAA GGA CCG AAT TTT GGT TTT GGA TCG CCG TCT AAA  
 240 TCG AAT CCG CTT CTT AAA GCG AAT GAA ATA GTA CTA GCA AAA ATT CTT GAA AAA GGG TAT TTT ATC CCG CCG AAA  
 340 CCG AAT TTA GGG ATT GGA AAA TGG GCG CCG TTT CTT CTA TGG AAA GGT CTT CTA GCG GGA GCG TCA TTT TTT

C05\_3p14.1.h2

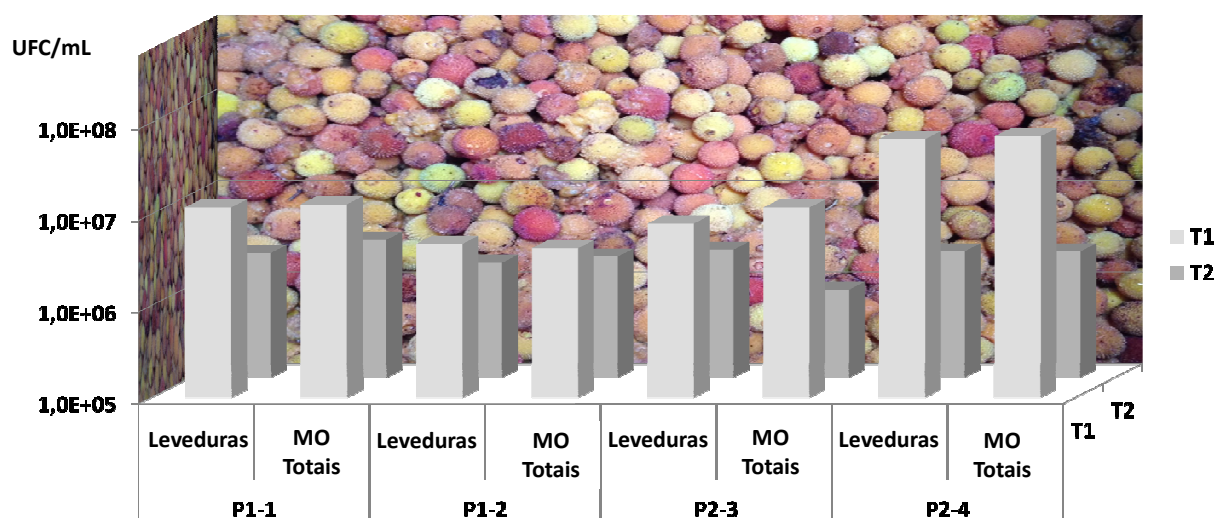
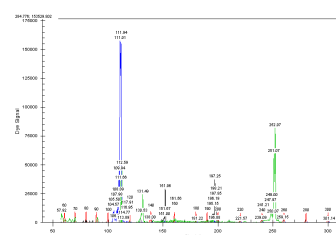
150 340 530 720 910 1100 1290

T A T T T A T T C C G C A T C G T G T T T A C A C G C C C C C C C C C C C C C C C G T C G T A T G G G



Mass spectrum showing relative intensity (0 to 100,000) versus m/z (0 to 400). The base peak is at m/z 100. Other significant peaks are labeled with their m/z values.

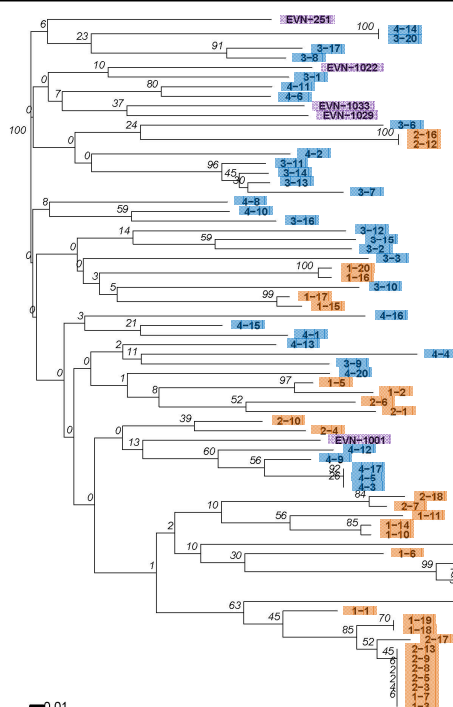
m/z	Relative Intensity (approx.)
41	10,000
55	15,000
67	25,000
77	35,000
81	10,000
91	15,000
100	100,000
105	15,000
117	10,000
129	15,000
141	10,000
153	15,000
167	10,000
179	15,000
191	10,000
205	15,000
217	10,000
229	15,000
241	10,000
255	15,000
267	10,000
279	15,000
291	10,000
305	15,000
317	10,000
329	15,000
341	10,000
355	15,000
367	10,000
379	15,000
391	10,000





## Resultados e discussão

P 1	T1		T2	
	Leveduras	Nº isolados	Leveduras	Nº isolados
S 1	<i>B. bruxellensis</i>	1	<i>S. cerevisiae</i>	20
	<i>S. cerevisiae</i>	19		
S 2	<i>Saccharomyces sp.</i>	4	<i>S. cerevisiae</i>	20
	<i>S. cerevisiae</i>	16		
P 2				
S 3	<i>B. bruxellensis</i>	4	<i>B. bruxellensis</i>	8
	<i>S. cerevisiae</i>	16	<i>S. cerevisiae</i>	12
S 4	<i>L. cidri</i>	1	<i>B. bruxellensis</i>	4
	<i>L. thermotolerans</i>	2	<i>Z. bailli</i>	1
	<i>S. cerevisiae</i>	17	<i>S. codes ludwigii</i>	3
			<i>S. cerevisiae</i>	12



## Resultados e discussão

- Microssatélites de 68 isolados do tempo T1.
- 4 leveduras de fermentações vnicas e 1 levedura comercial.

- Elevada diversidade
- Agrupamento de isolados do Produtor 1
- A levedura comercial de vinhos está isolada das restantes



## Conclusões

- A espécie de leveduras predominante nas fermentações de ambos os produtores foi *Saccharomyces cerevisiae*.
- Foi observada uma grande diversidade de estirpes de *S. cerevisiae*.
- A sequenciação permitiu a detecção de seis espécies adicionais. De entre estas foram detetadas espécies geralmente associadas à alteração em vinhos.



## Determinações analíticas



GC (PerkinElmer Clarus 400) equipado com detector FID (Waltham, USA)  
Coluna capilar BP 20 (30 m x 0.32 mm I.D. x 1.0 µm film thickness; SGE, Australia)



Densímetro digital – DA -110M  
(Mettler Toledo)



*Amostras de aguardente*

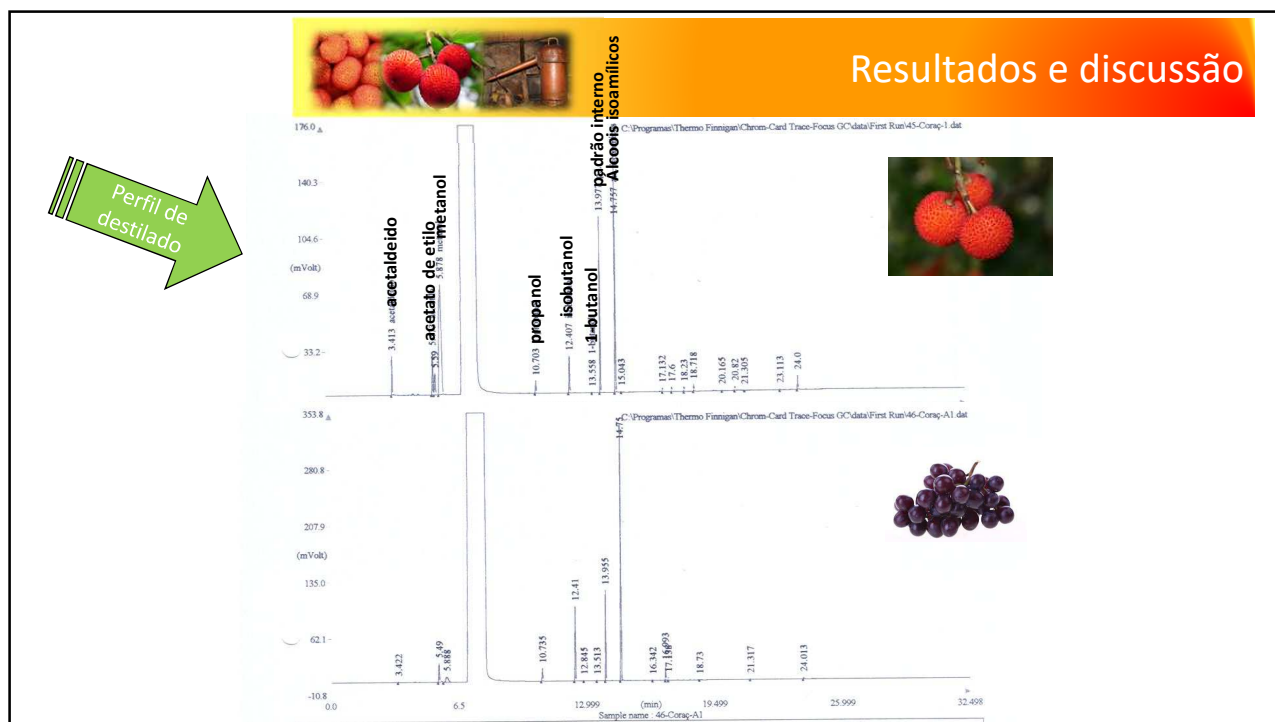


GBC Avanta (Dandenong, Australia)

**Teor alcoólico (NP 2143)**  
**Extrato seco (NP 3684)**  
**Acidez total (ácido acético) (NP 2139)**  
**Densidade (Densímetro digital DA 110M)**  
**Substâncias voláteis (NP 3263)**  
**Cobre (NP 2441)**

**Composição química**





**Resultados e discussão**

**Composição analítica das aguardentes de medronho obtidas nos dois produtores em 2017 (P1 E P2)**

Determinações	Unidades	Limite Legal*	Resultados	
			P1 (x±dp)	P2 (x±dp)
<b>Teor alcoólico</b>	% vol.	≥ 42	43,2±0,1	45,9±0,6
Extrato seco	g/dm <sup>3</sup>	< 20	0,372±0,043	0,879±0,790
Acidez total (ác. acét)	g/hl AP	≤ 200	51,4±0,8	62,8±23,8
Densidade	g/cm <sup>3</sup>	--	0,9393±0,0003	0,9360±0,0000
<b>Cobre</b>	mg/L	≤ 15	0,5±0,1	1,0±0,1

AP – Álcool Puro; \* De acordo com o Decreto-Lei n.º 238/2000 de 26 de Setembro para a aguardente de medronho



## Resultados e discussão

Composição volátil das aguardentes de medronho obtidas nos dois produtores em 2017 (P1 E P2)

Determinações	Unidades	Limite Legal*	Resultados	
			P1 (x±dp)	P2 (x±dp)
Subst. Voláteis**	g/hl AP	≥ 200	447,3±1,4	404,0±77,6
<b>Etanal</b>	g/hl AP	<b>≥ 5 ≤ 40</b>	<b>70,0±0,3</b>	26,8±5,5
Acetato de Etilo	g/hl AP	≤ 300	156,3±5,5	161,5±73,2
<b>Metanol</b>	<b>g/hl AP</b>	<b>≥ 500 ≤ 1000</b>	<b>765,8±2,5</b>	<b>839,7±65,8</b>
2-Butanol	g/hl AP	≤ 2	<0,6	<0,6
1-Propanol	g/hl AP	≥ 10 ≤ 40	22,1±0,7	16,5±2,6
Isobutanol	g/hl AP	≥ 30 ≤ 70	44,8±0,5	43,8±0,9
1-Butanol	g/hl AP	≤ 3	<0,6	<0,4
Isopentanóis	g/hl AP	≥ 80 ≤ 185	148,8±2,7	149,3±6,4
Álcoois superiores totais	g/hl AP	≥ 130 ≤ 300	216,9±3,9	210,5±4,1
Isobutanol/propanol	g/hl AP	≥ 1,5 ≤ 4	2,0	2,7

AP – Alcool Puro; \* De acordo com o Decreto-Lei n.º 238/2000 de 26 de Setembro para a aguardente de medronho; \*\* Não incluem os álcoois etílico e metílico. De acordo com o regulamento (CE) nº 110/2008, do Conselho de 15 de Janeiro.



## Conclusões

- As aguardentes obtidas nos dois locais de ensaio apresentaram parâmetros analíticos dentro dos valores legais (com exceção do etanal).
- O perfil analítico de ambas as aguardentes foi semelhante.
- A qualidade analítica das aguardentes de medronho obtidas após a atividade de leveduras indígenas é bastante aceitável.





## Perspetivas futuras

- Repetir a abordagem realizada (análise microbiológica e química) para confirmar os resultados obtidos.
- Realizar análise sensorial das aguardentes para identificação de eventuais diferenças.
- Comparar diferentes regiões produtoras de medronhos/aguardentes.

## Agradecimentos

### Produtores

*Jorge Simões - Estreito, Oleiros*

*José Martins – Pampilhosa da Serra*

### Colegas do Lab. de Enologia (INIAV)

*Amélia Soares*

*Deolinda Mota*

*Otília Cerveira*

### Financiamento

Este trabalho é financiado por fundos nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., no âmbito do projeto PTDC/BIA-MIC/30785/2017 – WYG Advancing wine yeast genomics –exploring the evolutionary dimensions of domestication and the emergence of virulence.

Projeto RG- PCMG - Conservação e Melhoramento Genético Vegetal para o medronheiro (*Arbutus unedo* L.), com o código de operação PDR2020-784-042742 - RG-PCMG, do Instituto Politécnico de Coimbra, cofinanciado pelo FEADER – Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural, através do Acordo de Parceria Portugal 2020, Programa PDR2020, Operação 7.8.4 – Recursos Genéticos - Conservação e melhoramento de recursos genéticos vegetais.



PROGRAMA DE  
DESENVOLVIMENTO  
RURAL 2014-2020



FCT  
Fundação para a Ciência e a Tecnologia

## Notícia em primeira Mão!

- Lançamento, ao nível Nacional, da 3ª Edição do **Manual de Boas Práticas de Fabrico de Aguardente de Medronho** vai ser realizado ainda este mês de Dezembro pela:

Editora Booki | Quântica Editora - conteúdos especializados, Lda

**Obrigada!**

