

Contribuição para o estudo da produção de
azeitona de mesa da cultivar Cobrançosa:
caracterização físico-química,
organolética e nutricional



Jessica Juliette Prata

Trabalho Final de Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Faro, 2015



UAAlg

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Contribuição para o estudo da produção de
azeitona de mesa da cultivar Cobrançosa:
caracterização físico-química,
organolética e nutricional



Jessica Juliette Prata

**Trabalho apresentado ao Instituto Superior de Engenharia para
obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos**

Sob orientação:

Professora Doutora Paula Maria Carrasquinho Pires Cabral (Orientadora)
Professora Doutora Célia Maria Brito Quintas (Coorientadora)

Faro, 2015

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Jessica Juliette Prata



©2015 Jessica Juliette Prata

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

É com muito prazer e satisfação que agradeço a todos os que, de alguma forma, me ajudaram na realização e conclusão desta tese.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Professora Doutora Paula Maria Nunes Alberto Carrasquinho Pires Cabral (orientadora) e à Professora Doutora Célia Maria Brito Quintas (coorientadora) por toda a ajuda prestada ao longo da realização do trabalho laboratorial e escrito, pelo incentivo e pela constante disponibilidade em esclarecer dúvidas e transmitir conhecimentos.

À minha colega Tânia Barros pela disponibilidade, boa disposição e transmissão do seu saber teórico e prático no laboratório.

Aos técnicos, engenheiros e mestres dos laboratórios pela ajuda fornecida ao longo do ano.

A toda a minha família, em especial aos meus pais e irmã por todo o apoio dado ao longo de todo o meu percurso académico, especialmente nesta fase.

E, por fim, muito obrigado a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho embora não estejam mencionadas.

Lista de abreviaturas

| | |
|-------|---|
| COI | Conselho Oleícola Internacional |
| DGADR | Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural |
| DM | Dieta Mediterrânica |
| DNS | Ácido 3,5 - dinitrossalicílico |
| TPA | Texture Profile Analysis (Análise do perfil de textura) |

Resumo

A azeitona de mesa retalhada da cultivar Cobrançosa é produzida industrialmente, por fermentação em salmoura com concentrações de NaCl de 6 a 8 %. Foi objeto deste trabalho estudar o processamento e caracterizar a azeitona de mesa retalhada com graus de maturação diferentes, verde e mista, obtida por fermentação em salmouras de 8 % NaCl e 4 % NaCl + 4 % KCl. Seguiu-se a fermentação por análise da composição físico-química da azeitona e respetiva salmoura e no final da fermentação a azeitona de mesa foi caracterizada organolética e nutricionalmente. Os resultados demonstraram que após 225 dias de fermentação a salmoura apresentava valores de pH 4,5-4,3 e acidez livre 0,3 % expressa em ácido láctico e a azeitona tinha um teor de sal de 4,1-4,3 %, consoante se tratavam de frutos verdes ou mistos, respetivamente. O que sugere que a evolução da fermentação e a qualidade final das azeitonas de mesa são semelhantes. A análise sensorial indicou que não há diferenças entre a azeitona verde e a mista, com exceção da firmeza e teor de sal. Relativamente à composição nutricional, expressa em g/100 g azeitona, os resultados demonstraram que é rica em lípidos (20,9-20,7), tem baixos teores de proteína (1,4-1,2), hidratos de carbono (2,1-3,5), fibras (2,8-2,7) e cinzas (4,2-4,3), correspondendo a um valor energético de 201,9-205,5 kcal/100 g azeitona, com um teor em minerais de 1,39 em Na, 0,17-0,14 em K e 0,11-0,06 em Ca, teores elevados em compostos fenólicos, 0,14-0,16 e açúcares redutores, 0,18 e uma capacidade antioxidante (EC_{50}) de 0,78-0,68 mg/mL, consoante se tratava de azeitona verde ou mista, respetivamente. A azeitona de mesa produzida com 4 % NaCl + 4 % KCl apresentou um teor de sal mais baixo (3,7 %) e boas características organoléticas, quando comparada com azeitona fermentada em 8 % NaCl, contribuindo para melhorar a imagem deste alimento da Dieta Mediterrânica.

Palavras-chave: Azeitona de mesa, Azeitona retalhada da cultivar Cobrançosa, Caracterização físico-química de azeitona de mesa, Composição nutricional de azeitona de mesa, Dieta Mediterrânica.

Abstract

Split table olives of the Cobrançosa cultivar are industrially produced by fermentation in brine with NaCl concentrations between 6 and 8 %. The aim of this work was to study the processing and characterization of split olives with different degrees of ripeness, green and turning colour olives, obtained by fermentation in brines with 8 % NaCl and 4 % NaCl + 4 % KCl. The fermentation was followed by analysis of the physico-chemical composition of olives and their brine. At the end, table olives were characterized organoleptical and nutritionally. After 225 days of fermentation, the results showed that the brine had pH of 4.5-4.3 and an acidity of 0.3 % expressed in lactic acid and the table olives had a salt content of 4.1-4.3 %, depending on the degree of ripeness, whether they were green or turning colour, respectively, which suggest that the evolution of fermentation and the final quality of table olives are similar. Sensory analysis revealed no differences between green and turning colour olives, except for firmness and salt content. Regarding the nutritional analysis, expressed in g/100 g olives, split olives are rich in lipids (20.9-20.7), with low levels of protein (1.4-1.2), carbohydrates (2.1-3.5), fiber (2.8-2.7) and ash (4.2-4.3), which corresponds to an energetic value of 201.9-205.5 kcal/100 g olive, with mineral contents of 1.39 of Na, 0.17-0.14 of K and 0.11-0.06 of Ca, high levels of phenolic compounds, 0.14-0.16 and reducing sugars, 0.18, and an antioxidant capacity (EC_{50}) of 0.78-0.68 mg/mL, whether they were green or turning colour olives, respectively. The table olives produced with 4 % NaCl + 4 % KCl had a lower salt content (3.7 %) and good organoleptic characteristics when compared with table olives fermented in 8 % NaCl, contributing to improve the image of this food of the Mediterranean Diet.

Keywords: Table olives, Split olives of the Cobrançosa cultivar, Physico-chemical characterization of table olives, Nutritional composition of table olives, Mediterranean Diet.

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1.1. - Corte transversal de uma azeitona, expondo os seus diferentes tecidos | 3 |
| Figura 1.2. - Azeitona Cobrançosa. | 5 |
| Figura 1.3. - Principais países produtores de azeitona de mesa. | 6 |
| Figura 1.4. - Evolução da produção e consumo mundial de azeitona de mesa, de 2002 a 2012. | 6 |
| Figura 1.5. - Evolução da produção e consumo de azeitona de mesa em Portugal, de 2002 a 2012. | 7 |
| Figura 1.6. - Formas de consumir a azeitona de mesa. | 8 |
| Figura 1.7 - Pirâmide da Dieta Mediterrânica. | 10 |
| Figura 1.8. - Diagrama do processo de produção de azeitona de mesa de acordo com os 3 métodos com maior expansão económica: a) Azeitona ao natural, b) Azeitona curada, c) Azeitona oxidada. | 14 |
| Figura 2.1. - Diagrama do processo de produção de azeitona de mesa Cobrançosa por fermentação natural. | 28 |
| Figura 2.2. - Representação gráfica do atributo dureza. | 31 |
| Figura 3.1. - Evolução do parâmetro L da superfície da azeitona mista e verde ao longo da fermentação. | 42 |
| Figura 3.2. - Evolução do parâmetro de cor - (a/b) na superfície da azeitona mista e verde ao longo da fermentação. | 43 |
| Figura 3.3. - Evolução da dureza (g) da azeitona mista e verde ao longo do tempo de fermentação. | 44 |
| Figura 3.4. - Evolução do valor de pH da azeitona mista e verde e da salmoura ao longo do tempo de fermentação. | 45 |
| Figura 3.5. - Evolução do valor de a_w na azeitona mista e verde e nas salmouras ao longo do tempo de fermentação. | 46 |
| Figura 3.6. - Evolução do teor de cloreto de sódio total (%) da azeitona mista e verde e das respetivas salmouras ao longo do tempo de fermentação. | 47 |
| Figura 3.7. - Evolução do teor de cloretos na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde ao longo do tempo de fermentação. | 48 |
| Figura 3.8. - Evolução da acidez livre, combinada e total (g ácido láctico/100 mL salmoura) na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde ao longo do tempo de fermentação. | 49 |

| | |
|--|----|
| Figura 3.9. - Evolução da acidez livre (% ácido láctico) na azeitona mista e verde, na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde ao longo da fermentação. | 50 |
| Figura 3.10. - Evolução da composição em açúcares redutores na salmoura com azeitona mista e verde (g glucose/L salmoura) e na azeitona (g glucose/kg azeitona) mista e verde ao longo da fermentação. | 52 |
| Figura 3.11. - Evolução da composição em compostos fenólicos na salmoura com azeitona mista e verde (g ácido gálico/L salmoura) e na azeitona mista e verde (g ácido gálico/kg azeitona) ao longo do tempo de fermentação. | 53 |
| Figura 3.12. - Evolução da composição em sódio da azeitona mista e verde (g sódio/kg azeitona) e das salmouras (g sódio/L salmoura) ao longo da fermentação. | 54 |
| Figura 3.13. - Evolução da composição em cálcio da azeitona mista e verde (g cálcio/kg azeitona) e das salmouras (g cálcio/L salmoura) ao longo da fermentação. | 55 |
| Figura 3.14. - Evolução da composição em potássio da azeitona mista e verde (g potássio/kg azeitona) e das salmouras (g potássio/L salmoura) ao longo da fermentação. | 56 |
| Figura 3.15. - Azeitona inteira mista (a) e verde (b). | 58 |
| Figura 3.16. - Carroço de azeitona mista (a) e verde (b). | 58 |
| Figura 3.17. - Corte transversal da azeitona mista (a) e verde (b). | 58 |
| Figura 3.18. - Resultados da análise sensorial da azeitona mista e verde no final da fermentação. | 67 |
| Figura 3.19. - Resultados da análise sensorial das azeitonas fermentadas e temperadas. | 68 |
| Figura 3.20. - Resultados da análise sensorial da azeitona de mesa fermentada em salmouras de diferente concentração de sais (8 % NaCl e 4 % NaCl + 4 % KCl). | 75 |
| Figura 3.21. Resultados da análise sensorial das azeitonas fermentadas com 4 % NaCl + 4 % KCl por temperar e temperadas. | 76 |

Índice de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1.1. - Classificação da azeitona de mesa quanto ao grau de maturação. | 12 |
| Tabela 1.2. - Classificação da azeitona de mesa relativamente ao processo tecnológico. | 12 |
| Tabela 1.3. - Classificação da azeitona de mesa tendo em conta a forma de apresentação. | 13 |
| Tabela 2.1. - Plano de amostragem da azeitona e salmoura ao longo da fermentação. | 29 |
| Tabela 3.1. - Parâmetros biométricos da azeitona de mesa Cobrançosa mista e verde. | 57 |
| Tabela 3.2. - Parâmetros físico-químicos da azeitona de mesa mista e verde. | 59 |
| Tabela 3.3. - Composição nutricional da azeitona de mesa mista e verde (por 100 g polpa azeitona, média \pm desvio padrão). | 62 |
| Tabela 3.4. - Parâmetros físico-químicos de azeitona de mesa mista fermentada em salmouras de diferente concentração de sais (8 % NaCl e 4 % NaCl + 4 % KCl). | 70 |
| Tabela 3.5. - Composição nutricional da azeitona de mesa mista com 8 % NaCl e mista com 4 % KCl (por 100 g polpa azeitona, média \pm desvio padrão). | 72 |

Índice geral

Pág.

| | |
|-----------------------------|-----|
| Agradecimentos..... | iii |
| Resumo..... | iv |
| Abstract..... | v |
| Lista de abreviaturas | vi |
| Índice de figuras..... | vii |
| Índice de tabelas..... | ix |
| Índice geral..... | x |

| | |
|--|----|
| 1. Introdução | 1 |
| 1.1 Enquadramento do tema e objetivos..... | 2 |
| 1.2 Revisão bibliográfica | 2 |
| 1.2.1 Características da oliveira e da azeitona, produção e consumo | 2 |
| 1.2.2 Azeitona e Dieta Mediterrânica | 8 |
| 1.2.3 Classificação e produção de azeitona de mesa..... | 11 |
| 1.2.4 Composição da azeitona de mesa e importância dos seus nutrientes na dieta e saúde..... | 17 |
| 1.2.5 Efeito da cultivar, do estado de maturação e dos processos de fermentação na composição da azeitona de mesa..... | 19 |
| 1.2.6 Utilização do sal na fermentação de azeitona | 22 |
| 2. Materiais e métodos..... | 26 |
| 2.1 Materiais | 27 |
| 2.2 Métodos | 27 |
| 2.2.1 Produção de azeitona de mesa..... | 27 |
| 2.2.2 Caracterização físico-química da azeitona e da salmoura ao longo da fermentação | 29 |
| 2.2.3 Caracterização nutricional da azeitona de mesa..... | 35 |
| 3. Resultados e discussão | 40 |
| 3.1 Perfil de fermentação de azeitona Cobrançosa retalhada | 41 |

| | |
|---|----|
| 3.2 Influência do grau de maturação nas características físico-químicas, nutricionais, sensoriais e biológicas | 57 |
| 3.3 Efeito da presença de KCl nas salmouras de fermentação sobre as características da azeitona Cobrançosa retalhada..... | 69 |
| 4. Considerações finais | 77 |
| 5. Referências Bibliográficas..... | 80 |

Introdução



1. Introdução

1.1 Enquadramento do tema e objetivos

A azeitona de mesa é um alimento com importância na dieta mediterrânica pelas suas características nutricionais, nomeadamente pela sua riqueza em gorduras monoinsaturadas as quais estão associadas à diminuição de doenças cardiovasculares. Possui uma forte relevância histórica, simbólica e económica, constituindo um ícone da agricultura nas regiões produtoras. No entanto, apesar da excelente qualidade, estudos relativos à produção e caracterização de azeitona de mesa de certas variedades e estilos, tais como a azeitona retalhada da cultivar Cobrançosa são ainda escassos.

Os objetivos deste trabalho foram estudar o processo de produção de azeitona de mesa da cultivar Cobrançosa no que diz respeito aos parâmetros físico-químicos, utilizando salmouras de fermentação de diferentes concentrações iniciais de sais, caracterizar organolética e nutricionalmente a azeitona de mesa obtida e, estudar a influência do grau de maturação nas características do produto final.

1.2 Revisão bibliográfica

1.2.1 Características da oliveira e da azeitona, produção e consumo

Características da oliveira

A oliveira (*Olea europaea* L.) pertencente à família *Oleaceae* e é a única espécie desta família que produz frutos comestíveis. Normalmente, encontra-se distribuída nas zonas costeiras da bacia do Mediterrâneo oriental, zonas costeiras adjacentes do sudeste da Europa, Ásia ocidental e norte da África, bem como norte do Irão na extremidade sul do Mar Cáspio (Kailis & Harris, 2007). A oliveira é uma cultura típica de climas mediterrâneos, que se caracterizam por invernos suaves, com temperaturas superiores a 0 °C, e por verões quentes e secos, com temperaturas superiores a 16 °C (COI, 2007). De um modo geral, o intervalo ótimo de temperaturas para o desenvolvimento da oliveira situa-se entre 10 ° e 30 °C. Se a temperatura aumentar para valores superiores a 35 °C, a oliveira fecha os estomas de modo a controlar a sua temperatura, retardando assim o seu desenvolvimento (Lopes, 2011).

A plantação de um olival implica a realização de algumas atividades tais como a preparação do terreno e a fertilização para estabilizar a nova plantação e permitir o seu desenvolvimento (DGADR, 2010). Estas atividades preliminares consistem, também, em retirar do terreno os resíduos vegetais de culturas anteriores, incluindo a remoção de raízes das árvores. É importante nivelar o terreno para constituir superfícies planas ou de ligeira inclinação. Cada parcela deve ter um tamanho superior a um hectare a fim de minimizar os espaços mortos nas operações de cultivo. A previsão da drenagem de água é uma operação importante, uma vez que demasiada água em contacto com as raízes da oliveira pode estar associada ao crescimento de fungos (COI, 2007).

Tradicionalmente, o olival era cultivado em condições de sequeiro, uma vez que é uma cultura adaptável a períodos de intensa seca mediterrânea, com produções aceitáveis. Contudo, a prática de regadio aumenta consideravelmente o rendimento do olival, mesmo que a rega seja reduzida (Ferreira, 2015). Para a produção de azeitona de mesa utiliza-se um sistema de regadio e para a produção de azeite as azeitonas são geralmente cultivadas em sistema de sequeiro. No entanto, a rega é essencial para aumentar a qualidade e a quantidade produzida (COI, 2007).

Características da azeitona

A azeitona tem a estrutura de uma drupa e é constituída por três tecidos principais: epicarpo (pele), mesocarpo (polpa) e endocarpo (caroço) (Galanakis, 2011) (Fig. 1.1). O tecido que apresenta maior dimensão é o mesocarpo, que representa cerca de 84-90 % do peso total do fruto (Galanakis, 2011; Ghanbari *et al.*, 2012) e o endocarpo, mas o seu tamanho depende da variedade ou cultivar (Hammami *et al.*, 2011).

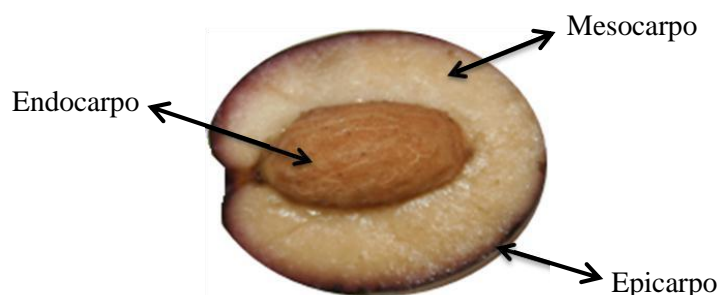


Figura 1.1. Corte transversal de uma azeitona, expondo os seus diferentes tecidos (Nogueira, 2012).

O processo de crescimento e amadurecimento da azeitona pode demorar cerca de 5 meses (Ghanbari *et al.*, 2012), sendo o tamanho dos frutos influenciado por diversos fatores, como a disponibilidade da água, a temperatura ou as diferenças genéticas entre as cultivares (Hammami *et al.*, 2011). Para a produção de azeitonas de mesa são mais adequados frutos de maior tamanho (peso unitário superior a 4 g) e com uma maior quantidade de polpa relativamente ao caroço. No entanto, a forma, a textura, a cor e o sabor do fruto são também importantes na aceitação do produto final (Ghanbari *et al.*, 2012). É pouco provável que todas as azeitonas da mesma oliveira possuam o mesmo grau de maturação, o qual depende da quantidade de fruto por árvore, do tipo de solo, da inclinação do terreno e do grau de humidade do solo. Normalmente, os frutos situados na parte exterior e superior da oliveira são mais maduros, comparativamente com as azeitonas situadas no centro da oliveira (Ferreira, 2015).

Azeitona da cultivar Cobrançosa

A oliveira da cultivar Cobrançosa, oriunda de Trás-os-Montes, adapta-se facilmente a solos pobres e a climas austeros, seja ao frio ou ao calor. Tem uma elevada capacidade de enraizamento, tanto por estaca como por estacas semi-lenhosas com rega periódica ou nebulização. A época de floração é prematura e o pólen apresenta uma alta capacidade germinativa. Esta variedade apresenta uma resistência média a pragas e doenças mais comuns tais como o olho de pavão, lepra ou mosca da azeitona. Os seus frutos conservam-se durante mais tempo mantendo as características organoléticas (A Companhia do Azeite, 2013).

A colheita da azeitona Cobrançosa decorre de setembro até dezembro e é colhida não totalmente madura, isto é, na mudança da cor verde para negro violáceo (Fig. 1.2). Tem um sabor ligeiramente amargo e picante, dependendo do grau de maturação (se a azeitona for mais madura tem um sabor doce e suave) (A Companhia do Azeite, 2013; Galanakis, 2011).



Figura 1.2. Azeitona Cobrançosa.

Produção e consumo a nível mundial

O Mediterrâneo é a principal área produtora de azeitona, sendo responsável por cerca de 98 % da produção mundial (Ghanbari *et al.*, 2012). A produção mundial de azeitona ultrapassa os 18 milhões de toneladas por ano, sendo 90 % da produção destinada à obtenção de azeite e 10 % à obtenção de azeitona de mesa (COI, 2012). A valorização da azeitona reside na importância económica e social do azeite e também na sua utilização como azeitona de mesa. Devido às suas características organoléticas e à sua composição físico-química, é muito apreciada em gastronomia como aperitivo, elemento nutricional ou até como elemento decorativo (Fernández-Díez, 1983).

A União Europeia é o principal produtor mundial (Fig. 1.3) e exportador de azeitona para regiões não produtoras, como é o caso da América do Norte. Em 2011/2012, a Espanha destacou-se como líder europeu na produção de azeitona de mesa, tendo produzido 520 600 toneladas, seguida da Grécia com uma produção de 110 000 toneladas, a Itália com 76 200 toneladas e Portugal com 9 000 toneladas (COI, 2012). De acordo com dados do COI (2012), na campanha de 2009/2014, a Espanha produziu 21 % de azeitona de mesa.

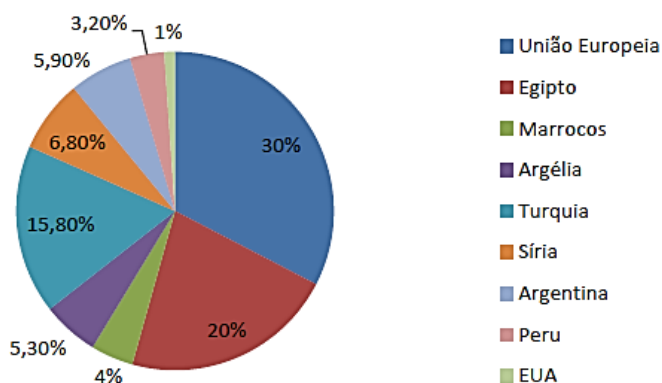


Figura 1.3. Principais países produtores de azeitona de mesa (COI, 2012).

De 2002 a 2012, verificou-se um crescimento progressivo na produção e no consumo mundial de azeitona de mesa (Fig. 1.4) (COI, 2012).

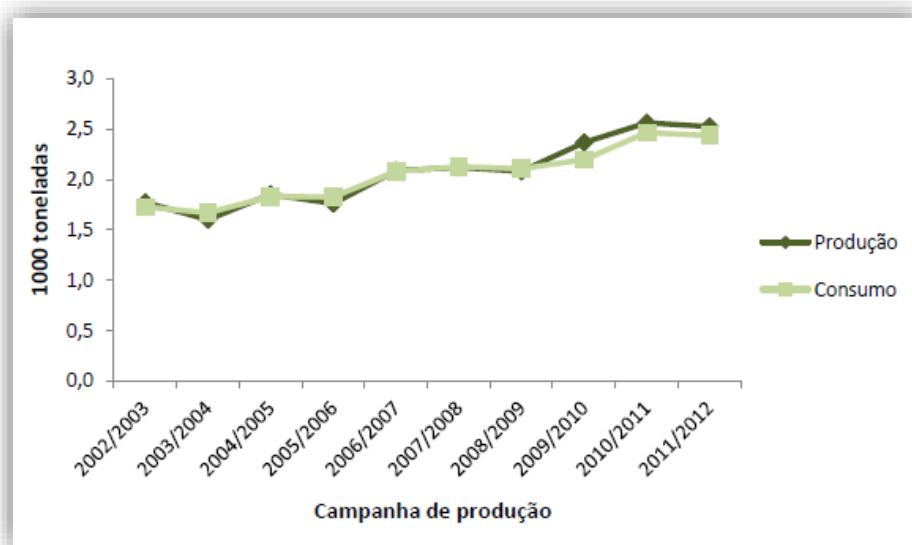


Figura 1.4. Evolução da produção e consumo mundial de azeitona de mesa, de 2002 a 2012 (COI, 2012).

Produção e consumo em Portugal

O atual património olivícola nacional constitui um dos setores determinantes na agricultura portuguesa desempenhando um papel fundamental tanto a nível económico

como a nível cultural e social. O olival está presente em cerca de 40 % das explorações e ocupa quase metade da superfície destinada a culturas permanentes (INE, 2011).

Os dados disponíveis do COI indicam que Portugal é o quarto maior produtor de azeitona de mesa da União Europeia, seguido da Espanha, Grécia e Itália. De acordo com a Figura 1.5, a produção média anual em Portugal foi em média de 12 000 toneladas de 2002 a 2012 (COI, 2012).

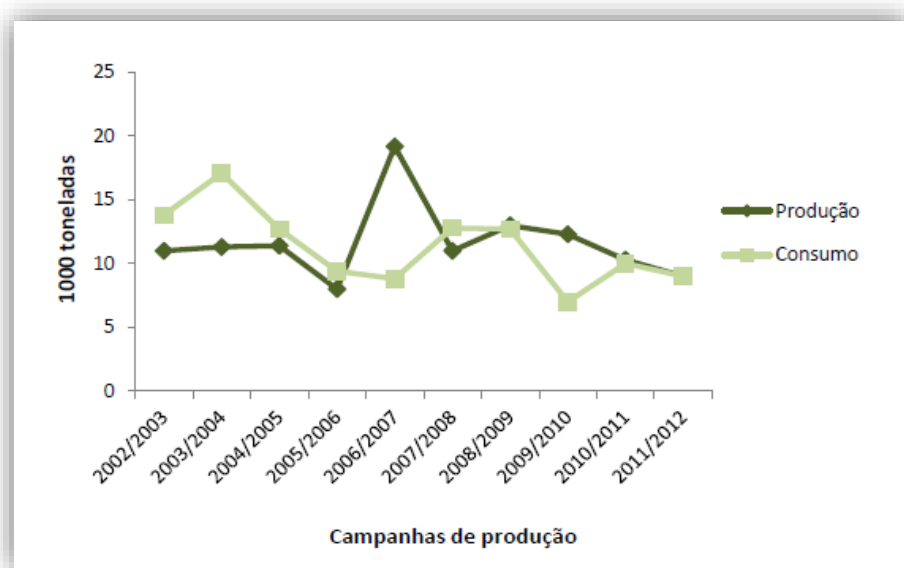


Figura 1.5. Evolução da produção e consumo de azeitona de mesa em Portugal, de 2002 a 2012 (COI, 2012).

A cultura da oliveira encontra-se distribuída por todas as regiões agrárias do continente português. As principais regiões produtoras de azeitona de mesa são o Alentejo (25 %) e Trás-os-Montes (54 %). As regiões do Ribatejo, Beira Litoral e Beira Interior posicionam-se na segunda linha do *ranking* da produção nacional (Moreira, 2013).

Apesar de todas as cultivares poderem ser utilizadas para a produção de azeitona de mesa, algumas possuem melhor aptidão, nomeadamente tamanho do fruto, sabor, forma, firmeza, relação polpa/carço e facilidade de desprendimento da polpa do respetivo caroço (Cabezas, 2011).

1.2.2 Azeitona e Dieta Mediterrânea

No mercado europeu há um crescimento cada vez mais acentuado na produção de alimentos fermentados e funcionais, refletindo-se num grande interesse no estudo de alimentos naturais que demonstrem possuir benefícios para a saúde. Estima-se que pelo menos 25 % da dieta europeia e 60 % da dieta dos países em desenvolvimento seja constituída por alimentos fermentados. Isto deve-se, essencialmente, ao reconhecimento da importância da fermentação na preservação dos alimentos, na melhoria das propriedades sensoriais do produto, bem como no contributo para o desenvolvimento de alimentos importantes para a nutrição e saúde humana (Leroy & Vuyst, 2004). Assim, a azeitona de mesa é cada vez mais consumida e apreciada em todo o mundo, sendo o produto fermentado mais comum na Dieta Mediterrânea (DM) (Nogueira, 2012).

A azeitona deve ser consumida com mais frequência pois contem gorduras insaturadas, principalmente ácido oleico, fibra alimentar, betacarotenos, vitaminas E, C e do grupo B, bem como cálcio, ferro e magnésio e, em menor proporção, tocoferóis e compostos fenólicos. A atividade antioxidante dos compostos fenólicos diminui o risco de doença cardíaca coronária, de alguns tipos de cancro e de inflamações. Foi demonstrado que as gorduras insaturadas aumentavam o colesterol HDL, também conhecido por “bom colesterol”, pelos seus efeitos protetores contra doenças cardíacas (Uylaşer & Yildiz, 2014).

A azeitona de mesa é principalmente consumida na restauração como aperitivo, mas também como tempero das refeições (saladas, pizzas, pão de azeitonas, entre outros) (Fig. 1.6).



Figura 1.6. Formas de consumir a azeitona de mesa.

A DM tradicional resulta da herança de milénios de intercâmbios de pessoas, culturas e alimentos de todos os países da bacia mediterrânica. Tem sido a base dos hábitos alimentares durante o século XX e assenta em modelos agrícolas e rurais do mediterrâneo (Bach-Faig *et al.*, 2011).

Os hábitos alimentares mediterrânicos estão relacionados com a “pobreza” típica das regiões do Sul, que ao longo do tempo levou os seus habitantes a consumirem os alimentos próprios de cada região e de acordo com o poder económico (Bach-Faig *et al.*, 2011).

O padrão alimentar da DM tem muitos benefícios em comparação com outros padrões alimentares, pois fornece a multiplicidade de macro (gorduras, hidratos de carbono e proteínas) e micronutrientes (vitaminas e minerais) que são fundamentais para a saúde humana (Guerreiro, 2012).

Esta dieta tem sido popularizada desde 1995 através da pirâmide da DM que consiste numa representação que destaca graficamente os grupos de alimentos que devem ser consumidos diariamente, semanalmente ou com menor frequência. Na comunidade científica, existe um consenso no que diz respeito à constituição da tradicional DM, mas têm surgido questões sobre a necessidade de atualizar algumas recomendações decorrentes dos novos estilos de vida e de novos desafios dietéticos, socioculturais, ambientais e de saúde que as novas gerações estão a confrontar (Bach-Faig *et al.*, 2011).

O *design* final da pirâmide da DM (Fig. 1.7) foi desenvolvido pelo Comité Científico Internacional da Fundação da Dieta Mediterrânica com base no modelo alimentar de Creta mas reúne algumas variantes da dieta tradicional de outros países do Mediterrâneo, nomeadamente Espanha, Portugal, Grécia, Marrocos, Tunísia, Turquia, Síria, Sul de França e Sul de Itália (Bach-Faig *et al.*, 2011).

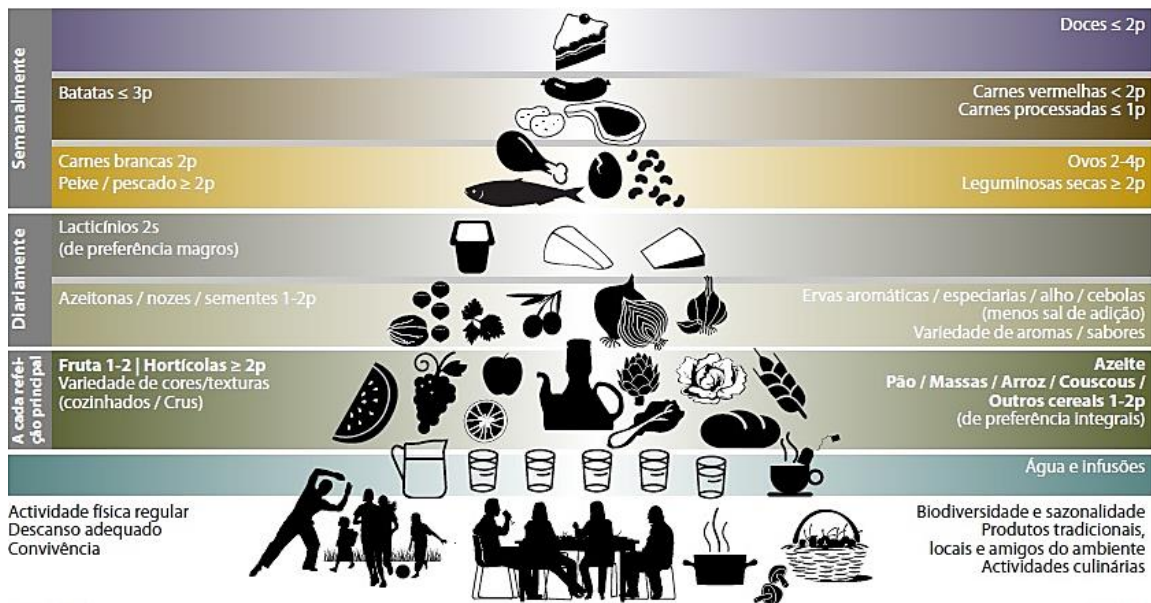


Figura 1.7. Pirâmide da Dieta Mediterrânica (Bach-Faig *et al.*, 2011).

A representação gráfica da pirâmide segue o padrão seguinte: na base estão alimentos que devem sustentar a dieta e que fornecem uma maior quantidade de energia (frutas, vegetais, hidratos de carbono, azeitonas, azeite, sementes, especiarias, entre outros) e na parte superior encontram-se alimentos de origem animal e/ou ricos em açúcares e gorduras que devem ser consumidos com moderação e alguns deles apenas em ocasiões especiais (Bach-Faig *et al.*, 2011).

A realização diária de exercício físico é necessária para conservar uma boa saúde, sendo por este motivo a base da pirâmide. A água e infusões estão também na base da pirâmide pois são essenciais na manutenção do equilíbrio corporal. Os cereais, as frutas, os vegetais e o azeite fornecem nutrientes essenciais (vitaminas, fibras, antioxidantes e substâncias protetoras) que contribuem para o bem-estar geral, saciedade e a manutenção de uma dieta saudável, pelo que devem ser consumidos em elevadas quantidades e frequentemente (Bach-Faig *et al.*, 2011). No centro da pirâmide, encontram-se as azeitonas, sementes, nozes, cebolas, alhos, ervas aromáticas e especiarias, que devem ser consumidas diariamente. Por fim, o vértice da pirâmide é representado pela carne, lacticínios, alimentos ricos em hidratos de carbono e doces, que devem ser consumidos com menos frequência e alguns apenas ocasionalmente (Siniorakis *et al.*, 2012).

A composição única do azeite confere-lhe uma alta resistência a elevadas temperaturas e é recomendado para cozinhar e/ou consumir cru. O azeite tem excelente qualidade nutricional, sensorial e funcional. É uma fonte de gordura monoinsaturada utilizado em detrimento de gorduras animais saturadas, como a margarina e manteiga, sendo também rico em antioxidantes. Representa uma fonte lipídica típica da DM, cujo consumo tem sido associado à baixa incidência de doenças cardiovasculares, neurológicas, câncros da mama e do cólon, diabetes e hipertensão (Matos *et al.*, 2007; Chiva-Blanch *et al.*, 2014).

A azeitona de mesa, tal como o azeite, é também um componente essencial da DM devendo ser consumida com regularidade. Possui todos os benefícios do azeite, mas também contém outros componentes importantes (fibras, ácido maslínico, entre outros) com atividades biológicas comprovadas, o que tem levado alguns autores a classificarem a azeitona de mesa como alimento funcional. O facto de os microrganismos associados com a sua epiderme poderem ter propriedades benéficas à saúde, tornam as azeitonas uma fonte de microrganismos probióticos para os consumidores (Arroyo-López *et al.*, 2015).

1.2.3 Classificação e produção de azeitona de mesa

Definição de “azeitona de mesa”

Entende-se por “Azeitona de mesa” o produto preparado a partir de frutos são de variedades da espécie *Olea europaea* L., escolhidos de acordo as suas características físico-químicas e que os tornam adequados para o processamento de azeitonas de mesa, processados para remover o seu amargor, conservados por meios que assegurem a sua estabilidade e evitem a sua deterioração em condições normais de armazenamento, com ou sem adição de conservantes e embalados, com ou sem um meio líquido (Codex Alimentarius, 2010).

Classificação da azeitona de mesa

A azeitona de mesa pode ser classificada de acordo com o grau de maturação, o processamento tecnológico e a forma de apresentação.

O Conselho Oleícola Internacional (COI, 2004), entidade que regula o sector dos azeites e da azeitona de mesa a nível internacional, considera três tipos de azeitona de mesa, consoante o seu grau de maturação (Tabela 1.1).

Tabela 1.1. Classificação da azeitona de mesa quanto ao grau de maturação (COI, 2004).

| Tipo de azeitona | Classificação |
|-------------------------|---|
| Verde | Colhida durante o período de amadurecimento (no início do Outono) e que tenha atingido o tamanho normal. A cor do fruto pode variar de verde a amarelo-palha. |
| Mista | Obtida a partir de frutos colhidos antes de atingirem a completa maturação, com uma cor variável entre tons rosados e acastanhados. |
| Preta | Colhida completamente madura ou ligeiramente antes. A cor do fruto pode variar de avermelhado-escuro a castanho - escuro, passando por tons violáceos. |

Tendo em conta os diferentes processos tecnológicos, a azeitona pode ter diferentes designações, entre as quais: azeitona curada em salmoura, azeitona ao natural em salmoura, azeitona escurecida por oxidação e azeitona desidratada e/ou enrugada (Tabela 1.2).

Tabela 1.2. Classificação da azeitona de mesa relativamente ao processo tecnológico (COI, 2004).

| Tipo de azeitona | Classificação |
|---|---|
| Azeitona curada em salmoura | É submetida a um tratamento alcalino, embalada em salmoura, onde ocorre fermentação parcial ou completa, e conservada ou não por agentes acidificantes. |
| Azeitona ao natural em salmoura | Diretamente colocada em salmoura, onde ocorre fermentação parcial ou completa, e conservada ou não por agentes acidificantes. |
| Azeitona escurecida por oxidação | Obtida a partir de frutos que não atingiram a maturação completa e escurecida mediante oxidação após o tratamento alcalino. Deve ser acondicionada em salmoura e preservada por esterilização. A sua cor preta é homogénea. |
| Azeitona desidratada e/ou enrugada | É submetida ou não a um tratamento alcalino, conservada em salmoura ou parcialmente desidratada em sal seco e/ou por aquecimento ou por qualquer outro processo tecnológico. |

Ainda de acordo com o Conselho Oleícola Internacional (COI, 2004), a azeitona de mesa pode ainda ser classificada quanto à sua forma de apresentação (Tabela 1.3).

Tabela 1.3. Classificação da azeitona de mesa tendo em conta a forma de apresentação (COI, 2004).

| Tipo de azeitona | | Classificação | |
|-------------------------|---|----------------------|--|
| Inteira | Forma natural, não descaroçada, com ou sem pedúnculos | Britada | Processo mecânico em que a polpa é aberta sem quebrar o caroço |
| | | Retalhada | Inteira que sofre um corte longitudinal da pele e de parte da polpa. |
| Descaroçada | Com forma natural, à qual foi retirado o caroço | Em quartos | Cortada em quatro partes aproximadamente iguais |
| | | Em fatias | Dividida em mais de quatro partes aproximadamente iguais |
| | | Picada | Desprovida de forma definida ou de fragmentos de fatia |
| | | Quebrada | Partida enquanto é descaroçada, pode ser recheada |
| | | Dividida | Cortada em duas partes aproximadamente iguais, pode ser recheada |
| Recheada | Descaroçada e recheada com diversos produtos, tais como: pimento, cebola, avelã, amêndoas, salsa, anchova, laranja, casca de limão, azeitona ou com pasta de azeitona | | |
| Pasta | Obtida exclusivamente a partir da polpa de azeitona triturada, podendo ser adicionados outros ingredientes | | |

Estilos de azeitona de mesa

O processamento da azeitona tem como principal objetivo a remoção do amargor do fruto, especialmente a oleuropeína, e aquisição de sabores, aromas e textura específicos e diferentes de produtos fermentados noutras regiões (Campaniello *et al.*, 2005). Os métodos de processamento de azeitonas de mesa mais utilizados e com maior expressão económica são o método de produção de azeitonas ao natural (Ex.: Azeitonas ao estilo Grego), o método de produção de azeitonas curadas (Ex.: Azeitonas ao estilo

Espanhol ou Sevilhano) e o método de produção de azeitonas pretas oxidadas (Ex.: Azeitonas ao estilo Californiano) (Fig. 1.8) (Bautista-Gallego *et al.*, 2011; Ghanbari *et al.*, 2012). A cultivar, o estado de maturação do fruto, a tecnologia de transformação e os aspetos culturais são fatores importantes na escolha do método de processamento (Saúde, 2014).

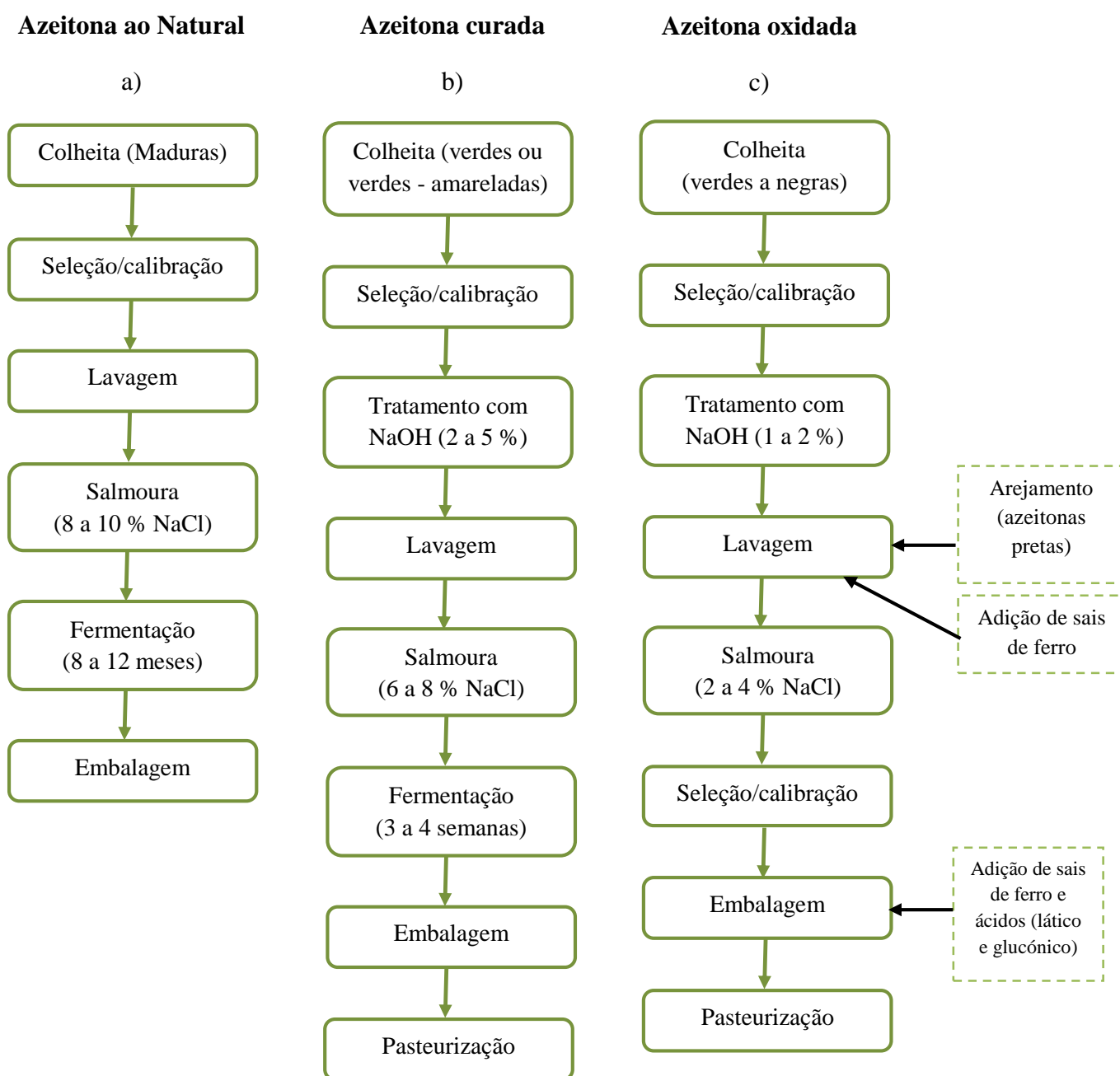


Figura 1.8. Diagrama do processo de produção de azeitona de mesa de acordo com os 3 métodos com maior expressão econômica: a) Azeitona ao natural, b) Azeitona curada, c) Azeitona oxidada (Saúde, 2014; Rodrigues, 2011; Alves, 2010).

Além dos 3 tipos de azeitona de mesa mais conhecidas (gregas, espanholas e californianas), existem outros processos característicos de determinadas regiões, embora com menor expressão económica. Em Portugal, a azeitona de mesa galega é produzida por fermentação natural sendo a mais característica do país. No sul do país, uma das azeitonas mais comercializadas é a azeitona britada da cultivar Maçanilha Algarvia (Saúde, 2014).

Produção de azeitona Cobrançosa retalhada por fermentação natural

Na fermentação natural, a azeitona sofre uma fermentação “espontânea” realizada pela microbiota autóctone, em que as bactérias e leveduras têm um papel determinante (Alves *et al.*, 2012).

Numa fermentação bem-sucedida, a microbiota final é apenas constituída por leveduras e bactérias lácticas, que continuam a consumir a matéria fermentável até ao seu esgotamento, o qual indicará o fim da fermentação. Segundo o Trade Standard Applying to Table Olives, no final da fermentação, a salmoura da azeitona de mesa natural deve ter um $\text{pH} \leq 4,3$ e uma acidez livre superior a 0,3 % (expresso em ácido láctico) (COI, 2004). As azeitonas podem ainda manter um ligeiro sabor amargo, devido essencialmente à presença de oleuropeína. Para remover o amargor característico é necessário haver solubilização da oleuropeína na salmoura, atingindo-se um equilíbrio após 8 - 12 meses (Borges, 2013). A maioria dos consumidores apreciam mais a azeitona produzida por fermentação natural, por ser um “produto natural” de alto valor funcional e devido às suas características organoléticas. O seu sabor é muito diferente das azeitonas tratadas com NaOH, principalmente devido ao sabor amargo residual que se mantém depois de um longo período em salmoura (Saúde, 2014).

O início da fermentação da azeitona Cobrançosa é caracterizado por uma descida do pH e a produção de acidez livre. Esta descida de pH ocorre devido à produção de ácidos. Após esta fase, a acidez livre aumenta significativamente e o pH continua a descer.

Os valores finais de pH e acidez dependem da variedade da azeitona, do adoçamento e do número e duração das lavagens (Ferreira, 2015).

Alterações físico-químicas na fermentação

Durante a fermentação de azeitona, ocorrem importantes alterações físico-químicas. Os compostos solúveis em água tais como hidratos de carbono e compostos fenólicos (principalmente oleuropeína e glucósido hidroxitirosol) difundem-se da azeitona para a salmoura, enquanto o sal se difunde para as azeitonas, até ser atingido um estado de equilíbrio. Os substratos fermentescíveis (glucose, frutose, manitol, sacarose, entre outros) são a principal fonte de energia dos microrganismos fermentativos, que leva à produção de ácidos orgânicos (nomeadamente ácido láctico), essenciais para a estabilidade e preservação das azeitonas de mesa durante a fermentação e armazenamento. Estes ácidos, em equilíbrio com os seus sais, atuam como um tampão estabilizando o pH da salmoura. Esta capacidade tamponizante pode não ser desejável na medida em que não permite que durante a fermentação se obtenha o pH ótimo (Marsílio *et al.*, 2008; Kiai & Hafidi, 2014). Inicialmente, ocorre diminuição do pH devido à transformação dos açúcares durante a fermentação (principalmente glucose, frutose e sucrose) em ácidos orgânicos. Os compostos fenólicos também sofrem transformações quantitativas e qualitativas durante o processamento da azeitona, principalmente, a hidrólise alcalina e/ou a degradação microbiana da oleuropeína durante os processos de salga e remoção do amargor (Kiai & Hafidi, 2014).

Os parâmetros que mais influenciam o processo de fermentação são a temperatura e o sal. Ambos podem ser decisivos no controlo de aspetos da fermentação tais como, a quantidade das populações microbianas, a seleção das espécies microbianas envolvidas e a qualidade dos produtos finais.

A temperatura do processo, além de ter um efeito direto na taxa de crescimento dos microrganismos, afeta também a taxa de difusão dos solutos. Desta forma, o aumento da temperatura favorece a difusão dos nutrientes para a salmoura especialmente no período inicial do processo. Relativamente ao sal, o aumento da sua concentração nas salmouras leva a uma diminuição da população de microrganismos (Tassou *et al.*, 2002).

1.2.4 Composição da azeitona de mesa e importância dos seus nutrientes na dieta e saúde

A qualidade da azeitona de mesa, enquanto produto final, está relacionada com a sua composição química, nutricional e propriedades físicas. A sua composição depende de diversos fatores, tais como: cultivar, aspetos agronómicos, condições climáticas, regime de irrigação, estado de desenvolvimento e maturação do fruto na altura da colheita e método de processamento (Ghanbari *et al.*, 2012).

A polpa da azeitona de mesa é maioritariamente constituída por água (70 a 75 %), uma fração lipídica que varia entre 14 a 15 % e açúcares (2 - 5 %). Os açúcares principais da azeitona são a glucose (1 a 3 % do peso da polpa) e a frutose (0,1 a 1,1 %) (Almeida, 2013; Conde *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 1997). A azeitona apresenta um teor baixo em proteínas (3 %), sendo o restante constituído por fibra e minerais. O conteúdo em hidratos de carbono inclui ainda polissacarídeos e substâncias pécicas, determinantes na qualidade textural da polpa da azeitona (Almeida, 2013; Conde *et al.*, 2008). Também contem uma grande variedade de compostos fenólicos, representando cerca de 2,0 - 2,5 % da polpa da azeitona (Rodríguez *et al.*, 2009; Nogueira, 2012).

A fração lipídica da azeitona de mesa apresenta uma composição similar à do azeite, predominando os ácidos gordos monoinsaturados, em que o ácido oleico (C18:1) é o principal componente (55 - 75 % do total de ácidos gordos). O teor em ácidos gordos saturados é inferior a 15 % do total de lípidos (Matos *et al.*, 2007). O ácido oleico favorece o aumento “bom colesterol” e a redução do “mau colesterol”, prevenindo assim doenças cardiovasculares que são as principais causas de mortalidade em países industrializados (Ghanbari *et al.*, 2012). A ingestão dos ácidos gordos polinsaturados é necessária através da dieta, uma vez que não podem ser sintetizados pelo corpo humano (Viola & Viola, 2009).

Os açúcares fornecem energia para mudanças metabólicas que ocorrem na fruta e estão relacionados com a textura da azeitona. Além disso, são precursores para a biossíntese de ácidos gordos e agem como fontes de carbono para os microrganismos durante a produção da azeitona de mesa (Aktas *et al.*, 2014).

No geral, as fibras, que constituem aproximadamente 5 g/100 g de azeitona fresca, regularizam o funcionamento intestinal, o que as tornam relevantes para o bem-estar das pessoas saudáveis e para o tratamento dietético de várias patologias. As fibras são também responsáveis pela redução do colesterol plasmático e podem diminuir a incidência de várias doenças como complicações cardiovasculares, diabetes e cancro

(mama e próstata) (Mattos & Martins, 2000; López-López *et al.*, 2007; Ferrís-Tortajada *et al.*, 2012).

As azeitonas contêm uma grande variedade de compostos fenólicos, com um papel importante nas propriedades químicas, organolépticas e nutricionais das azeitonas de mesa (Sousa, 2008). Os compostos fenólicos possuem muitas atividades como: anti-inflamatória, anti-viral e agentes anti-cancerígenos (Machado *et al.*, 2013). Também possuem atividade antioxidante, por isso quando são consumidos através dos alimentos têm efeitos benéficos para a saúde (Kailis & Harris, 2007). A azeitona é assim reconhecida como “alimento funcional” devido à sua natural composição em antioxidantes fenólicos (Othman *et al.*, 2009). Os compostos fenólicos em azeitonas incluem oleuropeína, hidroxitirosol, ácido cafeico e tirosol, sendo o primeiro o mais abundante (Kailis & Harris, 2007). Estes compostos fenólicos desempenham um papel importante na fermentação devido às suas propriedades antimicrobianas, especialmente contra bactérias lácticas e no desenvolvimento da cor do fruto durante a maturação (Nout & Rombouts, 2000).

As azeitonas de mesa apresentam na sua composição importantes micronutrientes, como é o caso dos tocoferóis e dos compostos fenólicos, que lhes conferem propriedades antioxidantes (Malheiro, 2010). A atividade antioxidante dos compostos fenólicos da azeitona deve-se principalmente à presença de um radical 3,4-di-hidroxi ligado a um anel aromático, e verificou-se que o efeito dependia da polaridade do composto fenólico. A qualidade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redox, que lhes permitem agir como agentes redutores, doadores de hidrogénio e supressores de oxigénio (Uyulaçer & Yildiz, 2014).

Nutricionalmente, as azeitonas de mesa são também uma boa fonte de minerais. As azeitonas frescas contêm quantidades razoáveis de potássio, fósforo, cálcio, azoto, magnésio, sódio, cobre, boro, manganês, enxofre e ferro. Uma dieta pobre em sódio, rica em potássio e cálcio é recomendada para ter uma pressão arterial mais baixa (Leiba *et al.*, 2005). Além disso, o cálcio tem um efeito protetor contra a osteoporose e o cancro do cólon (Berner *et al.*, 1990).

1.2.5 Efeito da cultivar, do estado de maturação e dos processos de fermentação na composição da azeitona de mesa

Como já foi referido anteriormente, a composição físico-química da azeitona de mesa depende da variedade, do estado de maturação na altura da colheita e do método de processamento utilizado (Ghanbari *et al.*, 2012).

Cultivar

Há alguns fatores que podem afetar as características físico-químicas das azeitonas pertencentes a diferentes cultivares, tais como, o local de plantação, a idade da oliveira, as características edafoclimáticas, o ataque de pragas, os métodos de poda utilizados, o processo de colheita (mecânico ou manual) e o estado de maturação do fruto (Mendes, 2012). A composição em ácidos gordos é afetada pelos seguintes parâmetros: a área de produção, a latitude, o clima, a variedade, e a fase de maturação do fruto. Por exemplo, variedades de azeite da Grécia, Itália e Espanha possuem baixas quantidades em ácidos linoleico e palmítico e têm uma elevada percentagem de ácido oleico, enquanto o azeite da Tunísia é rico em ácidos linoleico e palmítico e pobre em ácido oleico (Ghanbari *et al.*, 2012).

As variações nos níveis de minerais (potássio, fósforo, cálcio, azoto, magnésio, sódio, cobre, boro, manganês, enxofre e ferro) dependem das condições de crescimento, como a qualidade do solo, nível de aplicação da água, e os valores e composição dos adubos e fertilizantes utilizados (Kailis & Harris, 2007).

Assim sendo, os frutos pertencentes a diferentes cultivares, apresentam diferenças consideráveis na sua composição físico-química, o que leva a que alguns produtores de azeitonas tenham o conhecimento de quais as cultivares que são mais adequadas para a produção de azeitonas de mesa (Vinha *et al.*, 2005).

Estado de maturação na altura da colheita

Durante o desenvolvimento da azeitona ocorrem alterações físico-químicas, que são fundamentais para a produção de azeitona de mesa. Este desenvolvimento do fruto é uma combinação de reações bioquímicas e fisiológicas que dependem das condições do

ambiente e das características genéticas da cultivar (Conde *et al.*, 2008; Malheiro, 2010).

A colheita da azeitona tem de ser realizada quando esta está em perfeito equilíbrio nutricional e quando apresenta uma maior concentração de compostos fenólicos totais, que se alteram drasticamente à medida que o estado de maturação progride (Conde *et al.*, 2008).

O teor de humidade diminui durante a maturação com algumas flutuações, atribuídas às condições climáticas sazonais (Menz & Vriesekoop, 2010). O conteúdo em compostos fenólicos também diminui ao longo da maturação da azeitona apesar de serem continuamente sintetizados. No final da maturação é que tendem a aumentar ligeiramente, o que coincide com o escurecimento dos frutos, que está relacionado com o desenvolvimento de antocianinas (Boskou *et al.*, 2006; Menz & Vriesekoop, 2010). Cultivares de maturação tardia podem ser responsáveis pela presença da oleuropeína na azeitona no momento da colheita e conseqüentemente estar prevista a sua presença nas azeitonas de mesa, no momento do consumo (Malheiro, 2011). Ben Othman *et al.* (2009) verificaram que as azeitonas verdes revelaram um maior conteúdo em compostos fenólicos totais, seguido das azeitonas mistas e depois as azeitonas pretas. Assim, o teor em compostos fenólicos totais depende do estado de maturação, ou seja, estes compostos diminuem com o desenvolvimento da azeitona (Mendes, 2012).

Os açúcares redutores tendem a diminuir com o avançar da maturação mas, são sintetizados até à fase em que a azeitona se apresenta escura. Quando a azeitona está no fim da maturação, os açúcares diminuem para aproximadamente $\frac{1}{4}$ devido ao aumento do tamanho da azeitona que leva a produzir menos açúcar (Menz & Vriesekoop, 2010).

Contrariamente aos compostos anteriores, a quantidade de lípidos aumenta ao longo do processo de maturação da azeitona.

Processamento tecnológico

O processamento tecnológico da azeitona, nomeadamente o tratamento alcalino e a fermentação, provoca alterações físico-químicas na azeitona de mesa, afetando a sua composição em lípidos, compostos fenólicos, açúcares e minerais (Sousa, 2008).

Os açúcares redutores diminuem ao longo do processo de fermentação pois ocorre a sua difusão através da película da azeitona para o meio (Gómez *et al.*, 2006).

Uma vez na salmoura, os açúcares são utilizados pelos microrganismos envolvidos na fermentação como fonte de energia (Almeida, 2013; Kailis & Harris, 2007). Devido à transformação dos açúcares em ácidos orgânicos, ocorre a diminuição do pH durante a fermentação (Cabezas, 2011). Também se verifica uma ligeira redução no teor de proteínas, fibras e no valor energético. Como os açúcares presentes na azeitona são quase extraídos por completo como fonte de energia para as leveduras e bactérias, aliado ao aumento do teor em água, a densidade energética do produto processado diminui ligeiramente em relação à matéria-prima (Malheiro, 2010).

O tipo de processamento aplicado à azeitona não influencia muito o teor em lípidos, devido à sua insolubilidade em soluções aquosas e devido à resistência à oxidação dos ácidos gordos monoinsaturados. Ünal & Nergiz (2003) observaram apenas ligeiras oscilações na quantidade dos ácidos gordos em azeitonas curadas (estilo Espanhol) e naturais (estilo Grego), em que nas azeitonas gregas houve uma diminuição do ácido esteárico e nas processadas de acordo com o estilo Espanhol, um aumento. A solidificação de alguns triglicéridos ricos em ácidos gordos saturados (de menor ponto de fusão) poderá estar na base destas pequenas perdas, contribuindo para um aumento percentual da fração polinsaturada por 100 g de gordura (Malheiro, 2010).

Durante a fermentação da azeitona, também ocorre a perda parcial dos compostos fenólicos, principalmente por hidrólise alcalina. As lavagens com água também provocam uma perda destes compostos. Deste modo, a concentração e o tipo de compostos fenólicos presentes na azeitona tratada e fermentada difere substancialmente daqueles presentes nos frutos frescos (Malheiro, 2010). A presença do amargor deve-se maioritariamente à presença de oleuropeína, composto que é reduzido e/ou eliminado após a fermentação (Mendes, 2012). Isto deve-se maioritariamente à difusão dos compostos fenólicos para a salmoura (Malheiro, 2011). Romero *et al.* (2004) demonstraram que as azeitonas processadas por fermentação natural (estilo Grego) apresentam uma maior quantidade de compostos fenólicos do que as azeitonas processadas pelo estilo Californiano.

Relativamente ao potencial antioxidante da azeitona de mesa, este também pode ser influenciado pelos diferentes processos tecnológicos aplicados à azeitona, sendo um dos fatores mais importantes a perda de compostos fenólicos descrita anteriormente. A azeitona de mesa com maior conteúdo em compostos fenólicos, processada por fermentação natural, também apresenta uma maior capacidade antioxidante (Malheiro, 2010). Quanto às azeitonas processadas pelo estilo Californiano e Espanhol, estas

apresentam na sua composição um menor teor em compostos fenólicos logo, uma menor capacidade antioxidante (Pereira *et al.*, 2006).

Alguns minerais, especialmente o potássio, são perdidos quando são utilizados métodos de imersão durante o processamento da azeitona pois difundem-se da azeitona para a salmoura, onde podem ser utilizados por microrganismos fermentativos. Quanto ao sódio, verifica-se um aumento devido à sua difusão da salmoura para a azeitona (Kailis & Harris, 2007).

1.2.6 Utilização do Sal na fermentação de azeitona

Desde há muito tempo que o sal tem sido utilizado como conservante de produtos alimentares e como agente aromatizante para melhorar as propriedades organolépticas dos alimentos (Panagou *et al.*, 2011).

Importância do NaCl na fermentação e implicações da sua concentração na salmoura sobre a composição da azeitona

A preparação de vegetais fermentados assenta particularmente na utilização de sal comum, como principal constituinte da salmoura, pois reduz a atividade da água no alimento que retarda ou interrompe a atividade microbiológica, aumenta a força iónica da solução, reduz o pH, contribui para a difusão de componentes solúveis e reduz a solubilidade do oxigénio na água assegurando assim a segurança do produto final durante o armazenamento (Panagou *et al.*, 2011; Bautista-Gallego *et al.*, 2011).

O estado de maturação e a concentração inicial de NaCl na salmoura é importante pois controla os valores de pH na fermentação. Por exemplo, a azeitona mais madura colocada numa salmoura pobre em NaCl (2 %) leva a uma rápida diminuição do pH da salmoura, mas com 9 % NaCl o pH da salmoura é semelhante ao da salmoura com azeitona menos madura (Borcakli *et al.*, 1993).

De uma maneira geral, o processamento aplicado à azeitona para a tornar edível, bem como a salmoura, fazem aumentar os teores em humidade, cinzas e NaCl da azeitona (Ünal & Nergiz, 2003; Malheiro, 2010). O aumento da quantidade de água está relacionado com as lavagens sucessivas dos frutos e imersões tanto em soluções alcalinas como salinas de modo a permitir uma correta eliminação do amargor e fermentação dos frutos, respetivamente (Malheiro, 2010). Uma elevada concentração de

sal produz mudanças no metabolismo celular devido ao seu efeito osmótico, que influencia os microrganismos em concentrações diferentes, mas pode reduzir o valor nutricional de alimentos conservados, pois componentes solúveis em água como as vitaminas e os minerais podem ser eliminados. O sal em elevadas concentrações também provoca a desidratação das proteínas devido à competição entre solutos e proteínas para a água disponível. Este é também responsável pela textura, cor, sabor e aroma pois está envolvido no desenvolvimento ou inibição de algumas reações enzimáticas de alimentos (Albarracín *et al.*, 2011).

Riscos associados ao elevado consumo de NaCl

Existe uma preocupação crescente com a saúde pública devido às elevadas quantidades de sal ingeridas diariamente (Dötsch *et al.*, 2009). O consumo habitual de alimentos com muito sal pode ser responsável por doenças como hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, osteoporose, cataratas, pedras nos rins e diabetes (Panagou *et al.*, 2011; Dötsch *et al.*, 2009). A hipertensão arterial é um fator de risco para a isquemia cardíaca, acidente vascular cerebral e doença renal, que são as principais causas de mortalidade na Europa (EFSA, 2005). Por este motivo, a Organização Mundial de Saúde (OMS) sugere que a ingestão de sal não deve ultrapassar 5 gramas por pessoa por dia. Na dieta Europeia e Norte-americana, 75 % da ingestão de sódio tem origem em alimentos processados (azeitona de mesa, pão, cereais, carne processada, alimentos fumados, entre outros) ou de alimentos de restaurantes e 10-12 % ocorrem naturalmente nos alimentos e aproximadamente 13 % vem da adição de sal nas refeições em casa (Brown *et al.*, 2009; Panagou *et al.*, 2011). A maioria da população mundial consome sal acima da dose diária recomendada (> 6 g por dia) e nos continentes Europeu e Asiático, o consumo de muitos adultos ultrapassa 12 g por dia (Strazzullo *et al.*, 2009). Em Portugal, o consumo de sal é o dobro do recomendado pela OMS, sendo um dos países da Europa que apresenta a maior taxa de mortalidade provocada por acidente vascular cerebral (Graça, 2013).

Assim, pequenas mudanças na alimentação, como evitar alimentos com muito sal e não adicionar sal nas refeições, reduz a ingestão de sal para 3 a 4,5 g por dia (Asaria *et al.*, 2007). Uma boa regulação dos níveis de sódio no plasma sanguíneo e líquidos intersticiais é fundamental para as funções fisiológicas básicas de praticamente

todas as células do nosso corpo, bem como para a função renal, cardíaca e para reduzir a hipertensão arterial (Dötsch *et al.*, 2009).

Alternativas à utilização do NaCl

Os efeitos negativos da ingestão de NaCl em elevadas concentrações podem ser ultrapassados substituindo-o, parcialmente, por outros sais de cloreto com efeito mais favorável para a saúde humana, tais como o cloreto de potássio (KCl), cloreto de cálcio (CaCl₂) e cloreto de magnésio (MgCl₂). Isto é especialmente importante na preparação de azeitona pelo método Grego, que tem sido tradicionalmente processada em elevadas concentrações de sal que variam de 8 a 14 % ou mesmo superior dependendo dos métodos de processamento de cada local (Panagou *et al.*, 2011).

Os sais KCl e CaCl₂ são de sabor amargo e salgado e podem ser misturados com cloreto de sódio para melhorar o sabor dos alimentos. Estes sais, considerados aditivos alimentares, são permitidos na União Europeia (E508 – cloreto de potássio; E 509 – cloreto de cálcio) (Regulamento (UE) n.º 1129/2011) e são normalmente utilizados como substitutos de cloreto de sódio, suplementos dietéticos, reguladores de acidez e agente de firmeza (apenas o cloreto de cálcio) (Portaria n.º 646/1993). Em termos de saúde, a substituição do NaCl por KCl é benéfica uma vez que uma dieta rica em potássio reduz a hipertensão arterial (Dötsch *et al.*, 2009).

O efeito dos sais de cloreto no perfil de fermentação e atributos físicos de azeitona de mesa verde foi recentemente estudado por cientistas espanhóis que relataram a substituição de NaCl por diferentes proporções de KCl e CaCl₂ (Bautista-Gallego *et al.*, 2010; Bautista-Gallego *et al.*, 2011). Segundo Bautista-Gallego *et al.* (2011) a presença de CaCl₂ no meio fermentativo provoca uma diminuição no pH inicial e após fermentação (em equilíbrio com frutos alcalinos tratados) e retarda a difusão de açúcares redutores. Segundo Panagou *et al.* (2011), a combinação de sais de cloreto de sódio e de potássio (4 % NaCl com 4 % KCl) pode produzir azeitonas com baixo teor de sódio e boas propriedades organoléticas.

Uma dieta pobre em sódio e rica em potássio e cálcio tem sido recomendada para diminuir a pressão arterial, e proteger contra doenças como osteoporose e cancro do cólon. A adição de CaCl₂ e KCl na salmoura de fermentação produz uma azeitona com boas características organoléticas e um baixo teor de sal (Bautista-Gallego *et al.*, 2011).

Saúde (2014) estudou o efeito da substituição parcial de NaCl por KCl e CaCl₂ na fermentação de azeitona britada da cultivar Maçanilha e os resultados indicaram que não há diferenças organolépticas entre a azeitona fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl e em 8 % NaCl, bem como apresentavam uma composição nutricional semelhante, com exceção de um menor teor de sódio, tendo concluído que a substituição parcial do sódio por potássio na salmoura de fermentação conduziu a uma redução efetiva da quantidade de sódio (21 %) na azeitona de mesa produzida.

Materiais e Métodos



2. Materiais e Métodos

2.1 Materiais

A Azeitona Cobrançosa retalhada foi fornecida pela empresa Hélder Madeira - Indústria e Comércio de Azeitonas, Unipessoal Lda. de Tavira.

Para a preparação das salmouras foram utilizados os seguintes minerais: NaCl e KCl.

Os reagentes utilizados nas análises físico-químicas e nutricionais realizadas à azeitona e salmoura foram obtidos de várias fontes comerciais.

2.2 Métodos

2.2.1 Produção de azeitona de mesa

A azeitona Cobrançosa utilizada neste estudo foi colhida em novembro de 2013, na região do Alentejo. A azeitona foi submetida a processos de separação, limpeza e lavagem na empresa Hélder Madeira em Tavira. Posteriormente, foi retalhada, lavada e imersa em salmoura (2 % sal) e transportada para o Laboratório de Processamento de Alimentos do Instituto Superior de Engenharia da Universidade do Algarve.

A azeitona Cobrançosa apresentava graus de maturação diferentes, tendo sido separada em 2 frações: azeitona mista e azeitona verde. Após a preparação das salmouras, de 8 % NaCl e de 4 % NaCl + 4 % KCl, a azeitona mista foi imersa na proporção azeitona/salmoura de 1,5/1,0 (m/v). A azeitona verde foi imersa apenas na salmoura de 8 % NaCl, na mesma proporção. Foram realizados ensaios em duplicado. A fermentação decorreu durante 225 dias, à temperatura de 18,8 °C.

Uma vez a fermentação concluída, as azeitonas mistas e verdes foram colocadas numa salmoura com 2 % NaCl e foram temperadas com alho, limão e orégãos.

Na Figura 2.1 está representado o diagrama do processo de produção da azeitona de mesa Cobrançosa por fermentação natural.

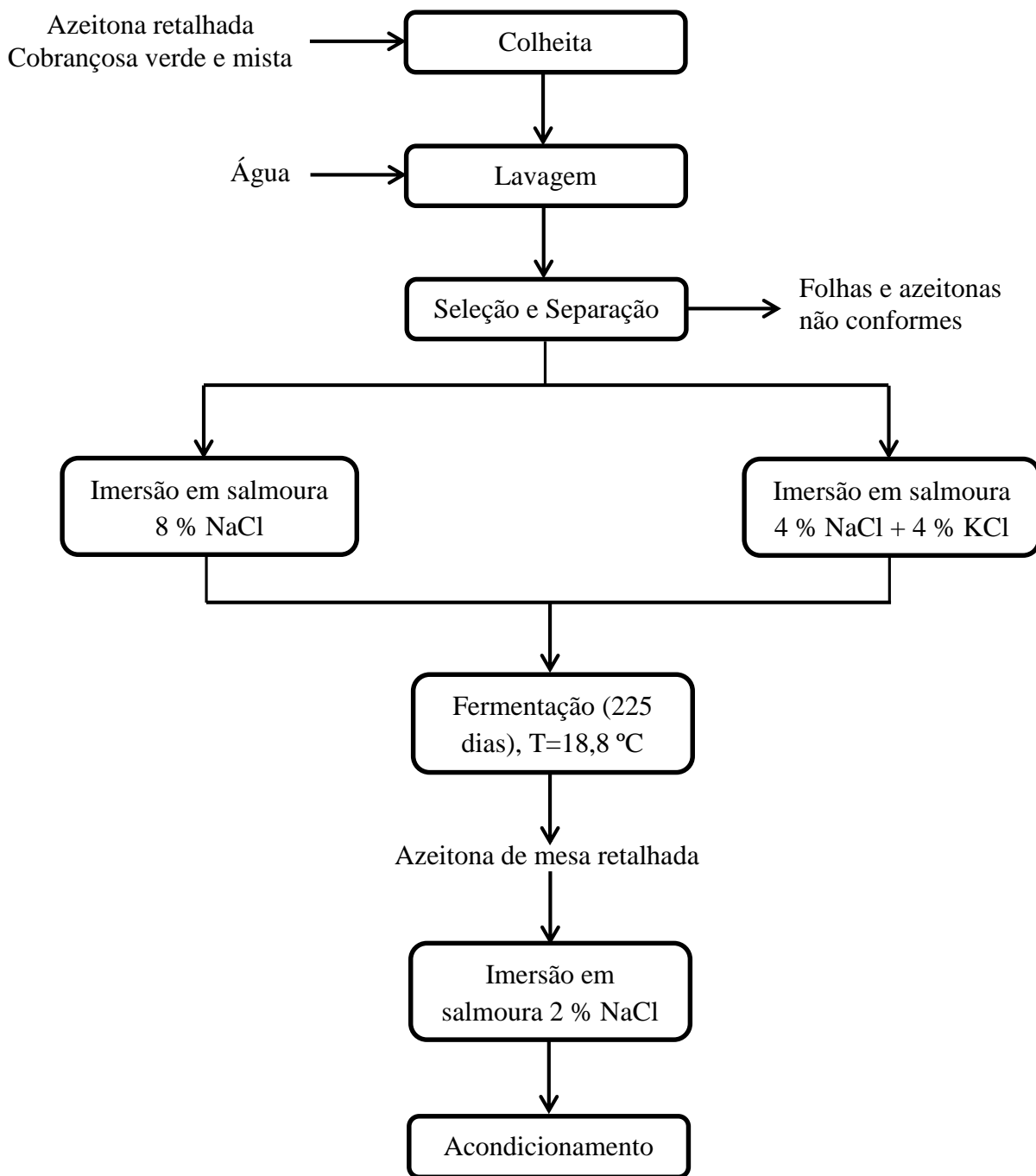


Figura 2.1. Diagrama do processo de produção de azeitona de mesa Cobrançosa por fermentação natural.

Caracterização morfológica da azeitona retalhada

A caracterização morfológica da azeitona retalhada (mista e verde) foi realizada a partir de 20 frutos escolhidos aleatoriamente.

Os parâmetros morfológicos avaliados consistiram na massa da azeitona com e sem caroço, comprimento e largura do fruto e caroço e espessura da polpa (incluindo a pele) e a fração edível.

As azeitonas e os caroços foram pesados individualmente numa balança analítica Mettler PM 300 ($\pm 0,01$ g) e as dimensões foram medidas com uma craveira digital ($\pm 0,01$ mm).

2.2.2 Caracterização físico-química da azeitona e da salmoura ao longo da fermentação

O perfil das fermentações foi seguido por análises realizadas à azeitona e respetiva salmoura de acordo com o plano de amostragem da Tabela 2.1:

Tabela 2.1. Plano de amostragem da azeitona e salmoura ao longo da fermentação.

| Data | Tempo |
|-------------|--------------|
| 18/11 | 0 |
| 21/11 | 3 |
| 25/11 | 7 |
| 28/11 | 10 |
| 2/12 | 14 |
| 9/12 | 21 |
| 16/12 | 28 |
| 6/1 | 49 |
| 21/1 | 64 |
| 17/2 | 91 |
| 1/4 | 134 |
| 12/5 | 175 |
| 3/6 | 225 |

A cada dia de amostragem, foram retiradas 3 tomas de aproximadamente 150 g de azeitona de cada fermentador, acondicionadas separadamente em sacos de congelação, sob vácuo, e armazenados a - 20 °C até posterior utilização. Foram

igualmente recolhidas de cada fermentador 3 amostras de 50 mL de salmoura para tubos *Falcan* e armazenadas - 20 °C até posterior utilização.

Cor

A cor da azeitona foi avaliada em termos dos parâmetros *L* (Luminosidade, de preto a branco), *a* (tons de verde a vermelho), *b* (tons de azul a amarelo) com um colorímetro de geometria d/8 (Dr. Lange Spectro - colour), na escala *Hunter Lab*, com fonte de luz de D₆₅ e ângulo de observação 10°.

Calculou-se o parâmetro – *a/b*, que de acordo com Tijssens *et al.* (2010) reduz consideravelmente a variância dos resultados entre amostras.

Efetuar-se-ão duas medições à superfície de cada azeitona, em 20 frutos diferentes, perfazendo um total de 40 leituras, para cada fermentador e a cada momento de amostragem.

Textura

O parâmetro textura da azeitona foi analisado através de um teste de compressão, utilizando um texturómetro Brookfield – LFRA Texture Analyzer 1500 e uma sonda TA 39 (2 mm diâmetro, 20 mm Largura, flat end). Foram efetuadas um total de 40 leituras, na zona equatorial da azeitona cortada ao meio e sem caroço, a 20 frutos recolhidos de cada fermentador e ao longo do tempo de amostragem, tendo sido aplicada uma velocidade da sonda de 0,5 mm/s e uma extensão de penetração de 3 mm.

Procedeu-se ao teste de Análise do Perfil de Textura (TPA), que consiste em comprimir a amostra. A resistência oferecida pela amostra à compressão durante o teste traduz-se graficamente na força versus tempo, do qual é possível calcular os parâmetros da textura que caracterizam a amostra (Manickavasagan & Al-Sabahi, 2013). O atributo da amostra estudado foi a dureza, que é a força máxima aplicada para comprimir a amostra (Fig. 2.2) (Martinez *et al.*, 2004).

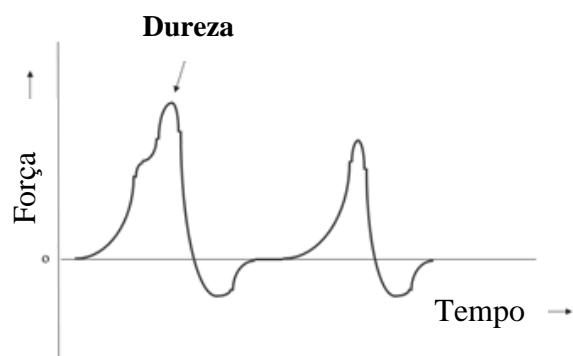


Figura 2.2. Representação gráfica do atributo dureza (Martinez *et al.*, 2004).

pH

A determinação de pH foi realizada, através da medição direta num potenciómetro (Crison, pH meter GLP 21) em azeitona previamente triturada, utilizando uma sonda para semi-sólidos e na salmoura utilizando uma sonda para líquidos. Foram realizadas três leituras de cada amostra.

Atividade de água (a_w)

A atividade de água das amostras (salmoura e azeitona previamente triturada) foi realizada, em duplicado, a 25 °C, num sensor de humidade de cloreto de lítio (Rotronic DT Hygroskop, DMS-100H).

Acidez

Preparação do extrato de azeitona

Maceraram-se cinco gramas de azeitonas num almofariz com 35 mL de água destilada. Procedeu-se a uma filtração com papel de filtro Whatman (filtração rápida 9,0 cm qualitativo 4) e o filtrado foi recolhido num balão volumétrico de 50 mL que se fez com água destilada. O ensaio foi realizado em triplicado para cada amostra.

Acidez livre

Procedeu-se à titulação de 5 mL do extrato de azeitona, ao qual se adicionou 25 mL de água destilada, com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH 0,01 N), utilizando como indicador, uma solução de fenolftaleína 2 % (2 gotas). No caso da salmoura, procedeu-se à titulação de 10 mL de salmoura, à qual se adicionou 50 mL de água destilada, com uma solução de NaOH 0,1 N, utilizando fenolftaleína 2 % (2 gotas) como indicador. A acidez foi expressa em gramas de ácido láctico por 100 g de azeitona ou por 100 mL de salmoura.

Acidez combinada

Procedeu-se à titulação de 5 mL do extrato de azeitona, com uma solução de ácido clorídrico (HCl 0,01 N), ao qual se adicionou 25 mL de água destilada, até se atingir um pH de 2,6. Quanto à salmoura, juntou-se se 10 mL de amostra a 50 mL de água destilada e procedeu-se à titulação com uma solução de HCl 0,1 N até pH 2,6. A acidez combinada foi expressa em gramas de ácido láctico por 100 g de azeitona ou por 100 mL de salmoura.

Acidez total

A acidez total foi determinada pela soma da acidez livre com acidez combinada e foi expressa nas mesmas unidades (gramas de ácido láctico por 100 g de azeitona ou por 100 mL de salmoura).

Açúcares redutores

Os açúcares redutores foram determinados de acordo com a Norma Portuguesa 1420 de 1987.

Preparação da amostra de azeitona

Macerou-se 10 g de azeitona em 50 mL de água destilada e agitou-se a 150 rpm durante 30 minutos. Filtrou-se com papel de filtro Whatman (filtração rápida 9,0 cm qualitativo 4) e procedeu-se à determinação dos açúcares redutores.

Determinação do teor em açúcares redutores

A concentração de açúcares redutores nas amostras de azeitona e salmoura foi determinada pelo método de DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico). Adicionou-se 1 mL de DNS e 1 mL do extrato de azeitona ou 1 mL de salmoura (com diluição adequada), e agitou-se vigorosamente. Depois colocaram-se os tubos em triplicado num banho de água a 100 °C durante 5 minutos, seguido de arrefecimento sob água corrente. Adicionou-se 10 mL de água destilada a cada tubo e agitou-se num vórtex. Leu-se a absorvância das amostras, a 540 nm no espectrofotómetro (Genesys TM 10 series). A concentração em açúcares redutores foi calculada usando um curva de calibração de glucose (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 g/L) e foi expressa em g/kg de azeitona ou g/L de salmoura.

Determinação de Compostos fenólicos totais e Atividade Antioxidante

Extração dos compostos fenólicos

A 5 g de azeitona macerada foram adicionados 15 mL de metanol a 100 %, que se manteve sob agitação a 150 rpm e ao abrigo da luz, durante 24 horas. Depois, centrifugou-se numa centrífuga *Sigma 3K20* a 1600 g, a 20 °C durante 15 minutos. Seguidamente procedeu-se a filtração, usando com papel de filtro Labware (filtração média/rápida, Ø 70 mm) para um balão de 25 mL que se perpez com metanol 100 %. O ensaio foi realizado em triplicado.

A extração dos compostos fenólicos da salmoura foi realizada de acordo com o mesmo procedimento utilizado para a azeitona, sem que se aguardasse 24 horas, usando 5 mL de salmoura. O ensaio foi realizado em triplicado.

Determinação do teor em compostos fenólicos totais

A concentração de compostos fenólicos totais nas amostras (salmoura e azeitona) foi determinada por espectrofometria de acordo com Singleton *et al.* (1999) com algumas modificações.

Adicionou-se a 0,1 mL de amostra, 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteau 0,5 N (razão 1:5), 0,4 mL de solução saturada de carbonato de sódio (7,5 %) e 4 mL de água

destilada. Depois de 1 hora, ao abrigo da luz, fez-se a leitura em triplicado, da absorvância a 765 nm num espectrofotómetro (Genesys™ 10 series). A concentração em compostos fenólicos foi calculada com base numa curva de calibração de ácido gálico com diferentes concentrações (0,015; 0,0325; 0,075; 0,125; 0,25; 0,50 mg/mL) e o resultado expresso em mg de ácido gálico/100 g de azeitona ou em mg de ácido gálico/100 mL de salmoura.

Determinação da atividade antioxidante

Esta determinação baseou-se na estimativa da capacidade para bloquear os radicais livres 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (*DPPH*•) de acordo com o método de Boskou *et al.* (2006), com algumas modificações. Alíquotas de soluções de extratos metanólicos (0,1 mL) contendo diferentes concentrações foram adicionadas a 3,9 mL de solução de *DPPH*• (6 x 10⁻⁵ M em metanol). A mistura foi agitada vigorosamente e deixada em repouso no escuro durante à temperatura ambiente. A absorvância foi lida a 517 nm. O efeito bloqueador dos radicais livres *DPPH*• foi calculado como a percentagem de descoloração de *DPPH*• usando a seguinte equação 1:

$$\% \text{efeito bloqueador} = \frac{A_{DPPH} - A_S}{A_{DPPH}} \times 100$$

onde, A_S é a absorvância da solução quando o extrato da amostra foi adicionado a uma concentração particular e A_{DPPH} é a absorvância da solução de *DPPH*•. A concentração de extrato a que corresponde 50 % de inibição do radical livre *DPPH*• (EC_{50}) foi calculada a partir da representação gráfica da percentagem do efeito bloqueador em função da concentração do extrato.

Foi preparada uma curva de calibração, usando soluções de Trolox de concentração 25 – 600 µM. A atividade antioxidante foi expressa em µM Trolox/g azeitona.

Determinação de cloretos na salmoura

O teor de cloretos na salmoura foi determinado através do método de Mohr (Fernández-Díez *et al.*, 1985). Colocou-se 1 mL de salmoura e 99 mL de água destilada

num gobelé. Adicionou-se 4 gotas de uma solução de fenolftaleína e acertou-se o pH a 8,3 com NaOH 0,1 N. Posteriormente, adicionou-se 2 mL da solução de cromato de potássio 5 % e titulou-se com AgNO₃ 0,1 N. Os ensaios foram realizados em triplicado e fez-se um ensaio em branco. O teor de cloretos foi expresso em %.

Análise Sensorial à Azeitona de mesa

Após 4 meses de fermentação, a análise sensorial foi realizada por 19 provadores, de ambos os sexos e com faixa etária variada, que não possuíam qualquer tipo de treino específico. Para a realização do inquérito, foi facultado a cada provador uma ficha de registo com os parâmetros a avaliar, tendo sido solicitado que atribuísem a cada amostra valores compreendidos numa escala de 1 a 7, sendo 1 o valor mínimo e 7 o valor máximo correspondente a cada parâmetro. Os parâmetros avaliados foram o aspeto, firmeza, cheiro, acidez, amargor, teor de sal, sabor e apreciação global. O inquérito utilizado na análise sensorial do fruto encontra-se no Anexo I.

Todas as amostras de azeitona disponibilizadas para análise sensorial foram previamente analisadas microbiologicamente, para avaliar as condições de higiene e segurança alimentar.

2.2.3 Caracterização nutricional da Azeitona de mesa

Resíduo seco e teor de humidade

Secou-se em estufa, a 80 °C durante 10 minutos as placas de Petri, e deixou-se arrefecer em exsiccador até atingir a temperatura ambiente (± 25 °C). Pesaram-se as placas numa balança analítica.

Seguidamente, colocou-se aproximadamente 10 g de amostra da pasta do fruto numa placa, e secou-se a amostra numa estufa a 105 °C, até se atingir um peso constante (24 horas). Transferiu-se a placa para um exsiccador, até arrefecer completamente, sendo de seguida, pesada rigorosamente numa balança analítica. O ensaio foi realizado em triplicado. O teor de resíduo seco, foi expresso em percentagem como a razão entre a massa final obtida e a massa da amostra fresca.

O teor de humidade foi calculado por diferença entre 100 % e o resíduo seco obtido.

Teor em proteína bruta

O teor de proteína bruta foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2000). Pesaram-se cerca de 5 g de azeitona previamente triturada numa balança analítica. Num tubo de digestão, colocou-se a amostra envolvida num papel de filtro sem cinzas (Whatman 44, 9.0 cm), uma pastilha de catalisador de Kjeldahl, 25 mL de ácido sulfúrico 95-97 %, 3 gotas de silicone 2 % (antiespumante) e reguladores de ebulição (pérolas de vidro). O ensaio foi realizado em triplicado com dois ensaios brancos.

Colocaram-se os tubos no digestor e aqueceu-se lentamente até aos 100 °C, seguindo-se acréscimos de temperatura de 100 °C, de 30 em 30 minutos, até se atingir a temperatura máxima de 400 °C. Deixaram-se as amostras a digerir, durante aproximadamente 10 horas, até as soluções apresentarem um tom verde límpido.

Retiraram-se os tubos do digestor e deixou-se arrefecer até a solução atingir a temperatura ambiente (± 25 °C). Adicionou-se 50 mL de água destilada a cada tubo e deixou-se arrefecer novamente.

Num Erlenmeyer adicionaram-se 50 mL de ácido bórico 4 % e 3 gotas de indicador misto (Tashiro). Colocaram-se os tubos de digestão no destilador, adicionaram-se 100 mL de hidróxido de sódio a 40 % e procedeu-se à destilação até se recolher um volume de destilado aproximado de 150 mL. De seguida, titulou-se o destilado com ácido clorídrico 0,1 N.

O teor de azoto total presente na amostra, expresso em percentagem, foi determinado através da equação 2 a seguir:

$$\text{Azoto total (\%)} = (V_1 - V_2) \times 0,14 / m$$

V_1 – volume de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, expresso em mL.

V_2 – volume de ácido clorídrico gasto no ensaio branco, expresso em mL.

m – massa da amostra, expressa em gramas.

O teor em proteína bruta, expresso em percentagem, obtém-se, multiplicando o teor de azoto total pelo fator de conversão de 6,25 (AOAC, 2000).

Teor em matéria gorda livre

O teor em matéria gorda livre foi determinado através do método de Soxhlet (AOAC, 2000). O resíduo seco obtido anteriormente foi colocado num cartucho de extração e coberto com pequenos pedaços de algodão. Colocou-se o cartucho no extrator e ligou-se a um balão, previamente seco na estufa e pesado com algumas pérolas de vidro (reguladores de ebulição) no seu interior. Adicionou-se ao extrator 150 mL de *n*-hexano e procedeu-se à extração da gordura, sob refluxo, numa manta de aquecimento durante 21 horas.

Evaporou-se o *n*-hexano a 67 °C, num evaporador rotativo e secou-se o balão na estufa a 105 °C, durante 10 minutos. Depois, deixou-se arrefecer num exsiccador, até atingir a temperatura ambiente (± 25 °C) e pesou-se em balança analítica. O ensaio foi realizado em triplicado.

O teor em matéria gorda livre, expresso em percentagem, foi determinado pela razão entre a massa de gordura obtida e a massa inicial de resíduo seco.

Teor em fibra

A amostra seca sem gordura, proveniente da extração Soxhlet foi pesada numa placa de Petri (1 a 2 g) e colocada num balão de 500 mL com 200 mL de ácido sulfúrico 0,26 N e silicone antiespumante (3 gotas). Levou-se à ebulição numa manta de aquecimento, com condensador, durante 30 minutos. De seguida, filtrou-se com papel de filtro sem cinzas e lavou-se com água destilada quente até não apresentar reação ácida (verificando-se com indicador de pH). Transferiu-se a amostra para um balão de 500 mL com 200 mL de hidróxido de potássio 0,23 N e silicone antiespumante (3 gotas) e levou-se uma última vez à ebulição durante 30 minutos. Filtrou-se e lavou-se com água destilada quente até não apresentar reação alcalina e lavou-se com acetona para desidratar a amostra. Depois, secou-se a amostra juntamente com o papel de filtro, que tinha sido previamente pesado, em estufa a 105 °C até ao dia seguinte. Uma vez a

amostra completamente seca deixou-se arrefecer num exsiccador, pesou-se e calcinou-se numa mufla a 550 °C.

O teor em fibra, expresso em percentagem, foi determinado de acordo com a equação 3 que se segue:

$$\text{Fibra bruta (\%)} = (100 m_1 - m_2) / m_0$$

m_0 – massa inicial da amostra, expresso em gramas.

m_1 – massa da amostra seca, expresso em gramas.

m_2 – massa da amostra calcinada, expresso em gramas.

Teor em cinza

O teor de cinza das amostras foi determinado de acordo com a Norma Portuguesa n.º 518 de 1986.

Colocaram-se os cadinhos na mufla à temperatura de 550 °C para calcinar durante 1 hora e de seguida retiraram-se e colocaram-se num exsiccador até atingirem a temperatura ambiente. Seguidamente pesaram-se numa balança analítica 5 g de azeitona e colocaram-se os cadinhos sobre um bico de Bunsen a gás, até a amostra inflamar. De seguida, colocaram-se os cadinhos na mufla a 550 °C durante 24 horas (tempo necessário para combustão total da amostra). Por fim, arrefeceram-se os cadinhos num exsiccador, até se atingir a temperatura ambiente e pesaram-se numa balança analítica. O ensaio foi realizado em triplicado.

O teor em cinza, expresso em percentagem, foi determinado pela razão entre a massa de cinza obtida e a massa de amostra fresca.

Após a determinação do teor em cinza, colocou-se 2 mL de HCl 6N sobre as cinzas e procedeu-se à sua filtração com papel de filtro Whatman (filtração rápida 9,0 cm qualitativo 4), num balão de 50 mL que se per fez com água Milli-Q para determinação de minerais.

Teor em Sódio (Na), Potássio (K) e Cálcio (Ca)

A concentração de sódio, potássio e cálcio nas amostras de azeitona e de salmoura foi determinada por de fotometria de emissão de chama. As amostras

incineradas na determinação do teor em cinza foram devidamente diluídas e atomizadas num fotómetro de chama (Jenway, PFP7) e as concentrações em minerais foram calculadas com base nas curvas de calibração de sódio, de potássio e de cálcio com as seguintes concentrações: 20, 18, 16, 14, 12, 10, 8, 5 e 2 ppm para Na e K e 100, 80, 70, 50, 40, 20, 10 ppm para Ca. Os ensaios foram realizados em triplicado e os resultados foram expressos em g de mineral por kg de azeitona ou L de salmoura.

Teor em hidratos de carbono

O teor em hidratos de carbono, expresso em percentagem, foi calculado por diferença entre 100 por cento e a soma dos valores em percentagem dos teores em água, proteína, matéria gorda, fibra e cinzas.

Valor energético

O valor energético da azeitona foi expresso em quilocalorias por 100 g azeitona e calculado após a determinação da proteína bruta, hidratos de carbono e gordura, usando os fatores de Atwater de acordo com a equação 4 a seguir (Ferreira, 1994; Commission Directive 2008/100/EC, 2008):

$$\text{Teor Calórico} = 4 \times (\text{g proteínas} + \text{g hidratos de carbono}) + 9 \times (\text{g lípidos})$$

Análise estatística

Os resultados das determinações analíticas e sensorial foram analisados graficamente e estatisticamente através do Excel 2013. Foi realizada a análise de variância Anova (Teste T: duas amostras com variâncias desiguais).

Resultados e Discussão



3. Resultados e discussão

A evolução do perfil de fermentação da azeitona Cobrançosa retalhada mista e verde fermentada em salmoura de 8 % NaCl foi seguida por análise na salmoura e respetiva azeitona dos parâmetros físico-químicos, cor, textura, pH, a_w , teor de NaCl total (%), acidez livre, combinada e total, compostos fenólicos totais, açúcares redutores, teor de cloretos (%) e teor em minerais sódio, cálcio e potássio.

A fermentação deu-se por finalizada aos 225 dias, altura em que a azeitona foi considerada “pronta a comer” pelo painel de provadores responsável pela análise sensorial, assim designada por “azeitona de mesa”.

3.1 Perfil de fermentação de azeitona Cobrançosa retalhada

Cor da azeitona

O gráfico da Figura 3.1 representa a variação da luminosidade (L) da azeitona mista e verde ocorrida ao longo da fermentação.

Ao longo da fermentação das azeitonas mista e verde, observou-se que a luminosidade diminui ligeiramente. O parâmetro L da azeitona mista e verde variou de $32,80 \pm 6,20$ para $28,26 \pm 3,32$ e $48,80 \pm 3,11$ para $38,15 \pm 0,00$, respetivamente. A luminosidade da azeitona mista é mais baixa pois esta contém mais antocianinas, compostos fenólicos responsáveis pela sua cor roxa, tornando-se por isso mais escura (Fernandez-Orozco *et al.*, 2011). A polimerização das antocianinas é a causa da cor final desenvolvida na azeitona (Othman *et al.*, 2009). A cor acastanhada observada no final da fermentação em azeitonas mistas e verdes, está relacionada com a transformação de pigmentos como clorofilas e carotenoides, mas também se pode dever à oxidação dos compostos fenólicos que ocorre durante a fermentação e que muitas vezes é causada pela sua polimerização (Ramírez *et al.*, 2014; Romeo *et al.*, 2009). Foram encontrados valores de luminosidade mais elevados por Ramírez *et al.* (2014) em azeitonas de mesa Maçanilha e Hojiblanca elaboradas pelo estilo grego de 48,64 e 53,01, respetivamente. Estes valores mais elevados podem estar relacionados com a diferença entre cultivares.

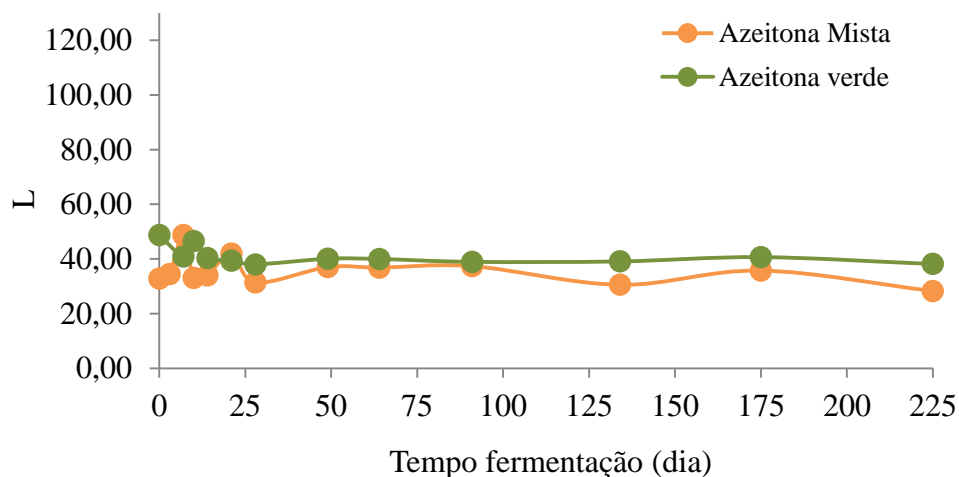


Figura 3.1. Evolução do parâmetro L da superfície da azeitona mista e verde ao longo da fermentação.

Quando se representa graficamente os parâmetros a e b em função do tempo de fermentação, para ambas as azeitonas mista e verde, não se observa uma tendência perfeitamente definida, porém a relação $-(a/b)$ que segundo Tijskens *et al.* (2001), reduz consideravelmente a variância observada nas amostras e pode ser considerada como uma espécie de padronização interna, diminui em ambas as azeitonas de acordo com uma função logarítmica do tempo (Fig. 3.2).

Podem observar-se que o parâmetro $-(a/b)$ apresenta maiores variações na azeitona mista do que na azeitona verde, sendo função do tempo de fermentação de acordo com as equações $y = -1,404 \ln(x) + 4,4219$ e $y = -0,082 \ln(x) + 0,2809$ para as azeitonas mista e verde respectivamente, atingindo-se os valores de $-1,09 \pm 2,27$ e $-0,36 \pm 0,11$ para as azeitonas mista e verde respectivamente. Tsantili *et al.* (2008) obtiveram valores de $-(a/b)$ muito maiores em azeitonas frescas Konservolia de 65,24, possivelmente devido à cor desta cultivar que é escura. Bautista-Gallego *et al.* (2011) obtiveram um valor de $-0,14$ no final da fermentação natural de azeitona Aloreña, valor próximo do valor obtido na azeitona de mesa verde Cobrançosa.

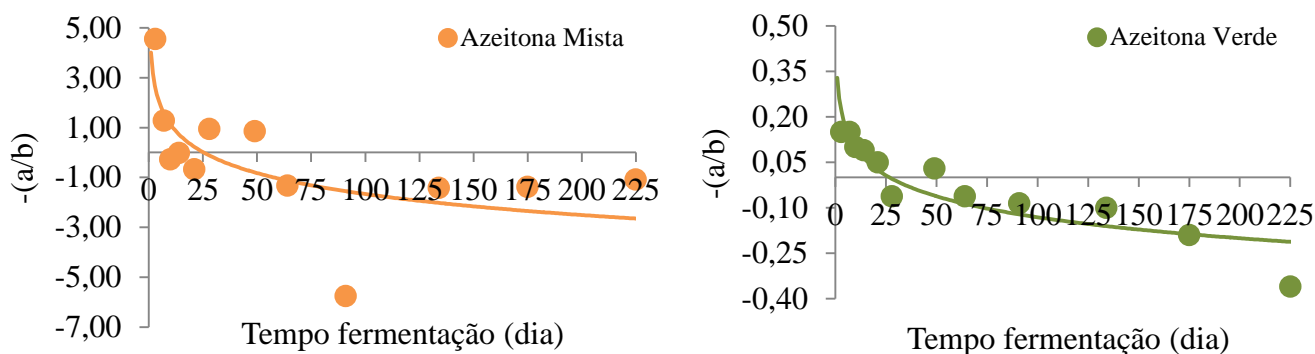


Figura 3.2. Evolução do parâmetro de cor - (a/b) da superfície da azeitona mista e verde ao longo da fermentação.

Textura da azeitona

Na Figura 3.3 está representada a evolução da dureza (g) da azeitona mista e verde ao longo do tempo de fermentação podendo-se observar que a dureza diminuiu ligeiramente dos valores iniciais de 295,27 g e 362,94 g para os valores finais de 244,00 g e 353,75 g nas azeitonas mista e verde, respetivamente. Esta diminuição está relacionada com o facto de ocorrer hidrólise das substâncias pécnicas durante a fermentação, deixando o fruto menos duro (Bianchi, 2003). A azeitona verde apresenta-se sempre mais dura do que a mista ao longo da fermentação, o que pode estar relacionado com a concentração de cálcio na azeitona verde, uma vez que este mineral está envolvido em ligações cruzadas com os polímeros da parede celular, ou seja, se o conteúdo em cálcio da azeitona for maior, a sua dureza também será maior (Castro *et al.*, 2007). Saúde (2014) verificou que a fermentação de azeitona Maçanilha em salmoura 8 % NaCl durante 162 dias, não foi determinante na alteração da dureza (392,9 para 368,8 g).

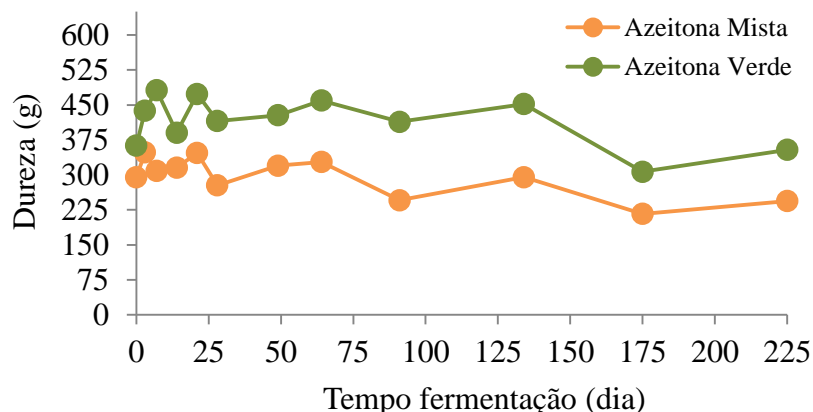


Figura 3.3. Evolução da dureza (g) da azeitona mista e verde ao longo do tempo de fermentação.

pH da azeitona e salmoura de fermentação

As variações de pH ocorridas na azeitona mista e verde e na salmoura durante a fermentação apresentam-se na Figura 3.4.

Observou-se uma diminuição drástica do pH da salmoura nos primeiros quatro dias de fermentação, devido à presença de azeitona na salmoura, à difusão dos ácidos orgânicos da azeitona para a salmoura e à produção de compostos ácidos pelos microrganismos fermentativos que se libertam também para a salmoura (Marsílio *et al.*, 2008; Chorianopoulos *et al.*, 2005). A difusão de alguns fenóis ácidos e a degradação de outros compostos fenólicos em ácidos, tal como o ácido elenólico obtido a partir da hidrólise alcalina de oleuropeína pode também contribuir para a descida do pH durante a fase inicial de fermentação da azeitona de mesa (Kiai & Hafidi, 2014). Após este período, o valor de pH das salmouras manteve-se constante até ao final da fermentação atingindo-se um pH de 4,3 na salmoura com azeitona mista e 4,5 na salmoura com azeitona verde. A fase em que o pH se mantém constante corresponde à fase em que a população microbiana torna-se estável e os ácidos, em equilíbrio com os seus sais, atuam como um tampão estabilizando o pH da salmoura (Marsílio *et al.*, 2008). A acidez desenvolvida e a queda de pH é o fator determinante para o sucesso da fermentação e segurança do produto final (Chorianopoulos *et al.*, 2005). O pH da azeitona Cobrançosa mista e verde diminuiu até ao dia 21, sendo que depois também estabilizou até ao final da fermentação atingindo valores finais de 4,4 e 4,7, respetivamente. O pH da azeitona verde e da salmoura com azeitona verde foi mais elevado do que o pH da azeitona mista e da sua respetiva salmoura. Isto sugere que a

produção de ácidos orgânicos, no caso da azeitona verde, não é tão evidente como em azeitona mista ao longo da fermentação.

Comportamento semelhante foi observado em fermentação de azeitona natural preta Conservolea em 8 % NaCl, em que o pH diminuiu muito inicialmente de 6,7 para 4,1, e que se manteve constante até ao final (Panagou et al., 2011). Rodríguez-Gómez et al. (2014) também verificaram que o pH da salmoura com azeitona Maçanilha (fermentação natural) diminuiu consideravelmente até ao 21º dia, de 8,0 para 4,3, mantendo-se depois constante até ao final da fermentação. Depois de 10 dias de fermentação, o pH da salmoura continuou a diminuir, e no final da fermentação estabilizou para valores de 4,5 a 4,7 (Muccilli et al., 2011). Saúde (2014) verificou que o valor de pH da salmoura 8 % NaCl com azeitona Maçanilha diminuiu nos primeiros 4 dias, tendo depois estabilizado ao longo do período fermentativo (162 dias), atingindo valores de 4,01 a 4,2.

O valor final de pH da salmoura com azeitona mista encontra-se em conformidade com os limites estabelecidos pelo Trade Standard Applying to Table Olives (COI, 2004) que define um valor de pH inferior a 4,3.

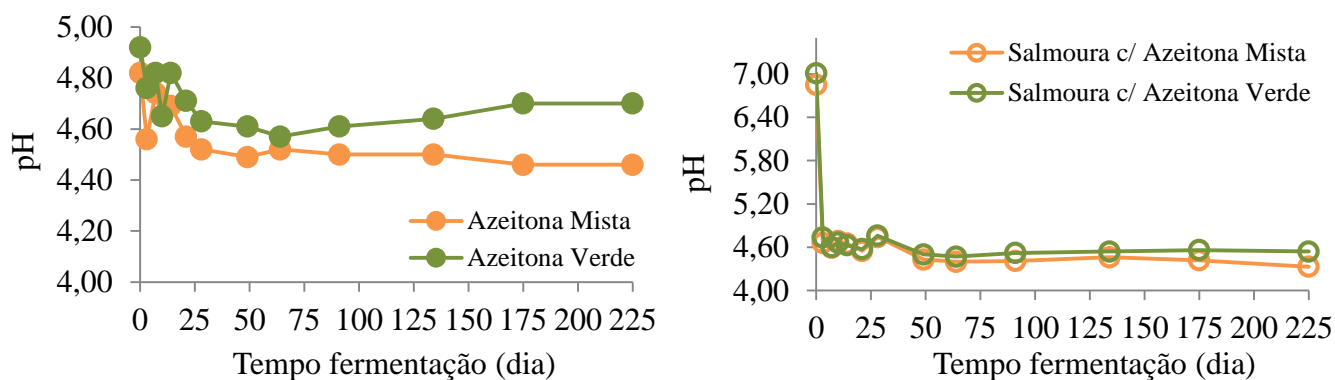


Figura 3.4. Evolução do valor de pH da azeitona mista e verde e da salmoura ao longo do tempo de fermentação.

a_w da azeitona e salmoura

Na Figura 3.5 está representada a evolução da atividade da água (a_w) da azeitona mista e verde e das respetivas salmouras ao longo do tempo de fermentação.

Através da observação do gráfico da Figura 3.5, foi possível verificar que a a_w da azeitona mista e verde diminuiu ao longo da fermentação, tendo atingido no final os valores de $0,938 \pm 0,001$ e $0,943 \pm 0,001$, respetivamente. Nas salmouras com azeitona

mista e verde os valores de a_w aumentaram ligeiramente ao longo da fermentação obtendo-se valores finais de $0,958 \pm 0,002$ e $0,953 \pm 0,001$, respetivamente. Isto deve-se ao facto de ocorrer a deposição e adsorção do NaCl da salmoura na polpa da azeitona, o que reduz a atividade da água. A preparação de produtos vegetais fermentados depende, essencialmente, da utilização do sal (NaCl) comum, como o ingrediente principal da salmoura, porque reduz a atividade da água (Mendes, 2012). A azeitona verde apresentou um valor de a_w ligeiramente acima do da azeitona mista no final da fermentação, o que pode estar relacionado com a dureza da azeitona verde que dificulta o movimento da água do mesocarpo interno para o mesocarpo externo durante a fermentação (Brescia *et al.*, 2007). Os valores iniciais do a_w das azeitonas Cobrançosa mistas e verdes foram inferiores aos apresentados por Piscopo *et al.* (2014), que obtiveram um a_w de 0,996 em azeitonas verdes frescas (Carolea cv.), o que se deve provavelmente à diferença da cultivar. Vergara *et al.* (2013) obtiveram uma atividade da água da salmoura de 0,950 no final de 122 dias de fermentação natural de azeitona verde Conservolea, valor próximo dos encontrados neste estudo.

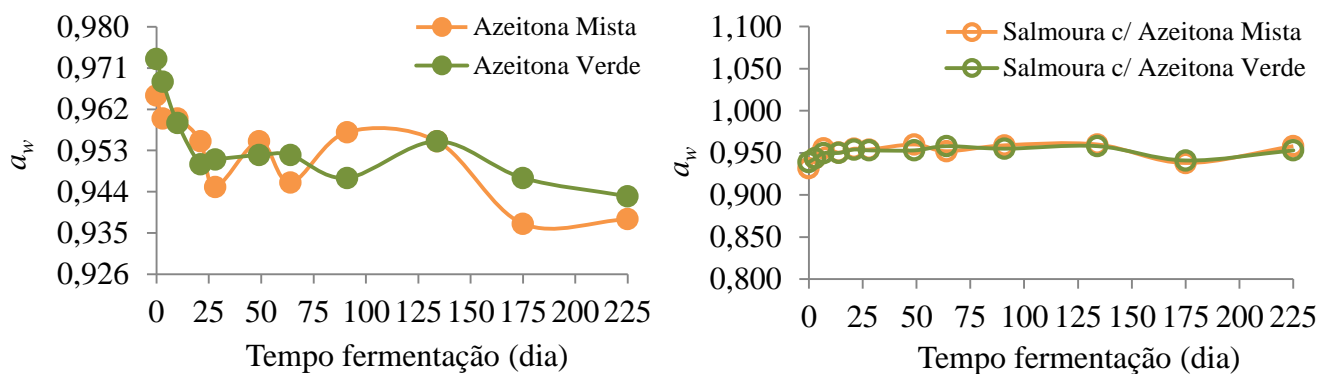


Figura 3.5. Evolução do valor de a_w na azeitona mista e verde e nas salmouras ao longo do tempo de fermentação.

Teor de cloreto de sódio na azeitona e salmoura

Na Figura 3.6 está representada a evolução do teor de cloreto de sódio na azeitona verde e mista e nas respetivas salmouras ao longo do tempo de fermentação.

De acordo com a Figura 3.6, verificou-se que o teor de cloreto de sódio das salmouras com azeitona mista e verde diminuiu ao longo da fermentação, atingindo-se valores finais de 5,124 % e 5,062 %, respetivamente. Esta diminuição ocorreu devido à

difusão do NaCl da salmoura para a azeitona, atingindo-se um equilíbrio osmótico após os 21 primeiros dias de fermentação. Relativamente à azeitona mista e verde observou-se um aumento ao longo da fermentação atingindo-se valores finais de 4,335 % e 4,129 %, respetivamente. No final da fermentação a azeitona verde apresenta um teor de NaCl (%) ligeiramente mais baixo do que a azeitona mista, provavelmente devido à azeitona verde ter uma textura mais dura, o que dificulta a difusão do NaCl da salmoura para a azeitona (Pintado *et al.*, 2006). Vergara *et al.* (2013), que trabalharam com azeitona verde Conservolea, obtiveram 6,12 % NaCl ao fim de 122 dias de fermentação.

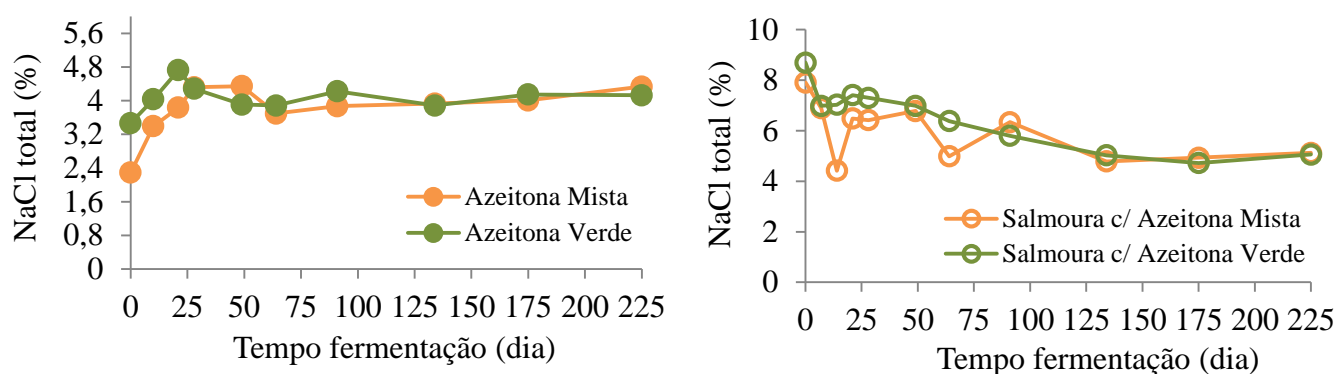


Figura 3.6. Evolução do teor de cloreto de sódio total (%) da azeitona mista e verde e das respetivas salmouras ao longo do tempo de fermentação.

Salinidade na salmoura

A salinidade das salmouras em estudo dos diversos sais de cloro foi avaliada pela determinação do teor em cloretos e está representada na Figura 3.7.

Ao longo do processo de fermentação da azeitona verificou-se uma redução no teor de cloretos da salmoura com azeitona mista e verde. A difusão dos sais de cloro da salmoura para a polpa da azeitona ocorreu a uma taxa mais elevada até ao dia 21 e parece estar associada a uma lixiviação mais acentuada dos açúcares redutores nesta fase inicial. No fim da fermentação, obtiveram-se concentrações semelhantes na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde, de 3,29 % e 3,19 %, respetivamente. Saúde (2014) refere um teor de cloretos final de aproximadamente 3,50 % em salmoura 8 % NaCl com azeitona Maçanilha, valor semelhante aos obtidos neste estudo com a mesma concentração de NaCl nas salmouras.

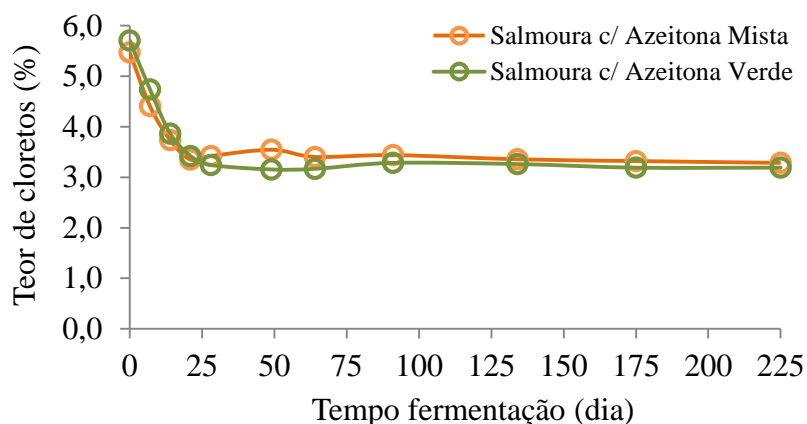


Figura 3.7. Evolução do teor de cloretos na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde ao longo do tempo de fermentação.

Acidez das salmouras de fermentação e da azeitona

Na Figura 3.8 está representada a evolução da acidez livre, combinada e total (g ácido láctico/100 mL salmoura) nas salmouras com azeitona mista e com azeitona verde ao longo da fermentação.

A acidez livre aumentou ao longo da fermentação nas salmouras com azeitona mista e verde, atingindo o valor mais elevado após 49 dias, seguindo-se uma estabilização até ao final da fermentação quando se registou o valor de $0,255 \pm 0,004$ g ácido láctico/100 mL salmoura em ambas as fermentações, comportamento semelhante ao referido por Kiai & Hafidi (2014) e Borges (2013). Kiai & Hafidi (2014) verificaram um aumento acentuado da acidez livre nos primeiros 25 dias de fermentação em salmouras com azeitonas Ascolana, Moroccan e Languedoc Picholine e Sevillana, seguido por um aumento mais moderado nos 10 dias seguintes e um registo praticamente constante com uma tendência ligeiramente crescente até ao final da fermentação, sendo que os valores variaram de aproximadamente 0,200 para 0,800, 0,500, 0,450 e 1,000 g/100 mL salmoura dependendo da cultivar.

Relativamente à acidez combinada, observou-se um aumento em ambas as salmouras até ao 10º dia, seguido de uma estabilização até ao final da fermentação atingindo-se um valor final de $0,595 \pm 0,007$ e $0,637 \pm 0,004$ g ácido láctico/100 mL na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde, respetivamente. A acidez combinada foi ligeiramente maior na salmoura com azeitona verde o que pode ser explicado pelo facto da acidez combinada estar relacionada com o pH, sendo que quanto maior é a acidez combinada maior é a quantidade de ácido requerido para

produzir uma mudança no pH (Bautista-Gallego *et al.*, 2010). Vergara *et al.* (2013) também observaram um aumento da acidez combinada no início da fermentação e obtiveram um valor final de 0,650 g/100 mL após 122 dias de fermentação natural de azeitona verde Conservolea, valor próximo do encontrado neste estudo em salmoura com azeitona verde.

A acidez total resulta da soma da acidez livre com a acidez combinada. Foi possível verificar que esta aumentou ligeiramente ao longo da fermentação na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde, de 0,690 para 0,850 g ácido láctico/100 mL de salmoura e de 0,763 para 0,892 g ácido láctico/100 mL de salmoura, respetivamente. Resultados semelhantes foram obtidos por Moreira (2013), na fermentação de azeitona Galega vulgar ao natural, com a acidez total a aumentar de 0,600 para 0,700 g/100 mL salmoura.

Os valores de acidez livre obtidos neste estudo (0,3 g/100 mL salmoura) encontram-se em conformidade com os limites estabelecidos pelo Trade Standard Applying to Table Olives (COI, 2004) que define um valor de acidez mínimo desejável de 0,3 %, expresso em ácido láctico.

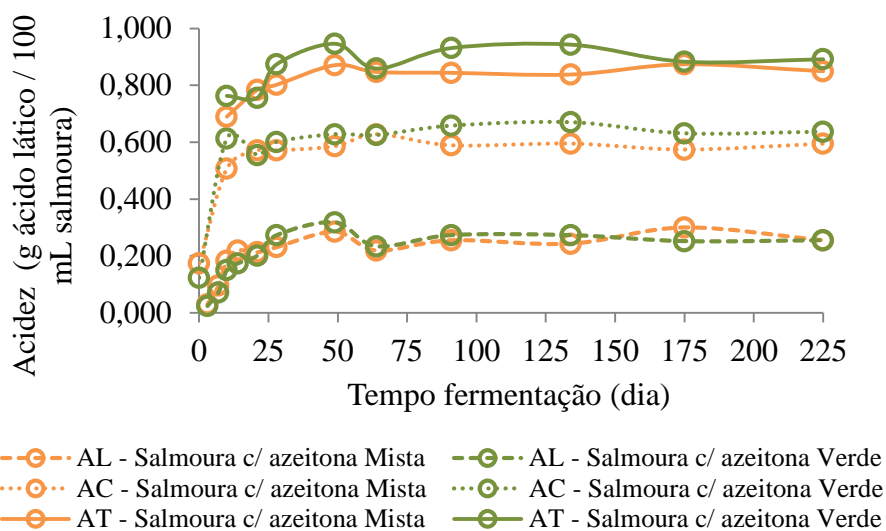


Figura 3.8. Evolução da acidez livre, combinada e total (g ácido láctico/100 mL salmoura) na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde ao longo do tempo de fermentação.

Na Figura 3.9, está representada a evolução da acidez livre (% ácido láctico) na azeitona verde e mista e para efeitos de comparação representou-se também a acidez livre nas respectivas salmouras ao longo da fermentação.

A acidez livre das azeitonas mista e verde diminuiu ao longo da fermentação atingindo um valor final de $0,150 \pm 0,002$ % ácido láctico em ambas as azeitonas. No caso da acidez livre das salmouras, contrariamente à acidez livre das azeitonas, houve um aumento até ao 49º dia, seguido de uma tendência ligeiramente decrescente até ao final da fermentação quando se determinou um valor de $0,255 \pm 0,004$ % ácido láctico. Como era de esperar, a diminuição da acidez na azeitona é acompanhada pelo aumento da acidez nas salmouras. As alterações de pH refletem as taxas de acidez livre expressas em g de ácido láctico/100 ml de salmoura e quanto menor for o pH maior é a acidez livre (Kiai & Hafidi, 2014). Saúde (2014) verificou um comportamento semelhante da acidez livre em salmoura 8 % NaCl com azeitona Maçanilha, que foi um aumento desta nos 50 primeiros dias de fermentação seguido de uma estabilização e de um ligeiro aumento até ao final. Porém, no nosso estudo, os valores diferentes de pH observados com a azeitona mista e verde (4,5 e 4,7) não se refletem em valores de acidez diferentes para estas azeitonas.

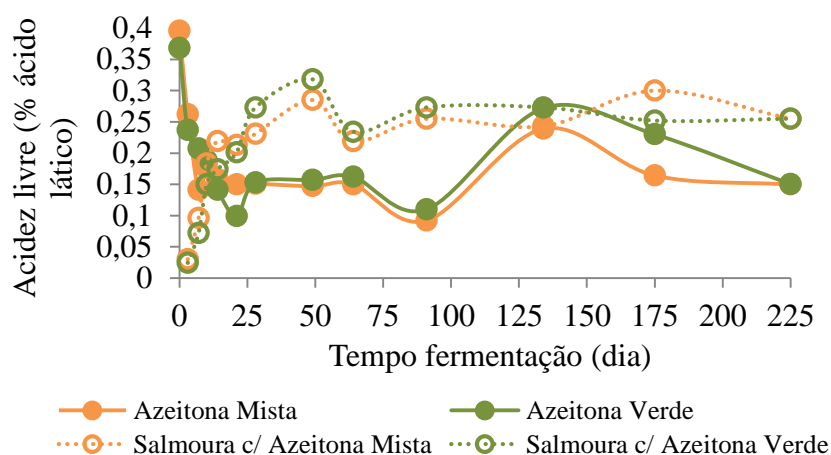


Figura 3.9. Evolução da acidez livre (% ácido láctico) na azeitona mista e verde, na salmoura com azeitona mista e na salmoura com azeitona verde ao longo da fermentação.

Açúcares redutores da salmoura e azeitona

A Figura 3.10 representa a evolução da composição em açúcares redutores (g glucose/L ou kg) nas azeitonas e salmouras ao longo do tempo de fermentação.

O conteúdo em açúcares redutores das azeitonas mista e verde diminuem consideravelmente nos 14 primeiros dias (de $20,096 \pm 0,168$ ou $18,229 \pm 0,185$ g glucose/kg azeitona para $3,579 \pm 0,012$ ou $4,081 \pm 0,024$ g glucose/kg azeitona, respetivamente) e de seguida mantêm-se constantes até ao final da fermentação atingindo valores de $1,763 \pm 0,017$ e $1,788 \pm 0,010$ g glucose/kg azeitona, respetivamente. A concentração dos açúcares na azeitona no final da fermentação foi muito menor que no início pois estes foram consumidos por bactérias, processo natural essencial para a estabilidade e preservação das azeitonas de mesa durante a fermentação e armazenamento. Nas salmouras com azeitona mista e verde, a composição em açúcares redutores aumentou até ao 21º dia ($12,566 \pm 1,485$ e $12,554 \pm 1,283$ g glucose/L salmoura, respetivamente) diminuindo depois até ao final da fermentação para valores finais de $5,120 \pm 0,566$ e $5,015 \pm 0,183$ g glucose/L salmoura, respetivamente. Rodríguez-Gómez *et al.* (2014) observaram também uma diminuição rápida do teor em açúcares durante a fermentação de azeitona Maçanilha. A diminuição dos açúcares redutores na azeitona ocorreu devido à sua difusão para a salmoura, tendo por isso se observado um aumento destes na salmoura nos primeiros 21 dias de fermentação. A partir desta altura, o teor em açúcares na salmoura diminui, como resultado do consumo pela microbiota existente, essencialmente leveduras e bactérias, como fonte de energia para o seu normal desenvolvimento e consequente fermentação (Kailis & Harris, 2007). A difusão de substratos fermentescíveis depende de vários parâmetros tais como o estilo de azeitona de mesa (britada ou retalhada), a permeabilidade da pele, a concentração de sal, a proporção do fruto para salmoura e a temperatura (Kiai & Hafidi, 2014). No nosso estudo, o grau de maturação diferente da azeitona não teve qualquer efeito sobre a difusão dos açúcares redutores das azeitonas para as respetivas salmouras. Kiai & Hafidi (2014) também determinaram os açúcares na salmoura, e depois de 25 dias de fermentação também obtiveram um pico de açúcares, mais baixo que neste estudo provavelmente devido às diferenças entre cultivares, de 6,8, 4,6, 3,4 e 3,3 g glucose/L em salmouras com as variedades Sevillana, Ascolana, Languedoc Picholine e Moroccan, respetivamente. Na azeitona, os açúcares também diminuiram muito ao longo de 71 dias de fermentação nas cultivares Sevillana, Ascolana, Moroccan e Languedoc Picholine, de 12,6 para 2,6 g /kg, de 10,7 para 2,6 g /kg e de 6,7 g para 1,4 g /kg, respetivamente, (Kiai & Hafidi, 2014).

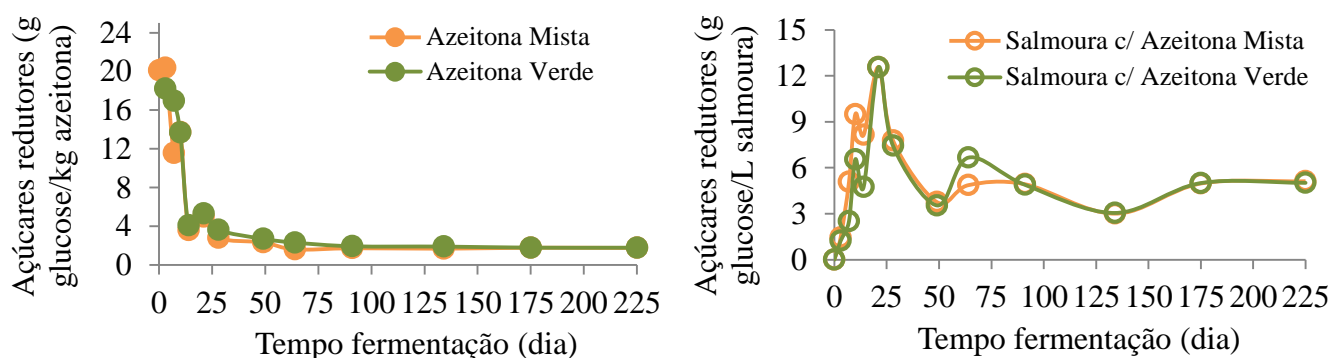


Figura 3.10. Evolução da composição em açúcares redutores na salmoura com azeitona mista e verde (g glucose/L salmoura) e na azeitona (g glucose/kg azeitona) mista e verde ao longo da fermentação.

Compostos fenólicos da salmoura e azeitona

Na Figura 3.11 está representada a evolução do teor em compostos fenólicos totais nas azeitonas mista e verde e respectivas salmouras de fermentação.

Observa-se uma diminuição do teor em compostos fenólicos nas azeitonas mista e verde de $4,269 \pm 0,224$ para $1,554 \pm 0,049$ g/kg e de $3,904 \pm 0,170$ para $1,388 \pm 0,045$ g/kg, respetivamente. Esta diminuição ocorre maioritariamente nos 14 primeiros dias de fermentação, havendo a partir daí uma estabilização. A mesma tendência foi reportada por Othman *et al.*, (2009) em fermentação espontânea de azeitonas Chétoui verde e mista tendo diminuído de 2,558 para 1,072 g/kg e de 2,300 para 1,042 g/kg, respetivamente, após 67 dias de fermentação. Nas salmouras com azeitona mista e verde observou-se um perfil inverso, ou seja, o teor em compostos fenólicos aumentou até ao final da fermentação para valores finais de $2,430 \pm 0,222$ e $2,174 \pm 0,196$ g/kg, respetivamente, devido à difusão destes compostos solúveis da azeitona para a salmoura. O teor final em compostos fenólicos foi maior na salmoura com azeitona mista. Morelló *et al.* (2004) referem que durante o processamento da azeitona existe uma troca osmótica entre o fruto e a salmoura que justifica esta observação. Consequentemente, no final da fermentação a salmoura torna-se rica em compostos com valor acrescentado como os compostos fenólicos naturais, que têm um forte poder antioxidante (Duke *et al.*, 2008). A evolução dos compostos fenólicos encontrados nas salmouras pode ser atribuída à capacidade das leveduras e bactérias hidrolisarem os compostos como oleuropeína utilizando a enzima β -glucosidase (Servili *et al.*, 2006). A difusão dos compostos fenólicos da azeitona para a salmoura depende de parâmetros

como as características da cultivar, a permeabilidade da pele, o tipo de polifenóis presentes na azeitona e a sua capacidade de difusão para fora do fruto (Kiai & Hafidi, 2014). O estado de maturação diferente das azeitonas utilizadas neste estudo não teve qualquer efeito sobre a difusão dos compostos fenólicos totais. Othman *et al.* (2009) referem que o teor em compostos fenólicos totais na salmoura de fermentação espontânea aumentou progressivamente para concentrações elevadas de 2,718, 2,974 e 3,450 g/l, em salmouras com azeitona verde, mista e preta, respetivamente. Romero *et al.* (2004) mostraram que as antocianinas totais, características da azeitona mista e preta que aparecem progressivamente durante o amadurecimento, crescem na salmoura e na presença de ar são oxidadas e polimerizadas, daí se ter observado um teor em compostos fenólicos mais elevado na azeitona Cobrançosa mista. As azeitonas verdes contêm uma quantidade mais elevada de compostos fenólicos simples, que são convertidos por bactérias ácido lácticas e outros microrganismos (Othman *et al.*, 2009).

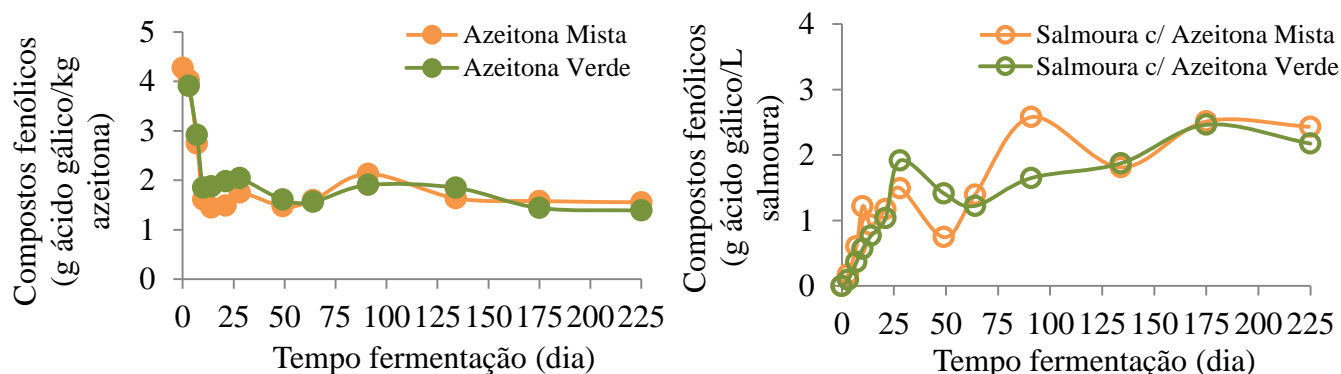


Figura 3.11. Evolução da composição em compostos fenólicos na salmoura com azeitona mista e verde (g ácido gálico/L salmoura) e na azeitona mista e verde (g ácido gálico/kg azeitona) ao longo do tempo de fermentação.

Minerais da azeitona e salmoura de fermentação

Sódio

Na Figura 3.12 está representada a evolução da composição em sódio (g mineral/L ou kg) das salmouras e azeitonas ao longo da fermentação.

Pode-se observar que o conteúdo em sódio das azeitonas mista e verde aumentou ao longo da fermentação para valores finais de $13,87 \pm 0,33$ e $13,94 \pm 0,54$ g sódio/kg azeitona, pois o sódio da salmoura difundiu-se para a azeitona, sendo essa difusão mais

acentuada no início da fermentação. Simultaneamente o teor em Na diminuiu nas respectivas salmouras até que se atingiu um equilíbrio. As salmouras com azeitona mista e verde têm um conteúdo em sódio final de $18,38 \pm 2,29$ e $17,46 \pm 1,10$ g sódio/L salmoura, respetivamente. O sódio é o único elemento habitualmente adicionado durante o processamento, por isso está presente em elevadas concentrações na azeitona durante a fermentação (López *et al.*, 2008). Segundo Bautista-Gallego *et al.* (2011), o nível de sódio na polpa de azeitona fermentada dependeu principalmente da concentração inicial de NaCl na salmoura, pois a penetração de NaCl na azeitona é uma questão de difusão e equilíbrio sem qualquer interação química com a própria azeitona ou outro sal. Panagou *et al.* (2011) encontraram um valor de 10,08 g/kg em azeitona Conservolea preta ao natural, após 55 dias de fermentação. Foi observado o mesmo comportamento que neste estudo relativamente ao sódio em azeitonas verdes, tendo este aumentado de 0,20 para 15,33 g/kg no final da fermentação (Uñal *et al.*, 2003).

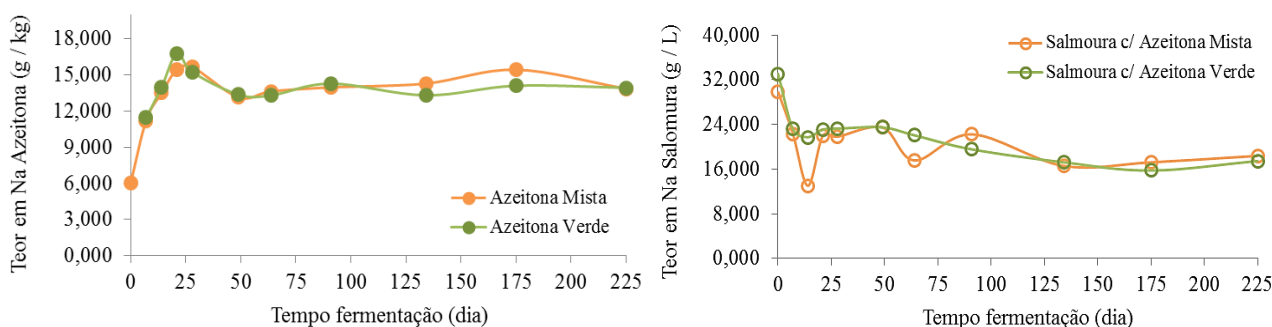


Figura 3.12. Evolução da composição em sódio da azeitona mista e verde (g sódio/kg azeitona) e das salmouras (g sódio/L salmoura) ao longo da fermentação.

Cálcio

Na Figura 3.13 está representada a evolução da composição em cálcio (g mineral/L ou kg) das salmouras e azeitonas mista e verde ao longo da fermentação.

Pode observar-se que o conteúdo em cálcio da salmoura com azeitona mista e verde aumentou até ao 14º dia seguidamente diminuiu até ao 64º dia, mantendo-se depois constante até ao final da fermentação, atingindo valores finais de $0,63 \pm 0,16$ e $0,80 \pm 0,10$ g cálcio/L salmoura. O conteúdo em cálcio da azeitona mista manteve-se constante

ao longo da fermentação obtendo-se um valor final de $0,59 \pm 0,01$ g cálcio/kg azeitona e o da azeitona verde aumentou ligeiramente até ao final da fermentação para um valor final de $1,12 \pm 0,05$ g cálcio/kg azeitona. Castro *et al.* (2007) referem que a polpa da azeitona pode absorver o Ca, retê-lo. De acordo com estes autores, este mineral não é perdido durante os tratamentos que envolvem o processamento da azeitona. O cálcio é eficaz na prevenção do amolecimento do fruto por estar envolvido em ligações cruzadas com os polímeros da parede celular (Castro *et al.*, 2007). Uñal *et al.* (2003) verificaram que o cálcio da azeitona mista Memecik se manteve constante ao longo da fermentação com um valor inicial e final de 0,440 e 0,440 g /kg, respetivamente, valores próximos dos encontrados neste estudo na azeitona mista.

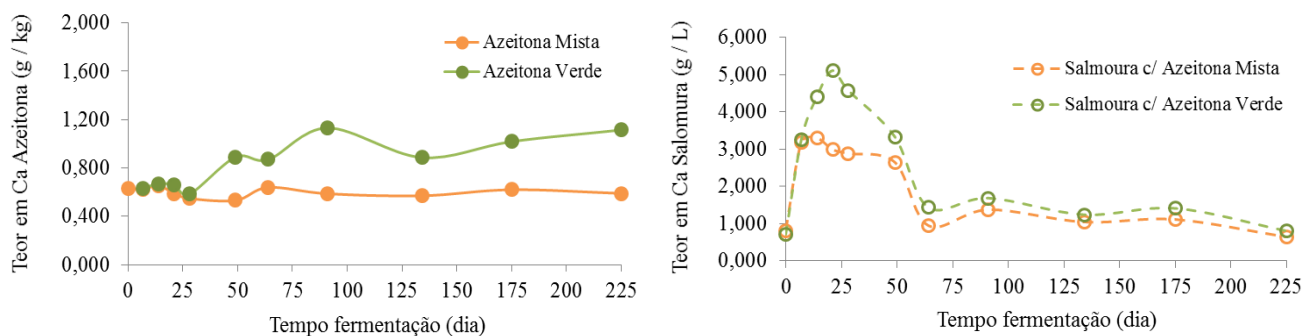


Figura 3.13. Evolução da composição em cálcio da azeitona mista e verde (g cálcio/kg azeitona) e das salmouras (g cálcio/L salmoura) ao longo da fermentação.

Potássio

Na Figura 3.14 está representada a evolução da composição em potássio (g potássio/ L ou kg) das salmouras e azeitonas ao longo da fermentação.

Pode constatar-se que o teor em potássio das salmouras com azeitona mista e verde sofreu uma variação nos primeiros 49 dias de fermentação, mantendo-se depois razoavelmente constante até ao final da fermentação, observando-se valores superiores para a salmoura com azeitona verde, parecendo sugerir que neste estado de maturação a azeitona facilita a difusão do K para a salmoura. Atingiram-se valores finais de $1,79 \pm 0,00$ e $2,59 \pm 0,19$ g potássio/L salmoura nas salmouras com azeitona mista e verde,

respetivamente. O conteúdo em potássio das azeitonas mista e verde diminuiu até ao 28º dia, a partir do qual se manteve constante até ao final da fermentação obtendo-se valores finais de $1,42 \pm 0,04$ e $1,74 \pm 0,03$ g potássio/kg azeitona, respetivamente. Também se observou uma diminuição do potássio em azeitonas de mesa verdes de 2,94 para 1,13 g/kg azeitona durante a fermentação (Uñal *et al.*, 2003). Saúde (2014) também verificou um comportamento semelhante ao ocorrido neste estudo, em que o conteúdo em potássio da azeitona Maçanilha diminuiu aproximadamente para metade até ao final da fermentação. O potássio não é tão bem absorvido pela polpa da azeitona como o cálcio e é progressivamente perdido durante o processamento (López *et al.*, 2008).

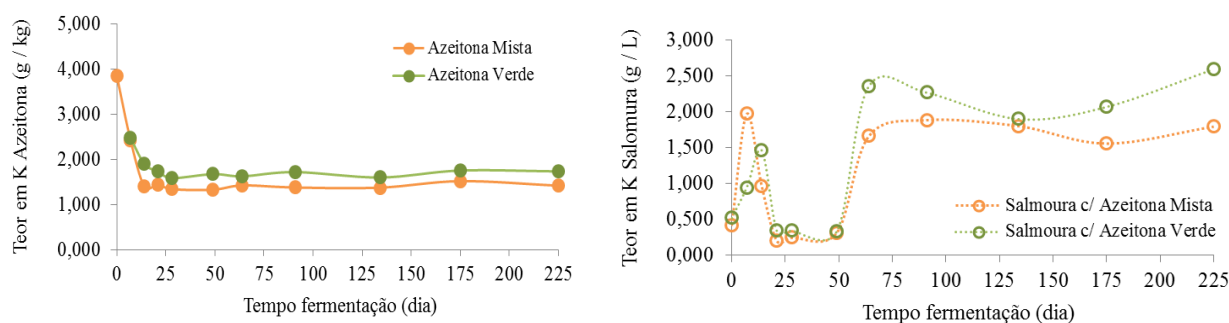


Figura 3.14. Evolução da composição em potássio da azeitona mista e verde (g potássio/kg azeitona) e das salmouras (g potássio/L salmoura) ao longo da fermentação.

3.2 Influência do grau de maturação nas características físico-químicas, nutricionais, sensoriais e biológicas

Com o avançar da maturação, a azeitona exibe um conjunto de alterações, ao nível do tamanho, cor, textura, sabor e também na composição química e nutricional. Este desenvolvimento do fruto é uma combinação de reações bioquímicas e fisiológicas que dependem das condições do ambiente e das características genéticas da cultivar (Mendes, 2012).

Após a fermentação, caracterizou-se a azeitona de mesa Cobrançosa mista e verde ambas obtidas em salmoura com 8 % NaCl, por análise dos parâmetros biométricos, parâmetros físico-químicos de pH, acidez livre, acidez total, teor de sal, a_w , cor e textura, composição nutricional e caracterização organolética.

Caracterização biométrica

Na Tabela 3.1 apresentam-se os resultados obtidos na determinação dos parâmetros biométricos da azeitona de mesa Cobrançosa mista e verde.

Tabela 3.1. Parâmetros biométricos da azeitona de mesa Cobrançosa mista e verde.

| | Azeitona mista | Azeitona verde |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Comprimento fruto (mm) | 23,49 ± 2,35 | 23,18 ± 1,24 |
| Largura fruto (mm) | 16,94 ± 1,49 | 15,43 ± 0,92 |
| Peso fruto (g) | 4,41 ± 0,89 | 3,55 ± 0,53 |
| Comprimento carroço (mm) | 17,24 ± 2,07 | 17,76 ± 1,12 |
| Largura carroço (mm) | 8,33 ± 1,26 | 8,28 ± 0,53 |
| Peso carroço (g) | 0,99 ± 0,37 | 0,82 ± 0,13 |
| Espessura polpa (mm) | 4,30 ± 0,11 | 3,58 ± 0,53 |
| Peso polpa (g) | 3,42 ± 1,00 | 2,73 ± 0,58 |
| Fração edível (%) | 76,50 ± 10,55 | 76,36 ± 5,56 |

Verificou-se que não existem diferenças significativas, entre a azeitona mista e verde, no comprimento e nas dimensões e peso do carroço (Teste T, $p > 0,05$), sendo a azeitona mista ligeiramente maior (23,49 mm de comprimento e 16,94 mm de largura), com um carroço mais pesado (0,99 g), o que se deve ao estado de maturação mais avançado. Segundo Conde *et al.* (2008) o fruto aumenta de tamanho com o avançar da

maturação, devido ao desenvolvimento do mesocarpo principalmente por expansão de células existentes na polpa e acumulação intensa de gordura.

Nogueira (2012), que determinou os parâmetros biométricos de azeitona de mesa Cobrançosa retalhada mista e verde, obteve valores ligeiramente inferiores de 3,85 g, 0,64 g, 22,54 mm e 16,18 mm relativamente ao peso de azeitonas, peso dos caroços, comprimento de azeitonas e comprimento dos caroços, respetivamente. Almeida (2013) também obteve valores semelhantes em azeitona de mesa Cobrançosa de 3,99 g, 0,61 g, 21,70 mm e 15,20 mm relativamente ao peso de azeitonas, peso dos caroços, comprimento de azeitonas e comprimento dos caroços, respetivamente.

As Figuras 3.15, 3.16 e 3.17, relativas à azeitona mista e verde, representam a azeitona inteira deitada e vista de cima, o caroço deitado e visto de cima e o corte transversal da azeitona.

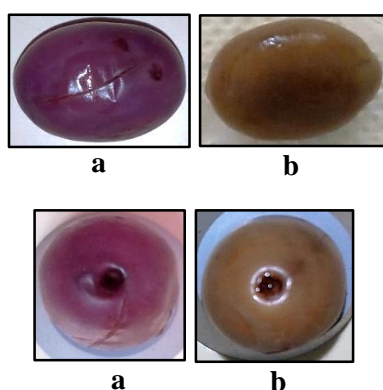


Figura 3.15. Azeitona inteira mista (a) e verde (b).

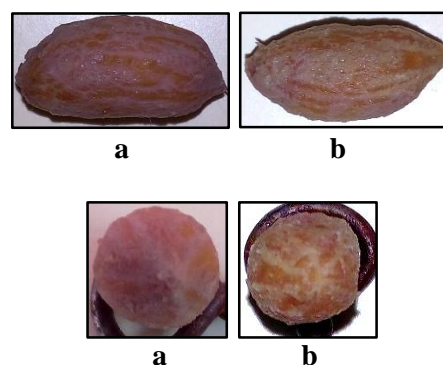


Figura 3.16. Caroço de azeitona mista (a) e verde (b).

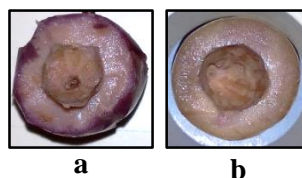


Figura 3.17. Corte transversal da azeitona mista (a) e verde (b).

A fração edível é de extrema importância quando relacionada com a produção de azeitona de mesa, pois é desejável que a azeitona tenha muita polpa e pouco caroço. Pela diferença entre o peso da polpa e do endocarpo obtém-se o valor da polpa de cada fruto (Nogueira, 2012).

Verificou-se que não existem diferenças significativas na fração edível entre a azeitona mista e verde (Teste T, $p > 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos, apesar de ambas as azeitonas mistas e verdes, da cultivar Cobrançosa apresentarem uma fração edível razoável, a mista é que possui uma fração edível mais favorável que a verde pois tem um valor médio ligeiramente mais elevado. A azeitona mista tem 3 vezes mais polpa (76,5 %) que caroço (23,5 %), apresentando valores que se encontram dentro dos limites referidos por Bianchi (2003) de 70 - 80 % para a fração em polpa e ≤ 22 % para a fração em caroço. Saúde (2014) também estudou a fração edível de azeitona de mesa verde britada da cultivar Maçanilha e obteve uma fração edível de 74,19 %, semelhante à encontrada neste estudo.

Caracterização físico-química

Na Tabela 3.2 estão representados os resultados dos parâmetros físico-químicos da azeitona de mesa Cobrançosa mista e verde, obtidos após 225 dias de fermentação natural.

Tabela 3.2. Parâmetros físico-químicos da azeitona de mesa mista e verde.

| | Azeitona mista | Azeitona verde |
|--|-----------------------|-----------------------|
| pH | 4,46 ± 0,00 | 4,70 ± 0,00 |
| Acidez livre (g ácido láctico/100 g azeitona) | 0,15 ± 0,00 | 0,15 ± 0,00 |
| Acidez total (g ácido láctico/100 g azeitona) | 1,80 ± 0,04 | 1,92 ± 0,01 |
| Teor de sal (% NaCl) | 4,34 ± 0,00 | 4,13 ± 0,00 |
| a_w | 0,94 ± 0,00 | 0,94 ± 0,00 |
| L | 28,26 ± 3,32 | 38,15 ± 0,00 |
| a | 3,50 ± 0,88 | 2,15 ± 0,00 |
| b | 4,72 ± 2,89 | 6,89 ± 0,00 |
| - (a/b) | -1,09 ± 2,27 | -0,36 ± 0,11 |
| Dureza (g) | 244,00 ± 102,10 | 353,75 ± 33,44 |
| Firmeza (N/kg) | 2566,62 ± 1032,16 | 3455,68 ± 831,90 |

A azeitona de mesa Cobrançosa mista apresentou uma cor violeta, que se caracterizou por uma luminosidade mais baixa (28,26) do que a da azeitona verde (38,15). Ramírez *et al.* (2014) obtiveram valores de L, a e b mais elevados em azeitona

de mesa ao natural Maçanilha de 48,64, 5,79 e 29,92, respetivamente. Durante o período de maturação ocorrem diversas modificações bioquímicas no fruto, muitas das quais expressas por alterações da cor (Peres *et al.*, 2012). O escurecimento que normalmente ocorre em frutas e hortaliças durante o seu processamento é devido à ação das polifenoloxidasas que reagem com os seus substratos, os compostos fenólicos (monofenol e o-difenol), na presença de oxigénio. Na maioria das cultivares a coloração do epicarpo do fruto inicia-se pelo ápice e continua até ao extremo oposto, junto ao pedúnculo (Ramalheiro, 2009).

É bem conhecido que, de acordo com vários estudos, a estrutura e composição da parede celular da azeitona afetam a sua textura e as alterações bioquímicas que ocorrem durante o seu amadurecimento e processamento (Galanakis, 2011). Mudanças na parede celular dos polissacarídeos, compostos essencialmente por polissacarídeos pécnicos, desempenham um papel importante na alteração da textura da azeitona durante o amadurecimento. Estas alterações na textura resultam da atividade de enzimas que degradam a parede celular, que estão no seu máximo na fase de mudança de cor da azeitona. No início da maturação, quando a azeitona muda da cor verde para roxo, as pectinas tornam-se menos ramificadas e assim a azeitona torna-se menos dura (Mafra *et al.*, 2001). É por essa razão que neste estudo a azeitona de mesa verde apresentou uma dureza mais elevada (353,75 g) do que a mista (244,00 g). Purhagen (2013), que determinou a dureza de azeitonas de mesa preta e verde obteve valores de 309 g e 602 g, respetivamente. Foram também obtidos valores elevados em azeitona de mesa verde Maçanilha de 390,00 g (Rodríguez-Gómez *et al.*, 2014). Estes valores são mais elevados que os encontrados neste estudo devido às cultivares serem diferentes.

Os valores de pH da azeitona de mesa Cobrançosa, de 4,46 na azeitona mista e 4,70 na azeitona verde, são semelhantes aos obtidos por Kiai & Hafidi (2014) em azeitonas de mesa verdes de diferentes variedades que encontraram valores finais variando de 4,20 a 4,60. Chorianopoulos *et al.* (2005) obteve um pH mais baixo que neste estudo em azeitona de mesa verde de 4,20. Durante a fermentação da azeitona, ocorre diminuição do pH devido à transformação dos açúcares (principalmente glucose, frutose e sucrose) em ácidos orgânicos (Cabezas, 2011). Os valores de pH encontrados parecem sugerir que a produção de ácidos orgânicos durante a fermentação e a diminuição do pH no caso da azeitona verde não é tão evidente como em azeitona mista.

Os valores de acidez livre da azeitona mista e verde observados foram iguais (0,15 g ácido láctico/100 g azeitona). O valor mais baixo de acidez total obtido foi na

azeitona de mesa mista. Durante a fermentação, há produção de ácidos produzidos por microrganismos fermentativos. A diferença entre os valores de acidez total da azeitona mista e verde pode estar relacionada com a difusão dos ácidos gordos livres para a salmoura, que leva a um aumento da acidez na salmoura e uma diminuição na azeitona, pelo que faz parecer que a difusão dos ácidos gordos da azeitona verde para a salmoura seja menos facilitada do que na azeitona mista (Sakouhi *et al.*, 2008). Segundo Chorianopoulos *et al.* (2005) a acidez final de azeitonas verdes de diferentes variedades foi de 0,25 g ácido láctico/ 100 mL.

Verificou-se que o teor de sal da azeitona de mesa mista Cobrançosa foi ligeiramente mais elevado (4,34 %) que o da azeitona verde (4,13 %). Isto deve-se provavelmente ao facto da azeitona mista ter uma textura menos dura, o que facilita a difusão do NaCl da salmoura para a azeitona e ao facto da azeitona mista ter uma concentração inicial de NaCl superior à azeitona verde. Com efeito, em azeitonas com elevada dureza do epicarpo e mesocarpo, características de estados de maturação menos avançados, é necessário um tratamento mais prolongado ou uma solução salina mais concentrada (Pintado *et al.*, 2006). Moreira (2013), que estudou a produção de azeitona de mesa ao natural da cultivar Galega, obteve um teor de NaCl superior de 6,01 %, ao fim de 90 dias de fermentação.

Verificou-se que não existem diferenças significativas entre o a_w da azeitona mista e o a_w da azeitona verde (Teste T, $p > 0,05$). Obteve-se um a_w de 0,94 na azeitona mista e verde. Arroyo-López *et al.* (2012) obtiveram valores ligeiramente mais elevados em azeitonas de mesa *Carolea* verde e mista de 0,98 e 0,99, respetivamente.

Caracterização nutricional

Na Tabela 3.3 estão representados os resultados da composição nutricional da azeitona de mesa Cobrançosa mista e verde, obtidos após 225 dias de fermentação natural.

Tabela 3.3. Composição nutricional da azeitona de mesa mista e verde (por 100 g polpa azeitona, média ± desvio padrão).

| | Azeitona mista | Azeitona verde |
|--|-----------------------|-----------------------|
| Valor energético (Kcal) | 205,46 ± 7,27 | 201,94 ± 4,23 |
| Humidade (g) | 67,60 ± 0,09 | 68,52 ± 0,11 |
| Hidratos de carbono (g) | 3,50 ± 0,05 | 2,14 ± 0,97 |
| Açúcares redutores (g glucose) | 0,18 ± 0,00 | 0,18 ± 0,00 |
| Proteínas (g) | 1,24 ± 0,05 | 1,35 ± 0,01 |
| Lípidos (g) | 20,74 ± 0,79 | 20,88 ± 0,90 |
| Fibras (g) | 2,69 ± 0,90 | 2,84 ± 0,15 |
| Cinzas (g) | 4,28 ± 0,02 | 4,24 ± 0,03 |
| Sódio (g) | 1,39 ± 0,03 | 1,39 ± 0,05 |
| Cálcio (g) | 0,06 ± 0,00 | 0,11 ± 0,01 |
| Potássio (g) | 0,14 ± 0,00 | 0,17 ± 0,00 |
| Compostos fenólicos (g ácido gálico) | 0,16 ± 0,01 | 0,14 ± 0,01 |
| Atividade antioxidante, EC₅₀ (mg/mL) | 0,68 ± 0,03 | 0,78 ± 0,05 |

A água é o componente maioritário da azeitona de mesa, tendo-se observado um valor superior na azeitona verde (68,52 g). Foram encontrados valores superiores por Sousa *et al.* (2011) que obteve níveis médios de 72,50 % em azeitonas “Alcaparras”, provavelmente devido ao diferente processamento desta azeitona.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3.3, a azeitona de mesa mista apresenta um valor energético superior à azeitona verde porém a diferença entre os valores energéticos não é significativa (Teste T, $p > 0,05$). O valor energético está maioritariamente relacionado com o teor de gordura, que é semelhante em ambas as azeitonas. Segundo Ünal & Nergiz (2003), o valor energético das azeitonas de mesa verdes é inferior ao das azeitonas de mesa pretas, devido ao seu reduzido teor de gordura.

Verificou-se que não existem diferenças significativas no conteúdo em hidratos de carbono entre a azeitona de mesa mista e a azeitona de mesa verde (Teste T, $p > 0,05$). Relativamente aos açúcares redutores, estes foram iguais em ambas as azeitonas

(0,18 glucose/100 g polpa de azeitona). Saúde (2014) encontrou valores mais elevados de hidratos de carbono em azeitona de mesa Maçanilha fermentada em salmoura com 8 % NaCl, de 7,79 g/ 100 g de azeitona. Isto deve-se provavelmente à diferença entre cultivares. Kiai & Hafidi (2014) encontraram valores mais elevados de açúcares redutores, em azeitonas de mesa verdes de diferentes variedades fermentadas naturalmente, de 2,06 g glucose/ 100 g (Sevillana e Ascolana) e 1,40 g glucose/ 100 g (Moroccan e Languedoc Picholine). O facto dos açúcares da azeitona Cobrançosa serem mais baixos, pode estar relacionado com a diferença entre cultivares, visto que o nível de açúcares decresce em cultivares que contêm um maior conteúdo em gordura (Nergiz & Engez, 2000). Estas diferenças também podem estar relacionadas com a rápida difusão dos açúcares através da película da azeitona Cobrançosa para o meio (Gómez *et al.*, 2006). Uma vez na salmoura, os açúcares são utilizados como fonte de energia pela microbiota existente para o seu normal desenvolvimento e consequente fermentação (Malheiro, 2010).

Relativamente ao conteúdo em lípidos, a azeitona de mesa mista teve um valor ligeiramente mais baixo (20,74 g) que a verde (20,88 g). Este resultado pode ser explicado pelo facto da polpa da azeitona mista ser mais macia, o que aumenta o movimento dos ácidos gordos para a salmoura (Sakouhi *et al.*, 2008). López *et al.* (2006) que estudaram o conteúdo em lípidos da azeitona de mesa Gordal e Hojiblanca encontraram valores de lípidos totais semelhantes de 18,94 e 18,14 %, respetivamente. Malheiro (2010) encontrou um valor inferior de 16,50 % de lípidos totais em azeitona de mesa Cobrançosa. O valor mais baixo encontrado por Malheiro (2010), pode estar relacionado com as condições edafo-climáticas ou com o método de processamento utilizado (Sousa *et al.*, 2011). O conteúdo em gordura da azeitona aumenta muito na fase de desenvolvimento do mesocarpo e continua a aumentar, embora mais lentamente, após esta fase. Este é considerado o melhor tempo de colheita, quando a polpa da azeitona tem um equilíbrio perfeito em ácidos gordos, do ponto de vista de equilíbrio nutricional e oxidativo (Conde, 2008).

As azeitonas de mesa Cobrançosa mista e verde apresentaram um valor em proteínas relativamente baixo, sendo que não existem diferenças significativas entre ambas as azeitonas (Teste T, $p > 0,05$). Malheiro (2010) determinou a composição nutricional de azeitonas de mesa Cobrançosa e verificou que as azeitonas apresentavam 1,40 % de proteínas, valor semelhante aos encontrados neste estudo. Ünal & Nergiz (2003) também encontraram valores semelhantes em azeitonas pretas ao natural que

oscilaram entre 1,09 % e 1,58 %. Durante a fermentação, a azeitona Cobrançosa não sofreu grandes alterações, visto que o conteúdo em proteínas da azeitona fresca era semelhante.

As fibras estão relacionadas com as alterações bioquímicas da parede celular de polissacarídeos durante a maturação da azeitona e no seu processamento pós-colheita. O amolecimento do fruto ocorre geralmente devido a modificações dos componentes das fibras com a seguinte ordem de prioridade: polissacarídeos pécnicos, hemiceluloses e celulose (Cardoso *et al.*, 2007). O conteúdo em fibras da azeitona de mesa verde é mais elevado que a mista. Isto porque, na fase de mudança de cor ou na fase em que a azeitona é roxa ou preta, a elevada atividade da parede celular e endoglucanases citoplasmáticas induz a degradação das fibras (celulose e hemicelulose) (Galanakis, 2011). De acordo com um estudo realizado por Cardoso *et al.* (2010), a azeitona de mesa Taggiasca produzida por fermentação natural não apresentou variações significativas na composição da parede celular de polissacarídeos, mas os polissacarídeos pécnicos tornaram-se mais solúveis em soluções aquosas. López-López *et al.* (2007) encontraram valores de fibras mais elevados que neste estudo em azeitonas de mesa Maçanilha, Hojiblanca e Arbequina produzidas por fermentação natural, após 3 meses de armazenamento, de 2,94, 2,92 e 4,06 %, respetivamente. Estas diferenças sugerem que as fibras também são influenciadas pelas condições edafo-climáticas a que a azeitona foi sujeita durante o seu desenvolvimento (Saúde, 2014).

Os teores em cinza observados na azeitona Cobrançosa mista e verde (~ 4,2 %) são superiores ao valor de 3,5 % encontrado por Kailis & Harris (2007) em azeitona de mesa Maçanilha produzida por fermentação natural. O teor em cinzas está relacionado com o conteúdo em minerais da azeitona e com a concentração em sais na salmoura que durante a fermentação migram para a azeitona (Saúde, 2014). Assim, é de esperar que o valor deste constituinte aumente durante o período de fermentação e que a presença de teores reduzidos de cinzas indique um baixo teor em sal (Nogueira, 2012).

Quanto ao conteúdo em compostos fenólicos, verificou-se que existem diferenças significativas entre a azeitona mista e verde (Teste T, $p < 0,05$). A azeitona é rica em compostos fenólicos que representam 1 a 14 % de peso de polpa seca (Elbir *et al.*, 2012). Existem três fases distintas no desenvolvimento e amadurecimento da azeitona: uma fase de crescimento, durante a qual ocorre acumulação de oleuropeína; uma fase de maturação verde que coincide com uma redução nos níveis de clorofila e oleuropeína; e uma fase de maturação preta que se caracteriza pelo aparecimento de

antocianinas e flavonóides e durante a qual os níveis de oleuropeína continuam a diminuir (Charoenprasert & Mitchell, 2012). Esta diminuição do conteúdo em compostos fenólicos que ocorre durante a fase de maturação preta está relacionada com a atividade aumentada das enzimas hidrolíticas observadas durante este período (Conde *et al.*, 2008). Morelló *et al.* (2004) e Esti *et al.* (1998) sugeriram que as concentrações de oleuropeína decrescem com o desenvolvimento fisiológico do fruto e continua a diminuir durante a fase de maturação preta, que é caracterizada pelo aparecimento de antocianinas. Malheiro *et al.* (2011) que determinaram os compostos fenólicos em azeitona de mesa Cobrançosa processada pelo estilo grego, obtiveram um total de 0,02 g/ 100 g de peso fresco, valor muito mais baixo que o encontrado neste estudo. Isto deve-se provavelmente ao facto da azeitona ter sido britada e não retalhada como neste estudo. Na azeitona britada, a taxa de difusão dos solutos dá-se mais rapidamente devido à exposição dos tecidos internos do fruto provocada pela britagem (Arroyo-López *et al.*, 2007). Marsílio *et al.* (2008) encontraram um valor de 0,25 g/ 100 g em azeitonas processadas pelo estilo grego após 5 meses de fermentação. Este conteúdo foi ligeiramente mais elevado que no presente estudo pois utilizaram diferentes cultivares e determinaram os compostos fenólicos após 5 meses de fermentação.

A atividade antioxidante, medida pela concentração de extrato a que corresponde 50 % de inibição do radical livre *DPPH*[•] (*EC*₅₀), da azeitona de mesa mista foi mais elevada que na verde, embora tenha ocorrido uma diminuição em ambas as azeitonas, do início (antes processamento) para o fim da fermentação. Os compostos fenólicos são responsáveis pelas propriedades antioxidantes, protegendo o organismo de doenças em que os radicais livres e microrganismos patogénicos estão envolvidos (Charoenprasert & Mitchell, 2012). O potencial antioxidante das azeitonas de mesa pode ser influenciado pelos diferentes processos tecnológicos aplicados às azeitonas, sendo um dos fatores mais importantes a perda de compostos fenólicos (Malheiro, 2010). Pereira *et al.* (2006) concluíram que as azeitonas de mesa com maior conteúdo em compostos fenólicos (processadas segundo fermentação natural) apresentam uma maior atividade antioxidante. Isto verificou-se neste estudo, uma vez que o conteúdo em compostos fenólicos da azeitona de mesa mista é mais elevado e conseqüentemente a atividade antioxidante é maior nesta azeitona (0,68 mg/mL), sendo necessária uma concentração menor do seu extrato para inibir a 50 % o radical livre *DPPH*[•]. Estudos realizados com azeitona de mesa Cobrançosa e Santulhana mostraram valores mais elevados de atividade antioxidante, a que corresponderam valores inferiores de *EC*₅₀, 0,48 e 0,46

mg/mL, respetivamente (Malheiro *et al.*, 2011). Kiai & Hafidi (2014) estudaram a atividade antioxidante de azeitona Sevillana após 71 dias de fermentação natural e obtiveram um valor de 0,56 mg/mL, valor semelhante aos encontrados neste estudo.

A composição em sódio foi semelhante em ambas as azeitonas de mesa. No que diz respeito à composição em cálcio e potássio, verificou-se que existem diferenças significativas entre a azeitona mista e verde (Teste T, $p < 0,05$), sendo o conteúdo em cálcio e potássio mais elevado na azeitona de mesa verde. Como também ocorre em muitos vegetais, o potássio é o mineral mais abundante das azeitonas. O conteúdo em cálcio nas azeitonas de mesa também é elevado (López *et al.*, 2008). As azeitonas de mesa podem contribuir para a ingestão diária (1000 mg) de cálcio (CFR, 2003), especialmente em países com o padrão alimentar da Dieta Mediterrânea. Durante a maturação do fruto, entre Setembro e Dezembro, Nergiz & Engez (2000), verificaram que o conteúdo em sódio de azeitonas de diferentes cultivares aumentou, o potássio manteve-se constante e o conteúdo em cálcio diminuiu. Essas diferenças em minerais podem ser devidas à variedade da azeitona, distribuição de elementos no solo, bem como as condições ambientais e climáticas durante o período de amostragem (Nergiz & Engez, 2000). López *et al.*, (2008), que estudaram a composição em minerais de azeitona de mesa Arbequina, encontraram valores de sódio, cálcio e potássio de 1,32, 0,06 e 0,06 g/kg, respetivamente. O teor de sódio, cálcio e potássio em azeitona de mesa Gordal foi de 1,27, 0,04 e 1,02 g/kg, respetivamente (López *et al.*, 2008).

Caracterização organolética

A Figura 3.18 representa a avaliação sensorial da azeitona de mesa mista e verde realizada por um painel de 23 provadores, que utilizaram uma escala hedónica em que 1 é o valor mínimo e 7 o valor máximo, correspondente a cada parâmetro.

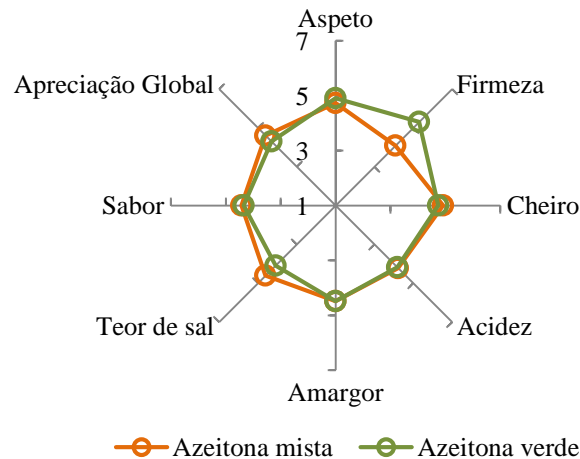


Figura 3.18. Resultados da análise sensorial da azeitona mista e verde no final da fermentação.

Durante a fermentação, a azeitona vai ficando menos dura, menos amarga devido à diminuição da oleuropeína que é responsável pelo sabor amargo, mais ácida devido à produção de ácidos por microrganismos fermentativos e mais salgada devido à utilização do NaCl como ingrediente da salmoura (Marsílio *et al.*, 2008; Kailis & Harris, 2007; Mafra *et al.*, 2001).

Os provadores consideraram que a azeitona verde apresentava uma maior firmeza e um teor de sal mais baixo que a azeitona mista. Encontraram-se diferenças significativas na firmeza e no teor de sal entre a azeitona mista e verde (Teste T, $p < 0,05$). A melhor apreciação global foi atribuída à azeitona mista com 4,609 pontos.

Tradicionalmente, a azeitona mista ao natural é temperada com alho, limão e orégãos, sendo principalmente consumida como aperitivo. Deste modo, procedeu-se a uma prova sensorial de azeitona temperada para averiguar se este procedimento de tempero conduzia a alterações nas características organoléticas da azeitona.

Na Figura 3.19 está representada a avaliação sensorial da azeitona mista e verde fermentada e temperada.

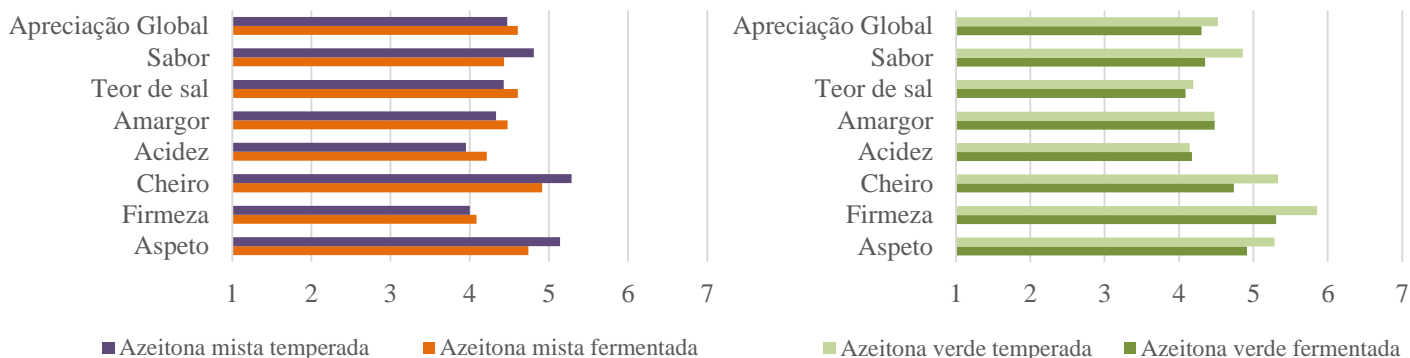


Figura 3.19. Resultados da análise sensorial das azeitonas fermentadas e temperadas.

Relativamente à azeitona mista, verificou-se que não existem diferenças significativas entre a azeitona mista temperada e fermentada relativamente a todos os atributos (Teste T, $p > 0,05$). Apesar disso, os provadores consideraram que a azeitona mista temperada apresentava um sabor e cheiro mais agradáveis e um melhor aspeto.

No que respeita à azeitona verde, os provadores também apreciaram mais a temperada quanto ao sabor, cheiro e aspeto devido ao tempero adicionado. Quanto à azeitona verde temperada e não temperada, verificou-se que não existem diferenças significativas em todos os atributos (Teste T, $p > 0,05$).

Das azeitonas temperadas, a verde foi a mais apreciada globalmente com 4,524 pontos devido a uma melhor avaliação no cheiro, firmeza, sabor e aspeto.

Assim, apesar de não existirem diferenças significativas entre a azeitona por temperar e a azeitona temperada, pode-se concluir que o tempero com alho, limão e orégãos contribuiu para melhorar o sabor, o cheiro e o aspeto das azeitonas de mesa Cobrançosa mista e verde.

3.3 Efeito da presença de KCl nas salmouras de fermentação sobre as características da azeitona Cobrançosa retalhada

Quando a ingestão excessiva de sódio for mantida por longos períodos de tempo, pode provocar danos e falhas nos tecidos, considerando-se que uma das manifestações que resulta destes danos é a hipertensão arterial (Viegas, 2008). O consumo excessivo de sal também está associado a outras patologias crônicas, tais como, o acidente vascular cerebral, a doença coronária isquêmica, a insuficiência cardíaca, a obesidade, a diabetes, a asma, a osteoporose, doenças renais, entre outras (Costa & Bragança, 2008).

Existem vários estudos sobre a substituição total ou parcial de NaCl por KCl, na fermentação de azeitona de mesa processada de acordo com diferentes estilos (Arroyo-López *et al.*, 2007; Bautista-Gallego *et al.*, 2010, 2011; Panagou *et al.*, 2011; Saúde, 2014). A produção de azeitona de mesa verde britada da cultivar Maçanilha por fermentação em salmoura com 4 % NaCl e 4 % KCl reduziu o teor em sódio daquele alimento (Saúde, 2014).

O enriquecimento da azeitona de mesa com potássio tem efeitos benéficos para a saúde, pois uma dieta rica neste mineral é recomendada para diminuir a pressão arterial (Geleijnse *et al.*, 2003).

Assim, procedeu-se à análise dos parâmetros físico-químicos, composição nutricional e caracterização organolética da azeitona de mesa mista fermentada em salmoura com 8 % NaCl e da azeitona de mesa mista fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl.

Caracterização físico-química

Na Tabela 3.4 estão representados os resultados dos parâmetros físico-químicos da azeitona de mesa Cobrançosa mista fermentada em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl e mesma azeitona de mesa produzida em 8 % NaCl.

Tabela 3.4. Parâmetros físico-químicos de azeitona de mesa mista fermentada em salmouras de diferente concentração de sais (8 % NaCl e 4 % NaCl + 4 % KCl).

| | Azeitona mista (8 % NaCl) | Azeitona mista (4 % NaCl + 4 % KCl) |
|--|--------------------------------------|--|
| pH | 4,46 ± 0,00 | 4,52 ± 0,09 |
| Acidez livre (g ácido láctico/100 g azeitona) | 0,15 ± 0,00 | 0,19 ± 0,00 |
| Acidez total (g ácido láctico/100 g azeitona) | 1,80 ± 0,04 | 1,97 ± 0,01 |
| Teor de sal (% NaCl) | 4,34 ± 0,00 | 3,66 ± 0,00 |
| a_w | 0,94 ± 0,00 | 0,95 ± 0,00 |
| L | 28,26 ± 3,32 | 36,30 ± 2,94 |
| a | 3,50 ± 0,88 | 3,69 ± 0,90 |
| b | 4,72 ± 2,89 | 5,22 ± 2,46 |
| - (a/b) | -1,09 ± 2,27 | -1,12 ± 1,36 |
| Dureza (g) | 244,00 ± 102,10 | 271,82 ± 93,55 |
| Firmeza (N/kg) | 2566,62 ± 1032,16 | 3551,52 ± 1018,08 |

Os valores de pH da azeitona de mesa fermentada em 8 % NaCl e em 4 % NaCl + 4 % KCl não diferem significativamente entre si (Teste T, $p > 0,05$). Saúde (2014) também não observou diferenças significativas entre as azeitonas de mesa Maçanilha fermentadas em 8 % NaCl e 4 % NaCl + 4 % KCl e obteve valores finais de pH semelhantes aos obtidos neste estudo.

Quanto à acidez livre e total, existem diferenças significativas entre as azeitonas fermentadas em 8 % NaCl e em 4 % NaCl + 4 % KCl (Teste T, $p < 0,05$). A azeitona Cobrançosa fermentada em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl tem uma acidez livre e total maior, sendo que Panagou *et al.* (2011) também obtiveram uma acidez livre e total mais elevada com a combinação de NaCl + KCl na salmoura.

A a_w entre as azeitonas de mesa fermentadas com 8 % NaCl e com 4 % NaCl + 4 % KCl apresentou diferenças significativas (Teste T, $p < 0,05$). Obteve-se uma a_w maior na azeitona de mesa fermentada em salmoura com a combinação dos dois sais, também referido por Saúde (2014) e Panagou *et al.* (2011). Apesar deste parâmetro não ser muito afetado pela utilização de KCl, diferentes solutos podem ter efeitos adicionais antimicrobianos ou até estimuladores de crescimento que não podem ser explicados pelo efeito redutor sobre a a_w , podendo influenciar a estabilidade microbiana e a segurança do produto final (Saúde, 2014; Panagou *et al.*, 2011). Mas a combinação do NaCl com KCl na salmoura conduziu a pequenas alterações na a_w das azeitonas

Cobrançosa, assim não se modifica substancialmente o risco de deterioração da azeitona.

No que respeita ao teor de sal (% NaCl), verificou-se que existem diferenças significativas entre as azeitonas fermentadas em salmoura com 8 % NaCl e em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl (Teste T, $p < 0,05$). A azeitona de mesa fermentada com 8 % NaCl tem um teor de sal mais elevado que a azeitona fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl, também referido por Saúde (2014).

Relativamente aos parâmetros L, a, b e - (a/b), verificou-se que não existem diferenças significativas entre as azeitonas de mesa fermentadas com e sem KCl (Teste T, $p > 0,05$).

De acordo com os resultados (Tabela 3.4), observou-se que a luminosidade da azeitona de mesa Cobrançosa fermentada em salmoura com ambos os sais era mais elevada, sugerindo que a presença de KCl, combinado com NaCl, melhora a cor da azeitona, conduzindo a valores de - a/b mais baixo e L mais elevado, também referido por Bautista-Gallego *et al.*, (2011).

Verificou-se que não existem diferenças significativas entre a azeitona de mesa fermentada em 8 % NaCl e a azeitona fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl relativamente à dureza ou firmeza (Teste T, $p > 0,05$). Saúde (2014) também verificou que as azeitonas fermentadas em salmouras com 8 % NaCl e 4 % NaCl + 4 % KCl não apresentaram valores de dureza significativamente diferentes entre si.

A azeitona de mesa Cobrançosa fermentada na salmoura com a combinação de NaCl e KCl é ligeiramente mais dura, o que sugere que a presença de KCl possa prevenir o amolecimento das azeitonas (Arroyo-López *et al.*, 2007).

Caracterização nutricional

Na Tabela 3.5 estão representados os resultados da composição nutricional da azeitona de mesa Cobrançosa mista após 225 dias de fermentação natural em salmouras de 8 % NaCl e de 4 % NaCl + 4 % KCl.

Tabela 3.5. Composição nutricional da azeitona de mesa mista com 8 % NaCl e mista com 4 % KCl (por 100 g polpa azeitona, média \pm desvio padrão).

| | Azeitona mista (8 % NaCl) | Azeitona mista (4 % NaCl + 4 % KCl) |
|---|--------------------------------------|--|
| Valor energético (Kcal) | 205,46 \pm 7,27 | 217,55 \pm 1,08 |
| Humidade (g) | 67,60 \pm 0,09 | 66,92 \pm 0,03 |
| Hidratos de carbono (g) | 3,50 \pm 0,05 | 2,48 \pm 0,18 |
| Açúcares redutores (g glucose) | 0,18 \pm 0,00 | 0,18 \pm 0,00 |
| Proteínas (g) | 1,24 \pm 0,05 | 1,17 \pm 0,03 |
| Lípidos (g) | 20,74 \pm 0,79 | 22,54 \pm 0,04 |
| Fibras (g) | 2,69 \pm 0,90 | 2,84 \pm 0,24 |
| Cinzas (g) | 4,28 \pm 0,02 | 4,03 \pm 0,01 |
| Sódio (g) | 1,39 \pm 0,03 | 0,66 \pm 0,06 |
| Cálcio (g) | 0,06 \pm 0,00 | 0,25 \pm 0,01 |
| Potássio (g) | 0,14 \pm 0,00 | 0,83 \pm 0,02 |
| Compostos fenólicos (g ácido Gálico) | 0,16 \pm 0,01 | 0,17 \pm 0,00 |
| Atividade antioxidante, EC50 (mg/mL) | 0,68 \pm 0,03 | 0,72 \pm 0,07 |

Verificou-se que a azeitona de mesa obtida em salmoura sem KCl apresenta um menor valor energético pois contém um menor teor em lípidos, do qual depende maioritariamente o valor energético.

Observou-se um valor de água superior na azeitona de mesa fermentada com 8 % NaCl, apesar de não existirem diferenças significativas entre as ambas as azeitonas de mesa (Teste T, $p > 0,05$). Estes valores são superiores ao apontado por Saúde (2014) que obteve níveis médios de 62,26 g em azeitonas fermentadas com 4 % NaCl + 4 % KCl e 58,63 g em azeitonas fermentadas com 8 % NaCl, provavelmente devido à cultivar ser diferente.

No que diz respeito ao teor em hidratos de carbono, verificou-se que não existem diferenças significativas entre as ambas as azeitonas de mesa (Teste T, $p > 0,05$). Os valores em hidratos de carbono obtidos neste estudo foram aproximadamente metade dos valores reportados por Kailis & Harris (2007) e Saúde (2014), uma vez que utilizaram a cultivar Maçanilha.

Relativamente ao teor em proteína bruta, Kailis & Harris (2007) obtiveram 1,2 % em azeitona de mesa da cultivar Maçanilha produzida por fermentação natural, semelhante ao valor observado neste trabalho. A diferença no teor em proteína entre a

azeitona fermentada em salmoura com 8 % NaCl e a azeitona fermentada em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl não era significativa (Teste T, $p > 0,05$).

Quanto ao teor em lípidos, os valores obtidos neste estudo encontram-se ligeiramente abaixo do teor em lípidos da azeitona de mesa de cultivar Maçanilha (26,96 g com 8 % NaCl e 25,80 g com 4 % NaCl + 4 % KCl) citado por Saúde (2014). Esta diferença pode estar relacionada com a diferença entre cultivares e com as condições edafo-climáticas (Sousa *et al.*, 2011). Não existem diferenças significativas no teor em lípidos entre a azeitona fermentada em salmoura com 8 % NaCl e a azeitona fermentada em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl (Teste T, $p > 0,05$).

No teor em fibra, não existem diferenças significativas entre as azeitonas de mesa fermentadas nas diferentes salmouras (Teste T, $p > 0,05$). Obtiveram-se valores de fibras que se encontram em conformidade com o reportado por López-López *et al.* (2007) para a cultivar Maçanilha (2,94 %). Mas os valores de fibras da azeitona Cobrançosa são superiores aos reportados por Saúde (2014) para a cultivar Maçanilha que obteve valores de 1,87 g com 8 % NaCl e 1,55 g com 4 % NaCl + 4 % KCl. Isto sugere que este constituinte também é influenciado pelas condições edafo-climáticas a que a azeitona foi sujeita no seu desenvolvimento e à diferença entre cultivares.

Existem diferenças significativas no teor em cinza entre as azeitonas de mesa fermentadas nas diferentes salmouras (Teste T, $p < 0,05$). Os teores em cinza observados na azeitona, em ambas as salmouras, é mais elevado que o valor 3,5 % referido por Kailis & Harris (2007) em azeitona Maçanilha, o que pode estar relacionado com a mineralização da azeitona e com a concentração em sais na salmoura que durante a fermentação migram para a azeitona (Nogueira, 2012). Assim, é de esperar que o valor deste constituinte aumente durante a fermentação e que a presença de teores reduzidos de cinzas indique um baixo teor em sal (Nogueira, 2012).

Relativamente à concentração dos minerais Na^+ , K^+ e Ca^{2+} , existem diferenças significativas entre as azeitonas de mesa fermentadas nas diferentes salmouras (Teste T, $p > 0,05$). A concentração dos minerais Na^+ , K^+ ou Ca^{2+} na azeitona é tanto maior quanto maior é a concentração do respetivo catião na salmoura (Saúde, 2014).

O conteúdo em sódio da azeitona de mesa fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl é aproximadamente metade do da azeitona fermentada em 8 % NaCl, porém, a sua concentração em potássio é mais elevada. Saúde (2014) também obteve uma maior concentração de potássio (848,31 mg/100g azeitona) na azeitona fermentada com salmoura de 4 % NaCl + 4 % KCl. A concentração final destes minerais na azeitona

depende das suas concentrações iniciais na salmoura, porque a penetração destes sais em azeitonas depende da difusão da salmoura para a azeitona e não interfere com a presença de outros sais (Bautista-Gallego *et al.*, 2011; Panagou *et al.*, 2011). A azeitona fermentada na presença de KCl apresenta um teor de sal relativamente menor, tendo-se conseguido uma redução no teor de sal de 15,6 % com a reformulação da salmoura de fermentação pela substituição parcial de 4 % NaCl por 4 % KCl.

O conteúdo em cálcio da azeitona fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl é mais elevado, o que pode estar relacionado com a menor difusão de cálcio da azeitona para a polpa na presença de KCl na salmoura, também referido por Saúde (2014) (Bautista-Gallego *et al.*, 2011; Panagou *et al.*, 2011).

No que diz respeito à concentração final de açúcares redutores, não existem diferenças significativas entre a azeitona fermentada em salmoura com 8 % NaCl e a azeitona fermentada em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl (Teste T, $p > 0,05$). Saúde (2014), que trabalhou com azeitonas da cultivar Maçanilha produzidas por fermentação natural, também obteve valores de açúcares redutores semelhantes entre a azeitona de mesa fermentada com e sem KCl.

Relativamente ao conteúdo em compostos fenólicos, verificou-se que não existem diferenças significativas entre a azeitona fermentada sem KCl e a azeitona fermentada com KCl (Teste T, $p > 0,05$). Apesar de não existirem diferenças significativas, a azeitona de mesa fermentada com KCl apresentou um valor em compostos fenólicos ligeiramente maior, o que sugere que a presença do KCl conduz a uma maior retenção deste compostos. Romeo *et al.* (2009) verificaram que a azeitona verde após fermentação natural em salmoura com 8 % NaCl, teve uma concentração em compostos fenólicos de 2,72 g ácido gálico/kg de azeitona, superior ao valor observado neste trabalho.

Quanto à atividade antioxidante, verificou-se que não existem diferenças significativas entre a azeitona fermentada em salmoura com 8 % NaCl e a azeitona fermentada com 4 % NaCl + 4 % KCl (Teste T, $p > 0,05$). Isto sugere que a presença de KCl na salmoura não interfere na atividade antioxidante da azeitona.

Caracterização organolética

A Figura 3.20 representa a avaliação sensorial de azeitonas de mesa mista fermentadas em 8 % NaCl e em 4 % NaCl + 4 % KCl.

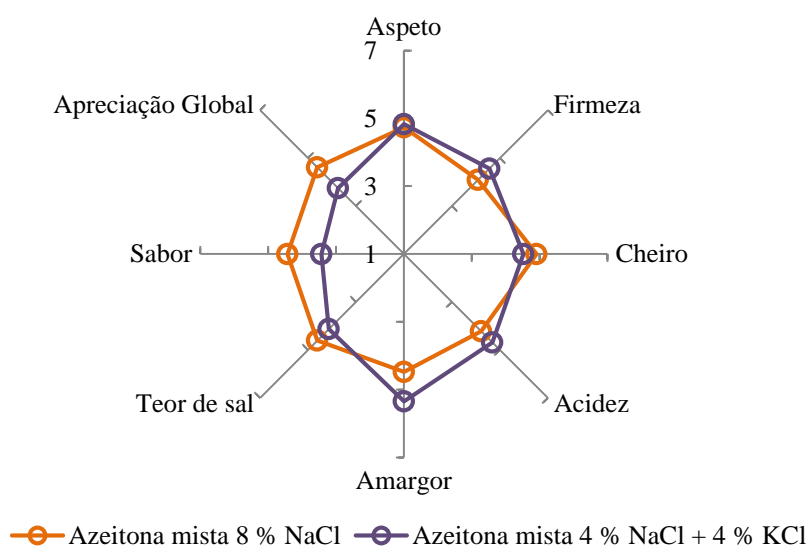


Figura 3.20. Resultados da análise sensorial da azeitona de mesa fermentada em salmouras de diferente concentração de sais (8 % NaCl e 4 % NaCl + 4 % KCl).

Os provadores consideraram que a azeitona de mesa mista fermentada em salmoura com 8 % NaCl apresentava um melhor sabor que a azeitona de mesa fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl por ser menos amarga e menos ácida.

Quanto ao teor de sal, os provadores classificaram a azeitona mista 4 % NaCl + 4 % KCl como ótima e consideraram esta azeitona de mesa menos salgada.

Verificou-se que existem diferenças significativas entre a azeitona de mesa mista 8 % NaCl e a azeitona de mesa 4 % NaCl + 4 % KCl no que diz respeito ao amargor, sabor e apreciação global (Teste T, $p < 0,05$).

A azeitona fermentada na presença de 4 % KCl era mais amarga mas aceitável na opinião dos provadores, o que sugere que a utilização de KCl na preparação das salmouras têm um efeito sobre a percepção do amargor na azeitona, também referido por Saúde (2014) e Panagou *et al.* (2011). A azeitona de mesa mista 8 % NaCl teve um amargor ótimo segundo a classificação atribuída pelos provadores. Segundo Bautista-Gallego *et al.* (2010), o amargor induzido pela presença de KCl é equilibrado pelo NaCl

e uma substituição parcial de NaCl por KCl para diminuir o teor de sal em azeitonas pode ser viável sem afetar a aceitabilidade do produto final.

Assim, pode-se concluir que as azeitonas produzidas com 4 % KCl + 4 % NaCl e com 8 % NaCl apresentaram características organoléticas semelhantes, sendo apenas diferentes no sabor e amargor. A azeitona que obteve uma melhor classificação por parte dos provadores foi a azeitona mista produzida com 8 % NaCl. A azeitona de mesa produzida com KCl conduziu a um teor de sal mais baixo e a boas características organoléticas, também referido por Di Silva (2000).

Na Figura 3.21 está representada a avaliação sensorial da azeitona mista com 4 % KCl por temperar e temperada.

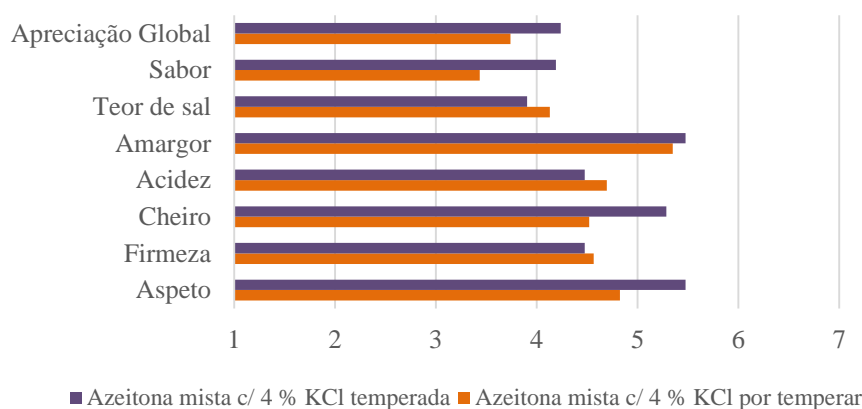


Figura 3.21. Resultados da análise sensorial das azeitonas fermentadas com 4 % NaCl + 4 % KCl por temperar e temperadas.

Verificou-se que existem diferenças significativas entre a azeitona mista com KCl temperada e a azeitona mista com KCl por temperar relativamente ao cheiro (Teste T, $p < 0,05$). Apesar disso, os provadores consideraram que a azeitona temperada apresentava um aspeto, sabor e cheiro mais agradáveis.

Pode-se concluir que a adição de ervas aromáticas contribuiu para melhorar o sabor, o cheiro e o aspeto da azeitona de mesa Cobrançosa mista produzida numa salmoura com KCl.

Considerações finais



4. Considerações finais

Neste trabalho, estudou-se o processamento e caracterizou-se a azeitona de mesa retalhada da cultivar Cobrançosa com diferentes graus de maturação, obtida por fermentação em salmoura com 8 % de NaCl. Testou-se também o efeito da fermentação em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl nas características do produto final.

A utilização de azeitona verde ou mista da cultivar Cobrançosa em processos fermentativos para obtenção de azeitona de mesa, resultou em salmouras finais com pH de 4,3 e acidez livre de 0,3 g ácido láctico/100 mL de salmoura no caso da azeitona mista e de 4,5 e de 0,3 g ácido láctico/100 mL de salmoura no caso da azeitona verde. No final da fermentação a concentração de NaCl foi de 4,3 % ou 4,1 %, consoante se tratava de azeitona mista ou azeitona verde, respetivamente.

No que diz respeito aos parâmetros biométricos, não se encontraram diferenças entre as azeitonas verdes e as azeitonas mistas. No entanto, a azeitona mista apresentou uma espessura de polpa superior à azeitona verde.

A azeitona de mesa verde apresentou-se mais dura e firme do que a azeitona de mesa mista. Esta ainda revelou um valor de a_w mais elevado do que a azeitona de mesa mista.

As azeitonas em ambos os estados de maturação são muito semelhantes relativamente às características nutricionais, distinguindo-se na composição de compostos fenólicos e na atividade antioxidante que se apresentou superior na azeitona de mesa mista. A azeitona de mesa verde apresentou um conteúdo em cálcio e em potássio superior à da azeitona mista.

A azeitona mista obtida por fermentação em salmouras de 8 % NaCl revelou maior concentração em sódio (1,39 g/100 g de azeitona) e menores níveis de cálcio (0,06 g/100 g de azeitona) e de potássio (0,14 g/ 100 g de azeitona) do que a azeitona de mesa fermentada em 4 % NaCl + 4 % KCl. Nestas condições de fermentação, o produto final obtido apresentou um teor de sódio de 0,66 g/100 g azeitona, um valor de cálcio de 0,25 g/100 g azeitona e um valor de potássio de 0,83 g/100 g azeitona.

Os provadores consideraram que a azeitona mista fermentada numa salmoura com 8 % NaCl apresentava um melhor sabor do que a azeitona de mesa produzida na presença de 4 % de KCl, por ser menos amarga e menos ácida. Contudo, esta azeitona foi considerada ótima no que diz respeito ao teor em sal. A adição de ervas aromáticas

melhorou a opinião dos provadores relativamente à azeitona de mesa produzida numa salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl.

A produção de azeitona de mesa mista retalhada da cultivar Cobrançosa por fermentação em salmoura com 4 % NaCl + 4 % KCl, permitiu reduzir a composição em NaCl em cerca de 15,6 %, e assim contribuir para melhorar a imagem deste alimento incluído no padrão alimentar da Dieta Mediterrânica.

A azeitona de mesa é um elemento cujo consumo é recomendado numa base diária de acordo com o padrão alimentar da dieta mediterrânica. A melhoria do seu processamento e o aprofundamento de estudos no que diz respeito à sua caracterização físico-química constituiriam uma mais-valia para fortalecer este alimento do ponto de vista nutricional e comercial. Assim, futuramente poder-se-iam levar a cabo alguns trabalhos utilizando a azeitona de mesa da cultivar Cobrançosa tais como:

- O estudo da identificação e quantificação dos compostos fenólicos ao longo da fermentação e a sua biodisponibilidade;
- O estudo do perfil em ácidos gordos da azeitona durante o seu processamento;

Referências Bibliográficas



5. Referências Bibliográficas

A Companhia do Azeite (2013), [em linha], [consultado 15 junho de 2014], disponível em: <http://www.companhiadoazeite.com.br/?p=736>.

Aktas, A. B.; Ozen, B.; Tokatli, F.; Sen, I. (2014). Comparison of some chemical parameters of a naturally debittered olive (*Olea europaea* L.) type with regular olive varieties. *Food Chemistry*, **161**, 104-111.

Albarracín, W.; Sánchez, C.; Grau, R.; Barat, J. (2011). Salt in food processing; usage and reduction: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, **46**, 1329-1336.

Almeida, S. C. (2013). Contributo para a caracterização do processo produtivo e da composição fenólica de “Azeitonas de conserva Transmontanas”. *Tese de mestrado*. Escola Superior Agrária. Bragança.

Alves, M. (2010). Produção industrial de azeitona verde no Algarve: Parâmetros físico-químicos e microbiológicos. *Tese de Mestrado*. Universidade do Algarve, Faro.

Alves, M.; Gonçalves, T.; Quintas, C. (2012). Microbial quality and yeast population dynamics in cracked green table olives fermentations. *Food Control*, **23**, 363-368.

AOAC (2000). Official Methods of Analysis, 17th ed.; Horwitz W., Ed.; Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA, USA; Volume II, 1-3.

Arroyo-López, F. N.; Duran-Quintana, M.C.; Romero, C.; Rodriguez-Gomez, F.; Garrido-Fernandez, A. (2007). Effect of storage process on the sugars polyphenols, color and microbiological changes in cracked Manzanilla-Alorena table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 7434-7444.

Arroyo-López, F. N.; García-García, P.; Rodríguez-Gómez, F.; Garrido-Fernández, A. (2015). Olives: Types and Consumption. *Encyclopedia of Food and Health*, 167-170.

Asaria, P.; Chisholm, D.; Mathers, C.; Ezzati, M.; Beaglehole, R. (2007). Chronic disease prevention: health effects and financial costs of strategies to reduce salt intake and control tobacco use. *Chronic Diseases*, **370**, 2044-2053.

Bach-Faig, A.; Berry, E.; Lairon, D.; Reguant, J.; Trichopoulou, A.; Dernini, S.; *et al.* (2011). Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutrition*, **14**, 2274-2284.

Bautista-Gallego, J.; Arroyo-López, F. N.; Durán-Quintana, M. C.; Garrido-Fernández, A. (2010). Fermentation profiles of Manzanilla-Alorena cracked green table olives in different chloride salt mixtures, *Food Microbiology*, **27**, 403-412.

Bautista-Gallego, J.; Arroyo-López, F. N.; López-López, A.; Garrido-Fernández, A. (2011). Effect of chloride salt mixtures on selected attributes and mineral content of fermented cracked Alorena olives. *LWT – Food Science and Technology*, **44**, 120-129.

- Ben Othman, N.; Roblain, D.; Chammen, N.; Thonart, P.; Hamdi, M. (2009). Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, **116**, 662-669.
- Berner, L.A.; McBean, L. D.; Lofgreen, P. A. (1990). Calcium and chronic disease prevention: challenges to the food industry. *Food Technology*, **44**, 50-70.
- Bianchi, G. (2003). Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **105**, 229-242.
- Borcakli, M.; Ozay, G.; Alperden, I.; Ozsan, E.; Erdek, Y. (1993). Changes in chemical and microbiological composition of two varieties of olive during fermentation. *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, **44**, 4-5.
- Borges, A. (2013). Evolução da população microbiana ao longo do processo de fermentação natural de azeitonas de mesa da cultivar Negrinha de Freixo. *Tese de mestrado*. Escola Superior Agrária. Bragança.
- Boskou, G.; Salta, N.; Chrysostomou, S.; Mylona, A.; Chiou, A.; Andrikopoulos, K. (2006). Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry*, **94**, 558-564.
- Brescia, M.; Pugliese, T.; Hardy, E.; Sacco, A. (2007). Compositional and structural investigations of ripening of table olives, Bella della Daunia, by means of traditional and magnetic resonance imaging analyses. *Food Chemistry*, **105**, 400-404.
- Brown, I.; Tzoulaki, I.; Candeias, V.; Elliott, P. (2009). Salt intakes around the world: implications for public health. *International Journal of Epidemiology*, **38**, 791-813.
- Cabezas, J. M. (2011), [em linha], [consultado 20 julho de 2014], disponível em: <http://multimedia.dipusevilla.es/fundacionaceituna/documentos/libroaceitunamaqueta080411.pdf>.
- Campaniello, D.; Bevilacqua, A.; D'Amato, D.; Corbo, M. R.; Altieri, C.; Sinigaglia, M. (2005). Microbial Characterization of Table Olives Processed According to Spanish and Natural Styles. *Food Technology and Biotechnology*, **43**, 289-294.
- Cardoso, M.; Ferreira, A.; Mafra, I.; Silva, S.; Coimbra, A. (2007). Structural ripening-related changes of the arabinan-rich pectic polysaccharides from olive pulp cell walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 7124-7130.
- Cardoso, M.; Mafra, I.; Reis, A.; Nunes, C.; Saraiva, A.; Coimbra, A. (2010). Naturally fermented black olives: effect on cell wall polysaccharides and on enzyme activities of Taggiasca and Conservolea varieties. *Food Science and Technology*, **43**, 153-160.
- Castro, A.; Garcia, P.; Romero, C.; Brenes, M.; Garrido, A. (2007). Industrial implementation of black ripe olive storage under acid conditions. *Journal of Food Engineering*, **80**, 1206-1212.

Charoenprasert, S.; Mitchell, A. (2012). Factors Influencing Phenolic Compounds in Table Olives (*Olea europaea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**, 7081-7095.

Chiva-Blanch, G.; Badimon, L.; Estruch, R. (2014). Latest Evidence of the Effects of the Mediterranean Diet in Prevention of Cardiovascular Disease. *Clinical trials and their interpretations*. **16**, 446.

Chorianopoulos, N. G.; Boziaris, I. S.; Stamatiou, A.; Nychas, G. (2005). Microbial association and acidity development of unheated and pasteurized green-table olives fermented using glucose or sucrose supplements at various levels. *Food Microbiology*, **22**, 117-124.

Code of Federal Regulations (CFR). (2003). Nutrition labeling of foods. Washington: Federal Register Government Printing Office.

Codex Alimentarius (2010), [em linha], [consultado 16 fevereiro de 2015], disponível em: http://www.cclac.org/documentos/CCPFV/2010/3%20Documentos/Documento%20Ingles/pf25_04e.pdf.

COI – Conselho Oleícola Internacional (2004). Trade Standard Applying to Table Olives. International Olive Oil Council. COI/OT/NC nº 1, dezembro de 2004.

COI - Conselho Oleícola Internacional (2007), [em linha], [consultado 16 outubro de 2015], disponível em: [file:///C:/Users/ACER/Downloads/Oliviculturaes%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ACER/Downloads/Oliviculturaes%20(1).pdf).

COI – Conselho Oleícola Internacional (2012), [em linha], [consultado 8 agosto de 2014], disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/news/index/660-year-2012-news>.

Conde, C.; Delrot, S.; Hernâni, G. (2008). Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*, **165**, 1545-1562.

Costa, M.; & Bragança, N. (2008). A importância do sal na idade pediátrica. Uma preocupação crescente. Hospital Fernando Fonseca – Serviço de Medicina, Amadora.

Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (2010), [em linha], [consultado 8 abril de 2015], disponível em: http://www.drapc.minagricultura.pt/base/documentos/prodi_olival_2ed.pdf.

Di Silva, A. (2000). Preliminary results of a new processing in order to obtain green table olives with a low sodium content. *Industrie Alimentari*, **39**, 844-847.

Dötsch, M.; Bush, J.; Batenburg, M.; Liem, G.; Tareilus, E.; Mueller, R.; *et al.* (2009). Strategies to Reduce Sodium Consumption: A Food Industry Perspective. *Food Science and Nutrition*, 841-851.

Duke, M.; Lim, A.; Castro da Luz, S.; Nielsen, L. (2008). Lactic acid enrichment with inorganic nanofiltration and molecular sieving membranes by pervaporation. *Food and Bioproducts Processing*, **86**, 290-295.

- Elbir, M.; Moubarik, A.; Rakib, E. M.; Grimi, N.; Amhoud, A.; Miguel, G.; *et al.* (2012). Valorization of Moroccan olive stones by using it in Particleboard panels. *Ciencia y tecnologia*, **14** (3), 361-371.
- Esti, M.; Cinquanta, L.; La Notte, E. (1998). Phenolic compounds in different olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46** (1), 32-35.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2005). Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to the tolerable upper intake level of chloride. *The EFSA Journal*, **210**, 1-9.
- Fernández-Díez, J. (1983). *Olives*. Acedido em outubro 16, 2015, em <https://books.google.pt>.
- Frenández, G.; Díez, J.; & Adams, R. (1997). *Table Olives: production and processing*. Acedido em julho 18, 2014, em <http://www.google.pt>.
- Fernandez-Orozco, R.; Roca, M.; Gandul-Rojas, B.; Gallardo-Guerrero, L. (2011). DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*, **24**, 858-864.
- Ferreira, A. (2015). Caracterização da cadeia de valor da azeitona de mesa. *Tese de mestrado*. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- Ferrís-Tortajadaa, J.; Berbel-Tornerob, O.; García-Castellc, J.; Ortega-Garcíad, J.; López-Andreue, J. (2012). Dietetic factors associated with prostate cancer. Protective effects of Mediterranean diet. *Actas Urológicas Españolas*, **36** (4), 239-245.
- Galanakis, C. M. (2011). Olive fruit dietary fiber: components, recovery and applications. *Trends in Food Science & Technology*, **22**, 175-184.
- Geleijnse, J.; Kok, F.; Grobbee, D. (2003). Blood pressure response to changes in sodium and potassium intake: a metaregression analysis of randomized trials. *Journal of Human Hypertension*, **17**, 471-480.
- Ghanbari, R.; Anwar, F.; Alkharfy, K. M.; Gilani, A. H.; Saari, N. (2012). Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.) - A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, 3291-3340.
- Gómez, A. H. S.; García, P. G.; Navarro, L. R. (2006). Trends in table olives production. Elaboration of table olives. *Grasas y Aceites*, **57**, 86-94.
- Graça, P. (2013). Relatório. Estratégia para a redução do consumo de sal na alimentação em Portugal. Direção Geral de Saúde. Ministério de Saúde, 1-27.
- Guerreiro, J. (2012). Dieta Mediterrânica. *Revista da Universidade do Algarve*, **1**, 4-14.
- Hammami, S. B. M. ; Manrique, T.; Rapoport, H. F. (2011). Cultivar-based fruit size in olive depends on different tissue and cellular processes throughout growth. *Scientia Horticulturae*, **130**, 445-451.

- INE. (2011). Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas de Produção vegetal. Lisboa.
- Kailis, S. & Harris, D. (2007). Producing Table Olives. Land Links, Australia.
- Kiai, H.; & Hafidi, A. (2014). Chemical composition changes in four green olive cultivars during spontaneous fermentation. *Food Science and Technology*, **57**, 663-670.
- Leiba, A.; Vald, A.; Peleg, E.; Shamiss, A.; Grossman, E. (2005). Does dietary recall adequately assess sodium, potassium and calcium intake in hypertensive patients? *Nutrition*, **21**, 462-466.
- Leroy, F.; & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, **15**, 67-78.
- Lopes, J. (2011). Polinização em oliveira cvs. Galega e Cobrançosa: avaliação do vingamento em ensaios de polinização controlada e do efeito da aplicação de um bioestimulante. *Tese de mestrado*. Escola Superior de Agronomia. Lisboa.
- López, A.; García, P.; Garrido, A. (2008). Multivariate characterization of table olives according to their mineral nutrient composition. *Food Chemistry*, **106**, 369-378.
- López-López, A.; Jiménez- Araujo, A.; García-García, P.; Garrido-Fernández, A. (2007). Multivariate Analysis for the Evaluation of Fiber, Sugars, and Organic Acids in Commercial Presentation of Table Olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 10803-10811.
- López, A.; Alfredo, M.; García-García, P.; Garrido-Fernández, A. (2006). Fatty Acid Profile of Table Olives and Its Multivariate Characterization Using Unsupervised (PCA) and Supervised (DA) Chemometrics. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, **54**, 6747-6753.
- Machado, M.; Felizardo, C.; Silva, A. F.; Nunes, F.; Barros, A. (2013). Polyphenolic compounds, antioxidant activity and L-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. "Cobrançosa" under different irrigation regimes. *Food Research International*, **51**, 412-421.
- Mafra, I.; Lanzab, B.; Reisa, A.; Marsiliob, V.; Campestre, C.; Angelisb, M., Coimbra, M. (2001). Effect of ripening on texture, microstructure and cell wall polysaccharide composition of olive fruit (*Olea europaea*). *Physiologia Plantarum*, **111**, 439-447.
- Malheiro, R. M. S. (2010). Influência da cultivar nas características físico-químicas, sensoriais e biológicas de azeitonas verdes descaroçadas. *Tese de mestrado*. Escola Superior Agrária. Bragança.
- Malheiro, R.; Sousa, A.; Casal, S.; Bento, A.; Pereira, J. A. (2011). Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives. *Food and Chemical Toxicology*, **49**, 450-457.

- Manickavasagan, A.; & Al-Sabahi, J. N. (2013). Reduction of saturated fat in traditional foods by substitution of ghee with olive and sunflower oils - A case study with halwa. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*, **15**, 61-67.
- Marsilio, V.; Russi, F.; Lannucci, E.; Sabatini, N. (2008). Effects of alkali neutralization with CO₂ on fermentation, chemical parameters and sensory characteristics in Spanish-style green olives (*Olea europaea* L.). *LWT-Food Science and Technology*, **41**, 796-802.
- Martinez, O.; Salmerón, J.; Guillén, M. D.; Casas, C. (2004). Texture profile analysis of meat products treated with commercial liquid smoke flavourings. *Food Control*, **15**, 457-461.
- Matos, L.; Cunha, S.; Amaral, J.; Pereira, J.; Andrade, P.; Seabra, R.; *et al.* (2007). Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation índices. *Food Chemistry*, **102**, 406-414.
- Mattos, L.; & Martins, I. (2000). Consumo de fibras alimentares em população adulta. *Revista de Saúde Pública*, **34** (1), 50 – 55.
- Mendes, P. A. (2012). Caracterização da fração fenólica e atividade biológica de azeitonas de mesa ao natural produzidas na região de Trás-os-Montes. *Tese de mestrado*. Escola Superior Agrária. Bragança.
- Menz, G.; & Vriesekoop, F. (2010). Physical and Chemical Changes during the Maturation of Gordal Sevillana Olives (*Olea europaea* L., cv. Gordal Sevillana). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 4934-4938.
- Moreira, L. (2013). Produção de azeitona de mesa ao natural fermentada por estirpes de bactérias lácticas potencialmente probióticas. *Tese de mestrado*. Escola Superior de Agronomia. Lisboa.
- Morelló, J.R.; Romero, M.P.; Ramo, T.; Motilva, M.J. (2004). Evaluation of l-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. *Plant Science*, **168**, 65-72.
- Muccilli, S.; Caggia, C.; Randazzo, C.; Restuccia C. (2011). Yeast dynamics during the fermentation of brined green olives treated in the field with kaolin and Bordeaux mixture to control the olive fruit fly. *International Journal of Food Microbiology*, **148**, 15-22.
- Nergiz, C.; & Engez, Y. (2000). Compositional variation of olive fruit during ripening. *Food Chemistry*, **69**, 55-59
- Nogueira, F. (2012). Contribuição para a caracterização de “Azeitonas de mesa mistas ao natural” produzidas de forma tradicional em Trás-os-Montes: aspetos morfológicos, químicos e microbiológicos. *Tese de Mestrado*. Instituto Politécnico de Bragança. Bragança.

Norma Portuguesa (NP) 518, 1986. Cereais e leguminosas. Determinação do teor de cinza: Processo de incineração a 550°C.

Norma Portuguesa (NP) 785, 1985. Cereais e leguminosas. Determinação do resíduo seco solúvel: Processo corrente.

Norma Portuguesa (NP) 1420, 1987. Cereais e leguminosas. Determinação dos açúcares totais, dos açúcares redutores e dos açúcares não redutores (sacarose): Técnica de Luff-Schoorl. Processo corrente.

Norma Portuguesa (NP) 3034, 2012. Azeitonas de mesa. Definição, classificação, características, acondicionamento e rotulagem.

Nout, M. J. R. & Rombouts, F. M. (2000). Fermented and Acidified Plant Foods, in Lund, B. M., Baird-Parker, T. C., Gould, G. W. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Volume I. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.

Othman, N. B.; Roblain, D.; Chammen, N.; Thonart, F.; Hamdi, M. (2009). Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, **116**, 662-669.

Panagou, E. Z.; Hondrodinou, O.; Mallouchos, A.; Nychas, G-J.E. (2011). A study on the implications of NaCl reduction in the fermentation profile of Conservolea natural black olives. *Food Microbiology*, **28**, 1301-1307.

Pereira, A.; Pereira, G.; Ferreira, R.; Valentão, P.; Andrade, B.; Seabra, R.; *et al.* (2006). Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 8425-8431.

Peres, F.; Ramos, A.; Vitorino, C.; Gouveia, C.; Ferreira-Dias, S.; Martins, L. (2012). Avaliação da maturação em azeitona ‘Cobrançosa’ e ‘Galega Vulgar’ com recurso a diferentes metodologias baseadas na cor dos frutos. *Atas Portuguesas de Horticultura*, **21**, 369-374.

Pintado, C.; Peres, F.; Peres, C. (2006). Microbiological and chemical profiles of Spanish-style green olives fermenting process of the Portuguese cultivar “Azeiteira” or “Azeitoneira”, at two harvesting timings. Departamento de Olivicultura, **41**, 252-260.

Piscopo, A.; De Bruno, A.; Zappia, A.; Poiana, M. (2014). Antioxidant activity of dried green olives (Carolea cv.). *Food Science and Technology*, **58**, 49-54.

Portaria n.º 646/1993 de 6 de Julho - relativa a aplicação de aditivos alimentares nos géneros alimentícios e regras relativas à sua utilização.

Purhagen, J. (2013). The texture of table olives. *Perten Science World*, **8**, 6-9.

Ramalheiro, J. (2009). Contribuição para a caracterização bioquímica do estado de maturação de azeitonas de diferentes variedades. *Tese de mestrado*. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.

Ramírez, E.; Gandul-Rojas, B.; Romero, C.; Brenes, M.; Gallardo-Guerrero, L. (2014). Composition of pigments and colour changes in green table olives related to processing type. *Food Chemistry*, **166**, 115-124.

Regulamento (UE) n.º 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011, altera o anexo II do Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho mediante o estabelecimento de uma lista da União de aditivos alimentares.

Rodríguez, G.; Lama, A.; Trujillo, M.; Espartero, J. L.; Fernández-Bolaños, J. (2009). Isolation of a powerful antioxidant from *Olea europaea* fruit-mill waste: 3,4-Dihydroxyphenylglycol. *LWT - Food Science and Technology*, **42**, 483-490.

Rodríguez-Gómez, F.; López-López, A.; Romero-Gil, V.; Arroyo-López, F. N.; Moreno-Baquero, J.M.; Garrido-Fernández, A; *et al.* (2014). Effect of post-fermentation storage on Spanish-style green Manzanilla olives. *Food Science and Technology*, **57**, 789-793.

Rodrigues, N. (2011). Estudo da evolução da microbiota em fermentações naturais de azeitona verde do Algarve. *Tese de Mestrado*. Universidade do Algarve, Faro.

Romero, C.; Brenes, M.; Yousfi, K.; Garcia, P.; Garcia, A.; Garrido, A. (2004). Effect of cultivar and processing method on the contents of polyphenols in table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 479-484.

Romeo, F.V.; Luca, D.S.; Piscopo, A.; Perri, E.; Poiana, M. (2009). Effects of post-fermentation processing on the stabilisation of naturally fermented green table olives (cv Nocellara etnea), *Food Chemistry*, **116**, 873-878.

Sakouhi, F.; Harrabi, S.; Absalon, C.; Sbei, K.; Boukhchina, S.; Kallel, H. (2008). α -Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives (*Olea europaea* L.): Changes in their composition during ripening and processing. *Food Chemistry*, **108**, 833-839.

Saúde, C. (2014). Azeitona de mesa natural da cultivar Maçanilha com baixo teor de cloreto de sódio. *Tese de mestrado*. Instituto Superior de Engenharia. Faro.

Servili, M.; Settanni, L.; Veneziani, G.; Esposito, S.; Massitti, O.; Taticchi, A.; Urbani, S.; Montedoro, G.; Corsetti, A. (2006). The use of *Lactobacillus pentosus* IMO to shorten the debittering process time of black table olives (Cv. Itrana and Leccino): a pilot-scale application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 3869-3875.

Siniorakis, E.; Arvanitakis, S.; Zarreas, E.; Saridakis, M.; Balanis, A.; Tzevelekos, P.; *et al.* (2012). Mediterranean diet: Natural salicylates and other secrets of the pyramid. *Department of Cardiology*, **166** (2), 538-539.

Sousa, A.C. (2008). Caracterização Química e Actividade Biológica de Azeitonas Verdes Descaroadas "alcaparras" Produzidas em Trás-os-Montes. *Tese de mestrado*. Instituto Politécnico de Bragança. Bragança.

- Sousa, A.; Casal, S.; Bento, A.; Malheiro, R.; Oliveira, M. B. P. P.; Pereira, J. A. (2011). Chemical Characterization of “Alcaparras” Stoned Table Olives from Northeast Portugal. *Molecules*, **16**, 9025-9040.
- Strazzullo, P.; D’Elia, L.; Kandala, N.; Cappuccio, F. (2009). Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: metaanalysis of prospective studies. *Clinical and Experimental Medicine*, **339**, 1-9.
- Tassou, C. C.; Panagou, E. Z.; Katsaboxakis, K. Z. (2002). Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiology*, **19**, 605-615.
- Tijsskens, L. M.; Schijvens, E. P.; Biekman, E. S. (2010). Modelling the change in colour of broccoli and green beans during blanching. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **2**, 303-313.
- Tsantili, E.; Christopoulos, M.; Pontikis, C.; Kaltsikes, P. (2008). Texture and Other Quality Attributes in Olives and Leaf Characteristics after Preharvest Calcium Chloride Sprays. *Hortscience*, **43** (6), 1852-1856.
- Ünal, K.; & Nergiz, C. (2003). The effect of table olive preparing methods and storage on the composition and nutritive value of olives. *Grasas y Aceites*, **54**, 71-76.
- Uylaçer, V.; & Yildiz, G. (2014). The Historical Development and Nutritional Importance of Olive and Olive Oil Constituted an Important Part of the Mediterranean Diet. *Food Science and Nutrition*, **54**, 1092-1101.
- Vergara, J.; Blana, V.; Mallouchos, A.; Stamatiou, A.; Panagou, E. (2013). Evaluating the efficacy of brine acidification as implemented by the Greek table olive industry on the fermentation profile of Conservolea green olives. *Food Science and Technology*, **53**, 113-119.
- Viegas, C. (2008). Sal e doença cardiovascular. *Revista fatores de Risco*, **10**, 12-18.
- Vinha, A.; Ferreres, F.; Silva, B.; Valentão, P.; Gonçalves, A.; Pereira, J.; *et al.* (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): influence of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, **89**, 561-568.
- Viola, P.; & Viola, M. (2009). Virgin olive oil as a fundamental nutritional component and skin protector. *Clinics in Dermatology*, **27**, 159-165.
- World Health Organisation (WHO). 2007. Reducing Salt Intake in Populations. WHO Document Publication Services, Geneva, Switzerland.

Anexos



ANEXO I

Ficha de Avaliação Sensorial da Azeitona Cobrançosa.



Mestrado Tecnologia de Alimentos
Análise Sensorial – Azeitonas de Mesa
2012/2013

Nome: _____

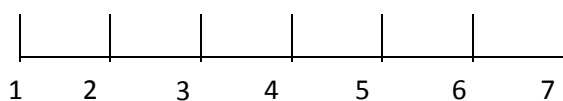
Data: _____

Anote os códigos das amostras que recebeu de acordo com a posição no tabuleiro, observe-as, prove-as, avalie e anote as características indicadas de acordo com cada uma das escalas de 1 a 7 na tabela a baixo.

| | | | | | | | |
|----------------|--------------|---|----------|---|-----------------|---|---|
| | Péssimo | | Razoável | | Muito Bom | | |
| Aspeto | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | Muito mole | | Ótimo | | Muito dura | | |
| Firmeza | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | Desagradável | | Razoável | | Muito agradável | | |
| Aroma | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |

Sem acidez Ótimo Muito ácido

Acidez



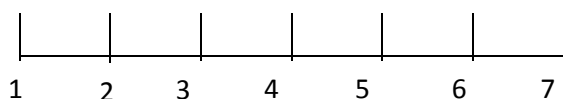
Sem amargor Ótimo Muito amargo

Amargor



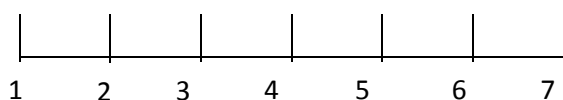
Inosso Ótimo Muito salgado

Teor de Sal



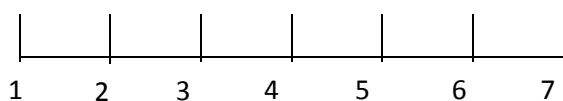
Desagradável Razoável Muito agradável

Sabor



Muito mau Razoável Excelente

Apreciação Global



| Atributos | Amostras | | | | |
|-------------------|----------|--|--|--|--|
| | | | | | |
| Aspetto | | | | | |
| Firmeza | | | | | |
| Aroma | | | | | |
| Acidez | | | | | |
| Amargor | | | | | |
| Teor de sal | | | | | |
| Sabor | | | | | |
| Apreciação global | | | | | |

Observações: _____
