



**UAAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA *Salicornia ramosissima*  
PARA SALADAS FRESCAS OU EM PÓ (SAL VERDE)**

MIRIAM RAQUEL ALVES JULIÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS

2013



**UAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA *Salicornia ramosissima*  
PARA SALADAS FRESCAS OU EM PÓ (SAL VERDE)**

MIRIAM RAQUEL ALVES JULIÃO

DISSERTAÇÃO DE Mestrado em Tecnologia dos Alimentos

Departamento de Engenharia Alimentar, Instituto Superior de Engenharia

Departamento de Agronomia, Faculdade Ciências e Tecnologia

DISSERTAÇÃO orientada por Professora Maria Dulce Carlos Antunes

DISSERTAÇÃO co-orientada por Professora Maria da Graça Costa Miguel

2013

Avaliação do potencial da *Salicornia ramosissima* para saladas frescas ou em pó (Sal Verde)

**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 na listagem de referências incluída.

---

(Miriam Raquel Alves Julião)

© 2012 Miriam Raquel Alves Julião

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 em 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.

*Elisa Alves* 

Saudade é a falta de quem um dia esteve ao nosso lado...

## AGRADECIMENTOS

Na concretização deste projeto extremamente importante no meu percurso académico, são mais que muitas as ajudas e apoios que me foram prestados, sejam de forma direta ou indireta. A muitos quero agradecer e peço desculpa de me estender um pouco.

Portanto, **um gigantesco e sentido OBRIGADA.**

À minha orientadora, Professora Maria Dulce Carlos Antunes. Sempre atenciosa, disponível e simpática, transmitiu-me todos os conhecimentos necessários para a realização desta dissertação.

À Doutora Custódia Maria Luís Gago, a incansável. Permanentemente com um sorriso, aturou-me dia e noite no laboratório.

À minha coorientadora, Professora Maria da Graça Costa Miguel, pelo esforço incansável que fez para me apoiar no decorrer deste projeto.

À Professora Maria Leonor Faleiro, por todo o auxílio que me concedeu.

À Necton que gentilmente cedeu todas as amostras para a realização deste projeto, em especial ao João Mendonça Pedro.

À Fernanda Alves, ao João Carlos Julião e ao Isaac Julião, porque são muito mais do que familiares, são meus amigos!

À Custódia Ricardo, à Laura Alves, à Irene e ao Manuel Julião, à Maria do Céu e ao António Santos, resumindo a toda a minha família!

À Lara Pinto e ao Ian Julião, as aquisições mais recentes da família!

À Engenheira Tânia Barros, à Engenheira Vanessa Sousa e ao Engenheiro João Batista. Literalmente, companheiros de viagem! Juntos rimos, chorámos (eu, pelo menos), trabalhamos, fingimos que trabalhamos, ajudámos uns aos outros e acima de tudo nunca nos esquecemos que “our time is running out”!

À Engenheira Catarina Francisco e ao Mestre Luciano Figueiredo, que são para mim como irmãos! Apenas moramos em casas diferentes, porque nenhuma mãe nos aguentaria juntos.

À Adriana Guerreiro e à Ana Sousa, companheiras de laboratório e de Itália!

Aos meninos Rui Pincho e André Neto, pela cooperação e paciência imensuráveis.

Às FFCA, Patrícia Venâncio, Liliana Leal e Isabel Rocha, porque uma vez FFCA, FFCA para sempre.

Aos GIOTTO, Natasha Timóteo, Lygia Silva e André Tavares. Embora não sejamos os mesmos de antigamente, vocês já coloriram extraordinariamente a minha vida.

Às minhas “mães” algarvias, a Paula Sequeira, a D. Fátima, a D. Antonieta e a D. Fernanda.

A todas as pessoas que fizeram parte da minha jornada académica. Aquelas de que gosto. Aquelas de que não gosto. Aquelas de que gostei e já não gosto. Aquelas de que não gostava e agora gosto. Enfim, todas elas me ensinaram algo proveitoso.

Aos meus amigos!

Às minhas meninas Clara Ferreira, Cátia Pacheco, Cristina Pancenco e Ana Lino, que me ensinaram que a Claire’s não é um trabalho, é uma forma de estar!

A todo o *staff* dos laboratórios da FCT (especialmente à Liseta Viegas e ao João Duarte) e das bibliotecas da UALG (nomeadamente à Dra. Emília Pacheco e à Filipa Custódio).

A todos os colegas e ao nosso painel de provadores, pelo seu apoio e contribuição para a realização deste projeto.

À área departamental de Engenharia Alimentar, desde os docentes (em particular, à Doutora Célia Quintas e Engenheira Patrícia Cabrita) aos funcionários.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi a avaliação do potencial da *Salicornia ramosissima* (halófito) para o uso em saladas frescas ou em pó (Sal Verde), através da realização de análises sensoriais e qualitativas.

A *Salicornia ramosissima* é uma planta halófito suculenta da família *Chenopodiaceae*, que cresce naturalmente ao longo das salinas costeiras do Mediterrâneo.

Imergiram-se as plantas frescas (caules de 7/8 cm) em soluções de 6% Nature Seal, de 0,025% Citral, de 0,025% Eugenol e de 6% Nature + 0,025% Citral (2 minutos). Armazenaram-se em embalagens de plástico, cobertas com película de polietileno linear de baixa densidade (espessura de 10 µm) e conservadas em câmaras refrigeradas a 1, 4, 6 e 9 °C. Aos 0, 7, 14 e 21 dias determinaram-se características das amostras: cor, perda de peso, perda de eletrólitos, atividade antioxidante, compostos fenólicos e microrganismos. Determinaram-se, ainda, o teor em clorofila (27,63 mg/100gP<sub>F</sub>), vitamina C (0,86 mg/100gP<sub>F</sub>), β-caroteno (0,65 mg/100gP<sub>F</sub>), sulfatos (1,57 g/100gP<sub>S</sub>), azoto (0,23 g/100gP<sub>S</sub>), chumbo (0,15 mg/100gP<sub>S</sub>), cádmio (0,05 mg/100g P<sub>S</sub>), cobre (1,32 mg/100gP<sub>S</sub>), zinco (3,39 g/100gP<sub>S</sub>), ferro (19, 67 mg/100gP<sub>S</sub>), cálcio (0,27 g/100gP<sub>S</sub>), cloro (0,19 g/100gP<sub>S</sub>), sódio (18,19 g/100gP<sub>S</sub>), potássio (1,06 g/100gP<sub>S</sub>) e fósforo (0,23 g/100gP<sub>S</sub>) para caracterização inicial da planta.

Para a preparação do Sal Verde, secaram-se as amostras frescas a 70 °C e trituraram-se (crivo = 2 mm). Armazenaram-se em tubos *Falcon* (selados com Parafilm) à temperatura ambiente e a 6 °C. Aos 0, 90 e 180 dias, realizaram-se análises às características do Sal Verde: cor, atividade antioxidante, compostos fenólicos e microrganismos.

A planta apresentou propriedades qualitativas que permitem a sua utilização quer fresca, quer em Sal Verde. Não se verificaram alterações relevantes entre os tratamentos efetuados e as amostras controlo. Concluiu-se que a planta fresca deve ser armazenada entre 1 a 4 °C e o Sal Verde a 6 °C.

**Palavras-chave:** Halófitas, *Salicornia ramosissima*, Sal Verde, agricultura água salgada, salinas, nature seal, citral, eugenol, tecnologias pós-colheita.

## ABSTRACT

The aim of this work was to study the *Salicornia ramosissima* (halophyte) potential for its use in fresh salads or in powder (Green Salt), through sensory and qualitative analysis.

*Salicornia ramosissima* is a succulent halophyte of *Chenopodiaceae* family, which grows naturally along the Mediterranean coastal salt marshes.

The fresh plants (stems of 7/8cm) were immersed in 6% Nature Seal solutions of 0,025% Citral, 0,025% Eugenol and 6% Nature + 0,025% Citral (2 minutes). The samples were stored in plastic packages, covered with low density polyethylene film (10 µm of thickness) and conserved in refrigeration rooms at 1, 4, 6 and 9 °C. At 0, 7, 14 and 21 days were made analysis to the characteristics of the samples, as so, color; weight losses; electrolytes losses; antioxidant activity; phenolic compound and microorganisms. It was also made some determinations as, chlorophyll content (27,63 mg/100gF<sub>w</sub>); vitamin C (0,86 mg/100gF<sub>w</sub>); β-carotene (0,65 mg/100gF<sub>w</sub>); sulfates (1,57 g/100gD<sub>w</sub>); nitrogen (0,23 g/100gD<sub>w</sub>); lead (0,15 mg/100gD<sub>w</sub>); cadmium (0,05 mg/100gD<sub>w</sub>); copper (1,32 mg/100gD<sub>w</sub>); chlorine (0,19 g/100gD<sub>w</sub>); zinc (3,39 g/100gD<sub>w</sub>); iron (19, 67 mg/100gD<sub>w</sub>); calcium (0,27 g/100gD<sub>w</sub>); sodium (18,19 g/100gD<sub>w</sub>); potassium (1,06 g/100gD<sub>w</sub>) and phosphorous (0,23 g/100gD<sub>w</sub>) for the characterization of the plant.

For the Green Salt preparation, the sample of plants was dried at 70 °C and crushed (sieve = 2 mm). The Green Salt was stored in Falcon tubes (sealed with Parafilm) at room temperature and at 6 °C. At 0, 90 and 180 days were done analysis at the Green Salt characteristics: color; antioxidant activity; phenolic compounds and microorganisms.

The plant showed qualitative properties that allow its use - fresh or as Green Salt. The plant doesn't show any significant changes between treatments and control samples. It was concluded that the fresh plant should be stored between 1 and 4 °C and Salt Green at 6 °C.

**Key-words:** Halophytes, *Salicornia ramosissima*, green salt, seawater agriculture, salt marshes, nature seal, citral, eugenol, postharvest technologies.

## GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AA – Ácido ascórbico

ATP – Adenosina trifosfato

a\* – Variação da cor vermelha à cor verde

b\* – Variação da cor amarela à cor azul

BHT – Butylated hydroxytoluene

CaCO<sub>3</sub> – Carbonato de cálcio

CE – Condutividade elétrica

Cm – Centímetro

C\* – Folin-Ciocalteu

C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> – Ácido ascórbico

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> – Ácido cafeíco

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub> – Trolox

C<sub>20</sub>H<sub>10</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – Fluoresceína

C<sub>40</sub>H<sub>56</sub> – β-caroteno

DDR – Dose diária recomendada

ex. – Exemplo

FDA – Food and Drug Administration

GAE – Equivalentes de ácido gálgico

GRAS (Generally Recognized as Safe) – Reconhecido como seguro

HCl – Ácido clorídrico

HNO<sub>3</sub> – Ácido nítrico

Hz – Hertz

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – Ácido sulfúrico

H<sub>24</sub>Mo<sub>7</sub>N<sub>6</sub>O<sub>24</sub>.H<sub>2</sub>O – Molibdato de amónio

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – Ácido Bórico

H° – Ângulo da cor

$K_2HPO_4$  – Fosfato de potássio dibásico  
 $KH_2PO_4$  – Hidrogenofosfato de potássio  
 $KH_2HPO_4$  – Di hidrogeno fosfato  
 $L^*$  – Luminosidade  
mg – Miligrama  
mL – Mililitro  
mM – Milimolar  
NaCl – Cloreto de sódio  
NaOH – Hidróxido de sódio  
 $Na_2CO_3$  – Carbonato de sódio  
 $NH_4VO_4$  – Vanadato de amónio  
nm – Nanómetro  
ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity  
 $P_c$  – Peso corporal  
PCA – Plate count agar  
 $P_f$  – Peso fresco  
 $P_s$  – Peso seco  
ppm – Parte por milhão  
RCF – Força centrífuga relativa  
TE – Trolox Equivalent  
TEAC – Trolox Equivalent Antioxidant Capacity  
UFC – Unidades formadoras de colónias  
UV – Ultravioleta  
° C – Graus Celsius  
% – Percentagem  
 $\mu M$  – Micromolar  
 $\mu L$  – Microlitro

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

	Página
<b>Figura 2.1</b> Anatomia de uma planta halófito	5
<b>Figura 2.2</b> Planta halófito <i>Salicornia</i> nas salinas	7
<b>Figura 2.3</b> <i>Salicornia ramosissima</i>	7
<b>Figura 2.4</b> Esquema ilustrativo do género <i>Salicornia</i>	8
<b>Figura 2.5</b> Zonas de desenvolvimento de várias plantas	8
<b>Figura 2.6</b> Estrutura química do Citral	20
<b>Figura 2.7</b> Estrutura química do Eugenol	20
<b>Figura 3.1</b> Equipa de recolha das amostras (Dulce Antunes, Custódia Gago, Ana Sousa e Miriam Alves Julião)	25
<b>Figura 3.2</b> Corte das plantas <i>Salicornia</i>	26
<b>Figura 3.3</b> Aplicação dos tratamentos nas amostras de <i>Salicornia</i>	26
<b>Figura 3.4</b> Secagem das amostras de <i>Salicornia</i> e embalagem das mesmas	27
<b>Figura 3.5</b> Solução da extração dos componentes da planta <i>Salicornia ramosissima</i>	39
<b>Figura 3.6</b> Esquema representativo do preenchimento dos poços de uma microplaca	42
<b>Figura 3.7</b> Sobrenadante obtido para leitura no Espectrofotómetro	46
<b>Figura 3.8</b> Preparação da solução-mãe para análises microbiológicas da <i>Salicornia</i>	48

## ÍNDICE DE QUADROS

---

	Página
<b>Quadro 2.1</b> Classificação taxonómica da planta halófito Salicornia	9
<b>Quadro 2.2</b> Ficha nutricional da planta Salicornia	10
<b>Quadro 2.3</b> Teor médio de matéria mineral na Salicornia fresca ( <i>Salicornia europaeae</i> )	12
<b>Quadro 2.4</b> Caraterísticas dos revestimentos edíveis	19
<b>Quadro 2.5</b> Tipos de força aplicada à trituração e respetivos princípios e equipamentos	24
<b>Quadro 3.1</b> Diferentes tratamentos (e respetivas concentrações) aplicados às amostras de Salicornia, no início de cada ensaio	26
<b>Quadro 3.2</b> Preparação das diluições das soluções padrão de Fósforo	35
<b>Quadro 3.3</b> Minerais analisados e respetivos métodos	38
<b>Quadro 3.4</b> Preparação das diluições das soluções padrão de ácido cafeico	44
<b>Quadro 3.5</b> Preparação das diluições das soluções padrão de quercetina	45
<b>Quadro 4.1</b> Cor da planta halófito <i>Salicornia ramosissima</i>	50
<b>Quadro 4.2</b> Composição bioquímica da <i>Salicornia ramosissima</i>	50
<b>Quadro 4.3</b> Minerais da planta <i>Salicornia ramosissima</i>	51

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

---

	Página
<b>Gráfico 3.1</b> Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada na determinação do teor em $\beta$ -caroteno das amostras	30
<b>Gráfico 3.2</b> Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para quantificação do fósforo	36
<b>Gráfico 3.3</b> Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada na determinação do potássio	36
<b>Gráfico 3.4</b> Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada na determinação do sódio	37
<b>Gráfico 3.5</b> Reta padrão com equação e coeficiente de relação, utilizada para a determinação da concentração de antioxidantes nas amostras, através do método TEAC	40
<b>Gráfico 3.6</b> Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para a determinação da concentração de antioxidantes nas amostras, através do método ORAC	42
<b>Gráfico 3.7</b> Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para a quantificação de ácidos hidroxicinâmicos da amostra	44
<b>Gráfico 3.8</b> Reta padrão com a equação e coeficiente de correlação, utilizado na quantificação de flavonóis na amostra	45
<b>Gráfico 3.9</b> Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada na determinação dos fenóis totais da amostra	47
<b>Gráfico 4.1</b> Luminosidade ( $L^*$ ) da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	55
<b>Gráfico 4.2</b> Cor ( $a^*$ ) da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	58
<b>Gráfico 4.3</b> Cor ( $b^*$ ) da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	59

<b>Gráfico 4.4</b>	61
Valor de <i>Chroma</i> (C*) da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.5</b>	62
Ângulo Hue (H°) da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.6</b>	64
Perda de peso da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.7</b>	66
Perda de eletrólitos da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.8</b>	67
Atividade antioxidante (método TEAC) da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.9</b>	69
Atividade antioxidante (método ORAC) da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.10</b>	71
Ácidos hidroxicinâmicos da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.11</b>	73
Flavonóis da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.12</b>	74
Fenóis totais da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.13</b>	76
Bactérias psicrófilas da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.14</b>	78
Bolores e leveduras da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.15</b>	80
Avaliação da aparência da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.16</b>	80
Avaliação da cor da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.17</b>	81
Avaliação do sal da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.18</b>	82
Avaliação da textura da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.19</b>	83
Avaliação da suculência da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	

<b>Gráfico 4.20</b>	84
Avaliação do sabor da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.21</b>	85
Avaliação do aroma da <i>Salicornia ramosissima</i> durante 21 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.22</b>	86
Luminosidade (L*) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.23</b>	87
Cor (a*) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.24</b>	88
Cor (b*) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.25</b>	89
Valor de <i>chroma</i> (C*) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.26</b>	90
Ângulo Hue (H°) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.27</b>	91
Atividade antioxidante (Método ORAC) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.28</b>	92
Atividade antioxidante (Método ORAC) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.29</b>	93
Fenóis totais do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	
<b>Gráfico 4.30</b>	95
Bactérias aeróbias mesófilas do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento	

## ÍNDICE

---

	Página
Agradecimentos	V
Resumo	VII
Abstract	VIII
Glossário de Símbolos e Abreviaturas	IX
Índice de Figuras	XII
Índice de Quadros	XIII
Índice	XVI

## **INTRODUÇÃO**

---

1

## **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---

3

2.1. Agricultura em Água Salgada	3
2.2. Plantas Halófitas	3
2.3. Salicórnia	6
2.3.1. Historial	9
2.3.2. Morfologia e Biologia	9
2.3.3. Composição Nutricional	10
2.3.3.1. Glícidos	11
2.3.3.2. Proteínas	11
2.3.3.3. Ácidos Orgânicos	11
2.3.3.4. Lípidos	11
2.3.3.5. Minerais	12
2.4. Caracterização da Qualidade das Plantas	12
2.4.1. Parâmetros Físicos	12
2.4.1.1. Cor	12
2.4.1.2. Perda de Água	13
2.4.1.3. Condutividade Elétrica	13
2.4.2. Parâmetros Químicos	13
2.4.2.1. Antioxidantes	13
2.4.2.2. Compostos Fenólicos	14
2.4.2.3. Clorofila	14
2.4.2.4. $\beta$ -caroteno	15

2.4.2.5. Ácido Ascórbico	15
2.4.2.6. Azoto	15
2.4.2.7. Minerais	16
2.4.3. Parâmetros Microbiológicos	16
2.4.3.1. Bactérias	17
2.4.2.6. Fungos	17
2.4.4. Parâmetros Sensoriais	17
2.5. Revestimentos Edíveis	18
2.5.1. Nature Seal	19
2.5.2. Citral	19
2.5.3. Eugenol	20
2.6. Armazenamento	21
2.6.1. Tempo de Prateleira	21
2.6.2. Refrigeração	21
2.7. Especiarias	22
2.7.1. Secagem	23
2.7.2. Trituração	23
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>25</b>
<hr/>	
3.1. Material Vegetal Fresco	25
3.2. Preparação das Amostras	25
3.3. Parâmetros Físicos	27
3.3.1. Cor	27
3.3.2. Perda de Peso	28
3.3.3. Perda de Eletrólitos	28
3.4. Parâmetros Químicos	29
3.4.1. Amostra Fresca	29
3.4.1.1. Clorofila	29
3.4.1.2. $\beta$ -Caroteno	30
3.4.1.3. Ácido Ascórbico	31
3.4.2. Amostra Seca	32
3.4.2.1. Azoto	32
3.4.2.2. Minerais	33
3.4.2.2.1. Fósforo	34
3.4.2.2.2. Potássio	36
3.4.2.2.3. Sódio	37
3.4.2.2.4. Sulfatos	38
3.4.2.2.5. Outros Minerais	38
3.4.2.3. Atividade Antioxidante	39
3.4.2.3.1. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)	39
3.4.2.3.2. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)	41

3.4.2.4. Compostos Fenólicos	43
3.4.2.4.1. Ácidos Hidoxicinâmicos	43
3.4.2.4.2. Flavonóis	45
3.4.2.4.3. Fenóis Totais	46
3.5. Parâmetros Microbiológicos	47
3.5.1. Bactérias Psicrófilas	48
3.5.2. Bactérias Aeróbias Mesófilas	48
3.5.3. Bolores e Leveduras	48
3.6. Parâmetros Sensoriais	49
3.7. Análise Estatística	49
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>50</b>
<hr/>	
4.1. Caracterização Físico Química	50
4.2. Caracterização ao longo do tempo	55
4.2.1. Salicórnia fresca refrigerada	55
4.2.1.1. Cor	55
4.2.1.2. Perda de Peso	63
4.2.1.3. Perda de Eletrólitos	65
4.2.1.4. Determinação da Atividade Antioxidante	66
4.2.1.5. Compostos Fenólicos	70
4.2.1.6. Bactérias	75
4.2.1.7. Bolores e leveduras	77
4.2.1.8. Parâmetros Sensoriais	79
4.2.2. Sal Verde	86
4.2.2.1. Cor	86
4.2.2.2. Determinação da Atividade Antioxidante	90
4.2.2.3. Fenóis Totais	93
4.2.2.4. Microrganismos	94
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>96</b>
<hr/>	
<b>PERSPETIVAS FUTURAS</b>	<b>99</b>
<hr/>	
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>100</b>
<hr/>	
<b>ANEXOS</b>	
<hr/>	

## 1. INTRODUÇÃO

O nosso planeta pode ser chamado de “Planeta Oceano”, uma vez que 70% da superfície terrestre é composta por água (Glenn *et al.*, 1998). Contudo, apenas cerca de 1% de toda a água da Terra é considerada potável, sendo que outro 1% corresponde a água salobra e os restantes 98% representam uma vasta quantidade de água salgada (Rozema e Flowers, 2008).

A maioria dos seres terrestres – incluindo os seres humanos – necessita de alimentos provenientes de plantas cultivadas com água doce – proveniente de chuvas, nascentes, lagos, rios e mesmo outras fontes (Glenn *et al.*, 1998). Das cinco plantas mais consumidas pela população mundial (batata, arroz, milho, trigo e soja) nenhuma consegue tolerar o sal, sendo que quando expostas ao mesmo, murcham e acabam por morrer em poucos dias (Lu *et al.*, 2010).

Com os limitados recursos de água potável para a agricultura e o contínuo aumento da salinidade dos solos, torna-se necessário o desenvolvimento de novas culturas que consigam tolerar maiores concentrações de sal. As plantas que toleram o sal (halófitas) são altamente evoluídas e possuem organismos especializados com características morfológicas e fisiológicas bem adaptadas, que permitem que estas plantas proliferem em ambientes altamente salinos (Khan e Duke, 2001).

A Salicórnia é uma candidata bastante promissora, para o desenvolvimento do cultivo de plantas halófitas, uma vez que cresce naturalmente ao longo das salinas costeiras do Mediterrâneo e está sujeita diariamente a marés. Inclusivamente, a Salicórnia é muitas vezes referida como a planta pioneira em zonas costeiras do mar (Ventura *et al.*, 2011a).

Os produtos comerciais da agricultura em água salgada englobam a produção de alimentos para consumo humano e animal, de energias renováveis (biofuel e biodiesel) e de matérias-primas para uso industrial (Rozema e Flowers, 2008). A versatilidade dos produtos comerciais da halófita Salicórnia (desde óleo de sementes a ingrediente para saladas frescas) tem despertado o interesse nesta planta (Ventura *et al.* 2011b).

## **Objetivo**

Com o presente trabalho, pretende-se caracterizar a planta halófito *Salicornia ramosissima*, sujeita a diferentes tratamentos e armazenada a várias temperaturas, avaliando o potencial uso da mesma em saladas frescas embaladas. Pretende-se ainda caracterizar a *Salicornia ramosissima* seca e triturada (Sal Verde), para possível utilização como especiaria.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. AGRICULTURA EM ÁGUA SALGADA

A agricultura em água salgada é definida como o crescimento de culturas com tolerância ao sal (plantas halófitas) em terras regadas com água salgada bombeada dos oceanos (Glenn *et al.*, 1998). O conceito de agricultura em água salgada é bastante antigo, no entanto, apenas após a 2ª Guerra Mundial foi considerado seriamente e descobriu-se que este tipo de agricultura resulta melhor em terrenos arenosos do deserto (O'Leary *et al.*, 1985).

Para ser rentável, a agricultura em água salgada tem de cumprir dois requisitos:

- > Os custos do bombeamento da água, diretamente do oceano, têm de ser cobertos por uma produção justificável de colheitas proveitosas;
- > Tem de se desenvolver técnicas agronômicas que permitam o crescimento das colheitas de uma forma sustentável – sem causar danos ao ambiente (Khan e Duke, 2001).

À medida que este tipo de agricultura se vai desenvolvendo, tem seguido duas direções distintas. Uma das direções passa por tornar algumas plantas de água doce em plantas que toleram elevadas concentrações de sal, através de modificações genéticas nas plantas. A outra vertente, consiste em domesticar plantas tolerantes ao sal que cresçam espontaneamente, que tenham interesse para a produção de alimentos de consumo humano e animal e ainda para a produção de energias renováveis (Glenn *et al.*, 1998).

### 2.2. PLANTAS HALÓFITAS

---

**Halófito**

Diz-se de qualquer vegetal adaptado a viver em ambientes com alto teor salino.

Glossário Ilustrado de Botânica  
(Ferri *et al.*, 1981)

---

O termo halófito tem origem nas palavras *halos* e *phyto*, que significam respetivamente, sal e planta. Este termo refere-se a plantas que conseguem completar o seu ciclo de vida (crescimento e reprodução) em ambientes com uma elevada concentração de sal (Yensen, 2008).

As plantas halófitas representam 1% da flora mundial e são capazes de tolerar sal em concentrações não suportadas pelas restantes espécies - 99% da flora mundial (Flowers e Colmer, 2008).

Para que consigam sobreviver em condições tão adversas, estas plantas tiveram necessidade de adaptar o seu metabolismo, seguindo várias estratégias:

- > Desenvolvimento da suculência, resultante do aumento da diluição iónica mediante o aumento da relação volume/superfície externa;  
[Exemplos: Folhas de *Atriplex* spp., *Aster* spp., *Suaeda* spp., *Salicornia* spp., *Sarcocornia* spp., *Arthrocnemum* spp.]
- > Absorção elevada de certos iões, como potássio, na presença de elevadas concentrações de sódio no exterior;  
[Exemplos: Algas marinhas *Halobacteria*]
- > Capacidade de acumulação, em certas partes das plantas, de grandes quantidades de sais, provenientes do seu metabolismo, que depois são eliminados juntamente com os órgãos que os armazenavam;  
[Exemplos: Folhas em algumas espécies do género *Limonium* e raízes do *Elymus elongatus*]
- > Extrusão iónica mediante glândulas especiais de sais, existindo em certos casos, a existência de “bombas” que expulsam o sódio em halófitos submersos;  
[Exemplos: Plantas das famílias Plumbagináceas, Tamarináceas, Primuláceas e algumas espécies do género *Spartina*]
- > Presença de pelos glandulosos nas epidermes das páginas superior e inferior das folhas, onde a concentração do sal é muito mais elevada do que no interior da folha e no exudado do xilema;  
[Exemplos: Algumas plantas do género *Atriplex*]

- > Existência de glândulas de sal, responsáveis pelo conteúdo mineral de muitos halófitos (Costa, 2001).

Os halófitos possuem mecanismos evoluídos nas raízes, folhas e caules que permitem a sua sobrevivência na presença de água salgada – Figura 2.1. As células que compõem a camada exterior – epiderme – de cada radícula são quase 100% impermeáveis ao sal (NaCl). A endoderme tem uma camada encerada entre células que força a água a passar através das células, permitindo que uma maior concentração de sal seja filtrada. Algumas destas plantas possuem células especializadas nas folhas, denominadas por glândulas de sal, que armazenam o excesso de sal. Quando estas células estão cheias, rebentam e libertam o sal. Este ao ser libertado forma uma camada branca, que reflete a luz solar e arrefece a folha. O vapor de água é libertado através dos poros da parte inferior da folha. As células do interior das folhas estão equipadas para tratar sal que possa ter sido absorvido pela planta. O vacúolo central – zona de armazenamento – de cada célula contém moléculas que importam iões de sódio e de cloro. A concentração elevada de sais atrai água e mantém a pressão de turgescência da célula (Costa, 2001).

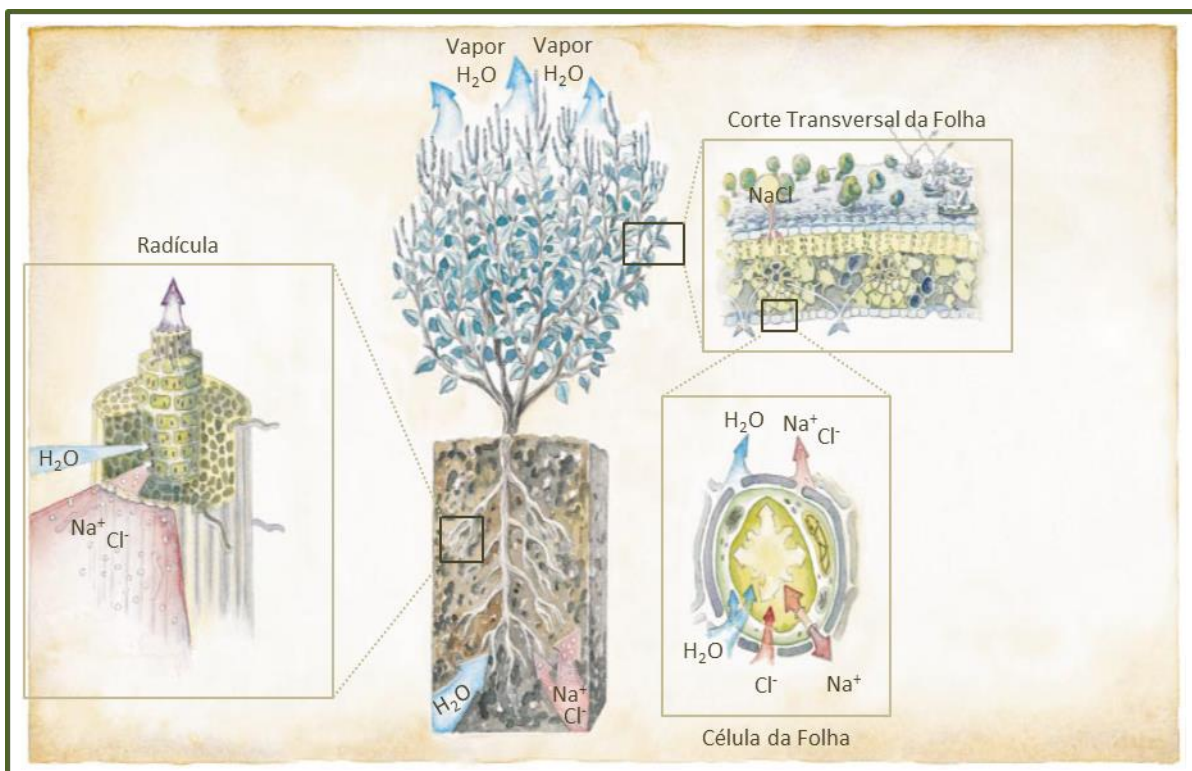


Figura 2.1 – Anatomia de uma planta halófito

Fonte: Gleen *et al.* (1998)

As plantas halófitas podem classificar-se em três grupos:

- > Halófitas obrigatórias – Necessitam de ambientes salinos;  
[Exemplos: *Salicornia*, *Sarcocornia*, *Arthrocnemum*, *Limonium*, *Suaeda*, *Limoniastrum*, *Atriplex*, *Frankenia*, *Spartina*, *Puccinellia*, etc]
- > Halófitas preferenciais – Preferem ambientes salinos;  
[Exemplos: *Scirpus maritimus* var. *compactus*, *Juncus maritimus*, *Salsola vermiculata*, *Hordeum marinum*, etc.]
- > Halófitas de subsistência – Toleram ambientes salinos (Costa, 2001).  
[Exemplos: *Phragmites australis*, *Juncus acutus*, *Cotula coronopifolia*, *Beta vulgaris* subsp. *maritima*, entre outras]

### 2.3. SALICÓRNIA

A palavra Salicórnia tem origem nas palavras em latim *sal* e *cornu*, que significam literalmente cornos salgados (La Lettre des Marais Atlantiques, 2008). Esta planta é uma planta halófito suculenta, com caules articulados e um ciclo de vida anual (Davy *et al.*, 2001).

A Salicórnia – Figura 2.2 – foi introduzida no mercado europeu como vegetal sem folhas semelhante ao espargo verde. Os caules carnudos deste vegetal são bastante requisitados para cozinhas *gourmet*, não só pelo seu sabor salgado, mas também pelo seu valor nutricional (nomeadamente a nível de minerais e vitaminas antioxidantes, como vitamina C e  $\beta$ -caroteno) (Ventura *et al.*, 2011a).

A halófito *Sarcocórnia* é bastante semelhante à *Salicórnia*, uma vez que ambas são excelentes candidatas para o cultivo de plantas halófitas, crescendo espontaneamente nas salinas costeiras desde o Ártico até ao Mediterrâneo. Apesar de as duas produzirem brotos suculentos, diferem nos ciclos de crescimento (*Sarcocórnia* – perene e *Salicórnia* – anual), no rendimento de produção e ainda no valor nutricional (Ventura *et al.*, 2011b).



Figura 2.2 – Planta halófito *Salicornia* nas salinas

Fonte: ©2013 Miriam Alves Julião

### ***Salicornia ramosissima* J. Woods**

A planta *Salicornia ramosissima* (Figura 2.3) é um terófito até 40 cm, ereto, raras vezes decumbente, com caules articulados, geralmente bastante ramificados, verde-escuro por vezes tornando-se verde-amarelado ou mesmo vermelho-púrpura. Apresenta folhas opostas, soldadas entre si e com o talo formando um artículo carnudo. Possui inflorescências espiciformes terminais com 4-14(36) artículos férteis, com duas cimeiras trifloras opostas em cada artículo, completamente imersas na bráctea do segmento. As flores de perianto trilobado dispõem-se formando uma espécie de triângulo, onde a central se encontra num plano nitidamente superior. As flores laterais podem ser do mesmo tamanho ou de tamanho inferior à central. A propagação deste género é efetuada através das sementes e de segmentos do caule – Figura 2.4 (Costa *et al*, 2001).

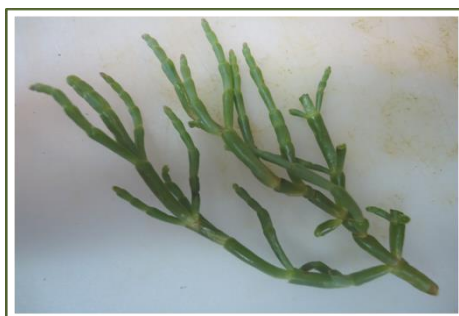


Figura 2.3 – *Salicornia ramosissima*

Fonte: ©2013 Miriam Alves Julião



Figura 2.4 – Esquema ilustrativo do género *Salicornia*  
 Fonte: Pedro (2007)

Desenvolve-se preferencialmente no litoral, no sapal médio e superior e em margens de salinas – Figura 2.5 (Silva, 2000).

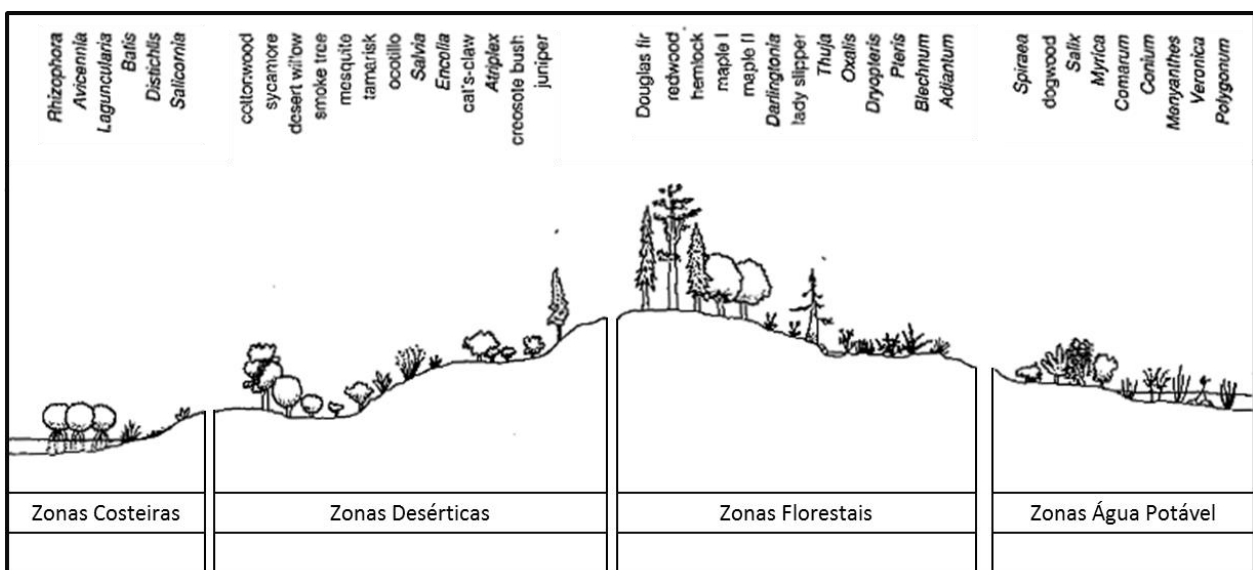


Figura 2.5 – Zonas de desenvolvimento de várias plantas  
 Fonte: Salisbury e Ross (1991)

### 2.3.1. HISTORIAL

A planta Salicórnia tem sido utilizada com fins industriais, terapêuticos e alimentares (fresca ou em salmoura) desde tempos longínquos (Ventura *et al.*, 2011b). Inicialmente era utilizada para desengordurar estofos e na indústria do sabão e do vidro. No século XVIII, era utilizada para o fabrico de soda por incineração, mas no século seguinte a soda vegetal foi substituída pela soda química – extraída das minas (CEVA, 2003).

Em 1920, tentou-se comercializar (sem muito sucesso) a Salicórnia como um legume barato e abundante. Durante a 2ª Guerra Mundial, vendia-se como “espargo do mar” (conservada em gelo) e chegou a substituir o feijão-verde (CEVA, 2003).

A nível terapêutico, esta planta é considerada um produto diurético e rico em vitamina C, explicando a sua utilização em navios (de viagens de longo curso) na luta contra o escorbuto (CEVA, 2003).

### 2.3.2. MORFOLOGIA E BIOLOGIA

A classificação taxonómica da planta Salicórnia está representada o Quadro 2.1.

Quadro 2.1 – Classificação taxonómica da planta halófita Salicórnia

Fonte: Pedro, 2007

Classificação Taxonómica		
Reino	Plantae	Plantas
Sub-reino	Tracheobionta	Plantas vasculares
Superdivisão	Spermatophyta	Plantas com semente
Divisão	Magnoliophyta	Plantas com flores
Classe	Magnoliopsida	Dicotiledóneas
Subclasse	Caryophyllales	--
Família	Chenopodiaceae	--
Género	<i>Salicornia L.</i>	--

Esta planta possui o caule principal e as suas ramificações compostas por nódulos pequenos, cilíndricos, com uma cobertura suculenta que lhe confere uma aparência articulada (Davy *et al.*, 2001). A Salicórnia é caracterizada pela presença de elevadas concentrações de sal nos seus tecidos, sendo que esta planta absorve o sal

diretamente do solo/mar para se poder desenvolver – halófito obrigatória (Costa, 2001). O armazenamento dos sais é efetuado numa glândula especializada da célula, garantindo o bom funcionamento da célula (Davy *et al.*, 2001).

A suculência desta planta deve-se ao facto dos tecidos serem constituídos por células “gigantescas” cheias de água e à formação cilíndrica da ramificação que diminui a relação superfície/volume. As células cheias de água conferem à *Salicornia* uma maior resistência à seca e uma maior diluição dos sais acumulados (CEVA, 2003).

### 2.3.3. COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL

O Centro de Estudos e Valorização de Algas (2011) elaborou uma ficha nutricional para a planta *Salicornia*, representada no Quadro 2.2.

Quadro 2.2 – Ficha nutricional da planta *Salicornia*

Salicornia	Unidade	Valor médio	Mínimo	Máximo
Energia	Kj	39		
Energia	Kcal	9,24		
Água	g	92,2	92	92,4
Proteínas	g	0,67	0,2	0,88
Glícidos (por diferença)	g	1,1		
Fibras alimentares	g	2,5	2,4	2,5
Lípidos	g	0,24	0,9	0,37
A.G. Saturados	g	0,03	0,02	0,03
A.G. Monoinsaturados	g	0,01	0	0,02
A.G. Poliinsaturados	g	0,08	0,09	0,08
Sódio	mg	1024	873	1123
Magnésio	mg	75	64	87
Fósforo	mg	20	0,7	9,2
Potássio	mg	119	105	133
Cálcio	mg	34	30	39
Manganésio	mg	0,7		
Ferro	mg	4,9	0,7	9,2
Cobre	mg	0,07		
Zinco	mg	0,5		
Iodo	mg	< 0,09		
Selénio	µg	N.D.		
Vitamina A (eq. retinol)	µg	N.D.		
Beta-caroteno	µg	N.D.		
Vitamina D	µg	N.D.		
Vitamina K ou fitomenadiona	mg	N.D.		
Vitamina C	mg	N.D.		

#### **2.3.3.1. GLÍCIDOS**

As fibras – glúcidos não comestíveis - constituem 3,1% do peso fresco da Salicórnia. Os constituintes maioritários são a arabinose, o ácido galacturónico e a glucose (sendo 95% de origem celulósica). A nível nutricional, a quantidade de amido é baixa e o teor em oses solúveis – sacarose, frutose – pode atingir 10% da massa da planta seca (CEVA, 2003).

#### **2.3.3.2. PROTEÍNAS**

O teor em azoto total desta halófita (1,3 a 2,3%) é mais baixo do que o verificado em plantas do meio não salgado. A Salicórnia é muito pobre em proteínas (2,6%), sendo a prolina, o aminoácido essencial mais abundante (CEVA, 2003).

#### **2.3.3.3. ÁCIDOS ORGÂNICOS**

O teor médio de ácido oxálico é de 0,6% do total da matéria seca. Este ácido torna o cálcio, fornecido pela alimentação, indisponível. Ao compararmos com outros frutos e legumes, o nível de ácido oxálico é baixo e não apresenta risco para o consumidor (CEVA, 2003).

#### **2.3.3.4. LÍPIDOS**

Os lípidos têm uma função muito importante na regulação da permeabilidade das células das plantas. Foram realizados estudos que demonstraram uma correlação entre a composição lipídica e o grau de tolerância à salinidade das plantas halófitas. O teor de lípidos desta planta é baixo (1,5 a 5%), variando em função do estado de desenvolvimento da planta e do local de colheita. Porém, os lípidos presentes na parte aérea da planta – ácido linolínico e linoleico – são ácidos gordos essenciais (CEVA, 2003).

### 2.3.3.5. MINERAIS

A Salicórnia possui valores elevados de substâncias minerais – Quadro 2.3. O teor de matéria mineral representa 20 a 66% da matéria seca, sendo que este varia conforme a espécie, a época, o local de colheita e da salinidade do solo. O catião mais abundante é o sódio e o principal anião associado é o cloro (CEVA, 2003).

**Quadro 2.3 – Teor médio da matéria mineral na Salicórnia fresca (*Salicornia europaea*)**  
Fonte: Centro de Estudos e Valorização de Algas (2003)

<b>Matéria Mineral</b>	<b>% em P<sub>s</sub></b>
Cinzas totais	38,3
Sódio (Na)	12,9
Potássio (K)	1,35
Magnésio (Mg)	0,82
Cálcio (Ca)	0,38
Ferro (Fe)	0,009
Fósforo (P)	0,25

## 2.4. CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE DAS PLANTAS

A qualidade de um alimento não se define apenas pelas suas características visíveis, mas também por atributos físicos, químicos, microbiológicos e sensoriais, que não são visíveis ao olho humano.

### 2.4.1. PARÂMETROS FÍSICOS

Para a caracterização da qualidade dos alimentos, é efetuada a análise de vários parâmetros físicos.

#### 2.4.1.1. COR

A coloração, bem como a descoloração, dos alimentos é um dos atributos mais importantes na sua apreciação (Coulter, 1984). Um alimento pode ser muito nutritivo, ter um sabor ou uma textura muito agradável, no entanto, tem de ter a cor certa para ser consumido (Francis, 1985).

Os pigmentos naturalmente presentes nos alimentos são utilizados para determinar o seu valor económico ou para controlar a cor durante o seu armazenamento ou processamento (Pomeranz e Meloan, 1994). A medição deste parâmetro é também muito relevante para avaliar a qualidade alimentar do produto. A cor de um alimento é uma manifestação externa da composição e do tipo de pigmentos que a planta possui (Shewfelt e Prussia, 1993).

#### **2.4.1.2. PERDA DE ÁGUA**

A perda de água em produtos hortofrutícolas frescos tem uma enorme importância, uma vez que está associada à diminuição do tempo de vida após colheita. Para além da perda de peso associada, ocorre depreciação da aparência, da textura e do valor nutritivo. Para evitar a perda de água devem controlar-se as condições ambientais – temperatura e humidade relativa – e submeter os alimentos a tratamentos – curas, arrefecimento rápido, revestimentos edíveis e embalagens (Almeida, 2005).

#### **2.4.1.3. CONDUTIVIDADE ELÉTRICA**

A condutividade elétrica indica a concentração total de iões presentes numa solução, através da capacidade da solução aquosa para transportar corrente elétrica. Esta característica é um indicador da concentração de sais ionizados e fornece um parâmetro para a estimativa da salinidade do substrato (Azerêdo *et al.*, 2008).

### **2.4.2. PARÂMETROS QUÍMICOS**

A determinação dos atributos químicos de um produto hortofrutícola, é essencial não só para conhecer a composição do mesmo, bem como, para avaliar as mudanças que ocorrem desde a colheita até ao consumo.

#### **2.4.2.1. ANTIOXIDANTES**

Os antioxidantes são moléculas com capacidade para retardar ou inibir substratos oxidáveis. Como tal, são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, através

da inibição da formação/captação de radicais livres e da complexação de metais (Rodrigues, 2009).

Os antioxidantes podem ser sintéticos – hidroxianisol de butilo e hidroxitolueno de butilo – ou naturais – ácido ascórbico, vitamina E,  $\beta$ -caroteno – encontrando-se naturalmente em produtos hortofrutícolas (Rodrigues, 2009).

As plantas são potenciais fontes de antioxidantes naturais, sendo que estes são metabolitos secundários das plantas (Ramamoorthy e Bono, 2007).

#### **2.4.2.2. COMPOSTOS FENÓLICOS**

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários das plantas que desempenham um papel importante na cor e no sabor dos produtos hortofrutícolas. Contudo, são caracterizados como potenciais causadores de instabilidade, uma vez que estão relacionados com a formação de pigmentos indesejáveis (Rocha *et al.*, 2005).

Estes compostos são essenciais para o crescimento e reprodução de vegetais, atuam como agentes anti-patogênicos e contribuem para a pigmentação. Nos alimentos, são responsáveis pela adstringência, pelo aroma e ainda pela estabilidade oxidativa (Angelo e Jorge, 2006).

Estes compostos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização e podem ser classificados em três categorias, (1) pouco distribuídos na natureza, (2) polímeros e (3) largamente distribuídos na natureza (Angelo e Jorge, 2006).

Os fenóis simples pertencem à primeira categoria e os flavonóis e os ácidos hidroxicinâmicos pertencem aos largamente distribuídos na natureza, pois encontram-se geralmente em todo o reino vegetal (Angelo e Jorge, 2006).

#### **2.4.2.3. CLOROFILA**

É um dos principais pigmentos encontrados nos alimentos, sendo o responsável pela cor verde dos vegetais. A clorofila é essencial para o processo de fotossíntese e está presente como suspensão coloidal nas células de cloroplastos, associada com

carotenóides, lípidos e proteínas. A mudança de cor no envelhecimento dos vegetais é o resultado da degradação das clorofilas que, quando presentes cobrem a cor de outros pigmentos existentes (Ribeiro e Seravalli, 2007).

#### **2.4.2.4. $\beta$ -CAROTENO**

Os carotenóides são pigmentos cuja cor varia de amarelo a vermelho. O  $\beta$ -caroteno é um dos mais de 600 carotenóides existentes. Este carotenóide é denominado pró-vitamina A, uma vez que é precursor da mesma. O  $\beta$ -caroteno é amplamente conhecido devido às suas características antioxidantes e pelas suas propriedades corantes em alimentos (Ribeiro e Seravalli, 2007).

#### **2.4.2.5. ÁCIDO ASCÓRBICO**

As vitaminas são constituintes menores dos alimentos, mas essenciais. São necessárias para o crescimento, manutenção e funcionamento do corpo humano (Belitz e Grosch, 1999).

Esta vitamina é solúvel em água e é muito importante para a alimentação humana. O ácido ascórbico, amplamente distribuído nas células vegetais, é fundamental no crescimento e metabolismo dos produtos hortofrutícolas. Este ácido é um antioxidante potente que elimina vários tipos de oxigénio livre, mantém a membrana unida ao antioxidante  $\alpha$ -tocoferol, mantém os iões metálicos na sua forma reduzida, serve de cofator para várias enzimas e desempenha um papel importante na resistência ao *stress* (Ulloa *et al.*, 2011).

#### **2.4.2.6. AZOTO**

O azoto (N) é considerado um elemento essencial para as plantas, pois está presente na composição das mais importantes biomoléculas, tais como ATP, clorofila, proteínas e inúmeras enzimas. Em muitos sistemas de produção, a disponibilidade de azoto é quase sempre um fator limitante, influenciando o crescimento da planta mais do que qualquer outro nutriente (Bredemeier, 2000).

#### **2.4.2.7. MINERAIS**

Os minerais são constituintes que permanecem nas cinzas depois da incineração de tecidos animais e vegetais. São outros elementos químicos – para além do carbono, hidrogénio, oxigénio e azoto – que estão presentes nos alimentos em concentrações relativamente baixas (Miller, 1996).

Podem ser divididos em duas categorias: minerais principais (cálcio, potássio, fósforo, cloro, sódio e magnésio) e minerais vestigiais (ferro, zinco, cobre, manganésio, iodo, molibdénio, etc). Consoante a sua função biológica, também podem ser divididos em minerais essenciais (cujas funções biológicas são conhecidas), minerais não essenciais (com funções desconhecidas) e minerais tóxicos (presentes na água, nos alimentos e no ar) (Belitz e Grosch, 1999).

A quantidade dos minerais num produto hortofrutícola, varia conforme fatores genéticos e climatéricos, práticas agrícolas (ex.: rega com água salgada), composição do solo, grau de amadurecimento e processamento da matéria-prima (Brackett, 1993). A importância dos minerais, enquanto constituintes alimentares, não se deve apenas às suas funções fisiológicas e nutricionais. Estes contribuem para o sabor dos alimentos, afetam também a textura dos mesmos e ativam ou inibem algumas reações (Belitz e Grosch, 1999).

#### **2.4.3. PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS**

A análise de parâmetros microbiológicos tem como principal função assegurar que os alimentos são saudáveis e seguros, do ponto de vista alimentar, para o consumidor (Adams e Moss, 1995).

A microbiologia é uma ciência que estuda organismos que não são visíveis à vista desarmada, que se dividem em diferentes grupos:

- > Vírus;
- > Bactérias;
- > Fungos;
- > Parasitas (Brackett, 1993).

Para a preservação da qualidade dos alimentos, pretende-se destruir ou inibir o crescimento dos microrganismos, no entanto, devem ser considerados os fatores:

Intrínsecos – Propriedades físico-químicas do alimento;

Extrínsecos – Propriedades físicas e químicas do ambiente envolvente do alimento;

Implícitos – Propriedades fisiológicas que possibilitem o desenvolvimento de microrganismos resultantes da interação entre os fatores intrínsecos e extrínsecos (Board, 1983).

Na maioria dos vegetais e seus produtos, os valores de pH são mais elevados (nos tecidos), o que causa uma maior suscetibilidade para contaminação bacteriana. Além disso, podem ser encontrados em vegetais armazenados uma quantidade de fungos relevantes (Adams e Moss, 1995).

#### **2.4.3.1. BACTÉRIAS**

As bactérias são os organismos unicelulares mais simples, sendo capazes de viver independentemente. Estes organismos contêm todos - ou quase todos - os componentes que necessitam para o seu crescimento e reprodução (Brackett, 1993).

#### **2.4.3.2. FUNGOS**

Fungos é um termo que abrange um vasto grupo de organismos eucariontes relacionados entre si. Os bolores e as leveduras são os mais conhecidos e os que têm maior impacto na qualidade pós-colheita dos vegetais. Os fungos são capazes de uma reprodução tanto assexuada, como sexuada (Brackett, 1993).

#### **2.4.4. PARÂMETROS SENSORIAIS**

A análise de parâmetros sensoriais é uma área científica usada para obter, avaliar, analisar e interpretar as reações a determinadas características dos alimentos, tal

como são percebidos pelos sentidos da visão, cheiro, paladar, tato e audição (IFT, 1981).

Não existe qualquer instrumento que possa replicar ou substituir as respostas humanas e como tal, a análise dos parâmetros sensoriais é essencial em investigações sobre alimentos. Esta ciência aplica-se a diversas áreas, tais como, desenvolvimentos de novos produtos, melhoramento de produtos, controlo de qualidade, estudos acerca de armazenamento de alimentos e desenvolvimento de métodos de processamento (Watts *et al.* 1989).

## **2.5. REVESTIMENTOS EDÍVEIS**

Muitas têm sido as técnicas desenvolvidas para aumentar o tempo de armazenamento após colheita, de frutas e vegetais frescos. Várias entidades estimam que 25 a 80% das frutas e vegetais colhidos são desperdiçados devido à sua deterioração. Um dos métodos para aumentar o tempo de vida após a colheita é o uso de revestimentos edíveis. Estes revestimentos são constituídos por materiais comestíveis que servem para envolver o produto fresco, fornecendo uma barreira semipermeável a gases e a vapor de água (Baldwin, 1994).

Os revestimentos edíveis têm as seguintes funções:

- > Reduzir a perda de humidade;
- > Substituir as ceras naturais (que poderão ter sido eliminadas nas operações de limpeza);
- > Cobrir ferimentos;
- > Reduzir trocas gasosas;
- > Reter compostos voláteis;
- > Melhorar a aparência (Almeida, 2004).

Os tipos de materiais utilizados para a produção destes revestimentos podem ser hidrocoloidais, lipídicos (ceras, ácidos gordos, etc) e compostos. Os hidrocoloidais são misturas de proteínas e/ou polissacarídeos, à base de água. Os compostos podem ser

de bi camada - uma camada por cima da outra - ou aglomerados - vários compostos misturados na mesma camada (Saltveit, 2006).

As propriedades de cada tipo de material encontram-se descritas no Quadro 2.4.

**Quadro 2.4 – Características dos revestimentos edíveis**

Fonte: Saltveit (2006)

Tipo de Material	Hidrocoloidal	Lipídico	Composto
Características	Fraca resistência ao vapor de água	Barreira ao vapor de água	Combina as vantagens dos seus componentes
	Barreira para O <sub>2</sub> e CO <sub>2</sub>	Confere brilho ao produto	Diminui as desvantagens dos seus componentes.
	Resistência mecânica	Pouca resistência estrutural e durabilidade	---

### 2.5.1. NATURE SEAL

É um revestimento edível patenteado e comercializado, reconhecido como seguro (GRAS - Generally Recognized As Safe). Este revestimento aumenta o tempo de prateleira, inibindo a respiração e o processo oxidativo, mantendo o sabor, a textura e a cor original (Nature Seal, Inc., 2012).

O Nature Seal é constituído por uma mistura de ácido ascórbico com um ou mais dos seguintes compostos: cloreto de cálcio, carbonato de cálcio, cloreto de magnésio, hidróxido de cálcio, ácido cítrico e citrato de sódio (Lidster *et al.*, 2011).

### 2.5.2. CITRAL

O nome Citral deriva do nome científico da planta *Backhousia citriadora* de onde era extraído originalmente. No início, este composto era utilizado para dar sabor a limão em alimentos e bebidas (Wuryatmo, 2011).

O Citral é o maior constituinte (65 a 85%) do óleo de erva-cidreira – extraído das folhas desta (Saddiq e Khayyat, 2010). Este composto, enquanto componente alimentar, é reconhecido como seguro (GRAS), com uma dose diária recomendada (DDR) de 0 a 0,5 mg/kg P<sub>Corporal</sub> (Wuryatmo, 2011).

O composto Citral – Figura 2.6 – pode ser isolado de plantas que naturalmente o contenham no seu óleo (ex.: *Backhousia citriadora*, *Cymbopogon flexuosus*, *Litsea cubeba*) ou pode ser produzido através da reação do acetileno com a acetona (Wuryatmo, 2011).

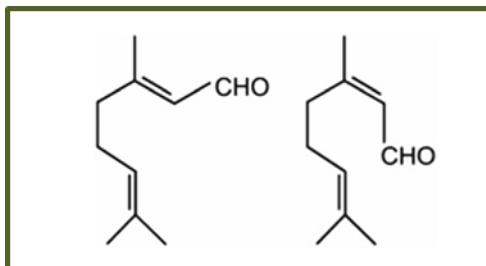


Figura 2.6 – Estrutura química do Citral

Fonte: Saddiq e Khayyat (2010)

A sua eficiência, como agente antimicrobiano em revestimentos edíveis com base de alginato, tem sido amplamente estudada (Raybaudi-Massilia, 2008). Existem estudos acerca da aplicação deste composto para controlar doenças provocadas por fungos em citrinos (Wuryatmo, 2011).

### 2.5.3. EUGENOL

O Eugenol – Figura 2.7 – é um composto aromático do óleo essencial do cravo (*Syzygium aromaticum*). O Eugenol corresponde a 49 a 78% da composição do óleo de cravo (Kegley *et al.*, 2008).

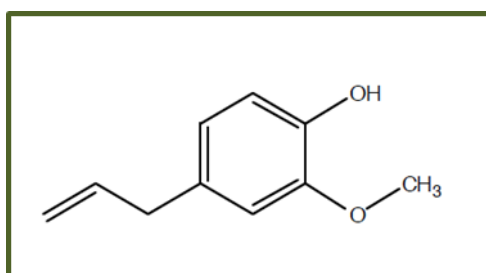


Figura 2.7 – Estrutura química do Eugenol

Fonte: Kegley *et al.* (2008)

Têm sido realizadas investigações acerca da inclusão deste composto em revestimentos comestíveis, como antimicrobiano contra uma vasta quantidade de microrganismos (Raybaudi-Massilia, 2008). Segundo Sánchez-González *et al.* (2011),

este composto tem propriedades antimicrobianas contra as bactérias patogênicas e *Aspergillus*.

A Associação Federal de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos da América (FDA – Food and Drug Administration) reconhece o óleo de cravo – Eugenol - como totalmente seguro (GRAS) para uso alimentar como aditivo (Kegley *et al.*, 2008).

## **2.6. ARMAZENAMENTO**

Os produtos hortofrutícolas são alimentos altamente perecíveis e para garantir a sua elevada qualidade é importante realizar corretamente todas as etapas desde a colheita até ao consumo - embalagem, armazenamento, transporte, distribuição e venda (Gago *et al.*, 2011a).

### **2.6.1. TEMPO DE PRATELEIRA**

A duração do armazenamento pode ser apenas de algumas horas ou estender-se durante meses. O tempo de prateleira de um produto hortofrutícola vai depender de vários fatores, como a qualidade inicial do produto, a sua estabilidade no armazenamento, as condições externas e as formas de manuseio (Shewfelt e Prussia, 1993).

O tempo de prateleira pode ser estendido, mantendo a mercadoria a uma temperatura ótima, controlando a humidade relativa ou mesmo recorrendo ao uso de conservantes químicos ou tratamento com irradiações (Shewfelt e Prussia, 1993).

### **2.6.2. REFRIGERAÇÃO**

A refrigeração é um dos métodos mais antigos e populares para prolongar o tempo de vida útil de um alimento perecível (Eskin, 1990). Controlar a temperatura é o fator mais importante para manter a qualidade de um produto após colheita. A refrigeração é a primeira abordagem para aumentar o tempo de prateleira, uma vez que reduz a respiração e outros processos metabólicos (Gago *et al.*, 2011a).

O armazenamento refrigerado atrasa a deterioração de produtos perecíveis, retardando:

- > O envelhecimento devido ao amadurecimento e mudanças de textura e cor;
- > As mudanças metabólicas indesejáveis;
- > A perda de humidade e murchamento consequente;
- > A deterioração devido à invasão de bactérias e fungos (Gago *et al.*, 2011a).

As temperaturas de armazenamento vão depender do tipo de hortofrutícola que pretende armazenar. Contudo, os limites de temperatura têm de ser considerados, pois temperaturas muito baixas, ainda que sejam acima da temperatura de congelação, podem causar danos (Gago *et al.*, 2011a).

## 2.7. ESPECIARIAS

O termo especiaria deriva do latim *species aromatacea* que significa frutos da terra. Porém, o nome passou a ser apenas *species*, referindo-se a uma mercadoria distinta e com valor especial (Farrell, 1985).

Segundo a Associação Federal de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos da América (FDA), especiarias são substâncias vegetais aromáticas, que são utilizadas inteiras, trituradas ou em pó, cuja função significativa no alimento é o tempero (FDA, 2009).

### Sal Verde

A Salicórnia seca e triturada, transforma-se numa especiaria – Sal Verde – podendo ser utilizada como tempero. O Sal Verde é mais vantajoso em relação ao sal comum, pois é rico em substâncias depurativas e diuréticas (Raposo *et al.*, 2009).

O engenheiro agrónomo Antonio Amaury Silva Júnior refere que a Salicórnia tem um sabor salgado suave, sendo a sua quantidade de sal adequada, o que não causa problemas na saúde do ser humano, possuindo ainda assim as vantagens do sal, no que diz respeito aos micronutrientes (Instituto de Pesca de São Paulo, 2010).

Para a obtenção deste sal, a planta é submetida a dois processamentos: a secagem e a trituração.

### **2.7.1. SECAGEM**

A secagem de plantas é uma técnica que deve ser realizada de uma forma extremamente cuidadosa, chegando por vezes a ser bastante dispendiosa, pois é no decorrer deste procedimento que se dá uma maior degradação do produto (Nunes, 1997). Se a secagem for realizada incorretamente, pode levar ao aparecimento de bolores (Herbs and spices processing, 2006).

A secagem é o procedimento que é utilizado há mais tempo para a conservação de plantas. Ao desidratar uma planta, o seu volume reduz consideravelmente (em relação à planta fresca), sendo essa redução importante para o armazenamento, transporte ou processamento (Nunes, 1997).

O processo de secagem decorre em duas etapas, sendo que ocorre primeiro a secagem da água da superfície da planta – a água livre. Seguidamente, dá-se a evaporação da água ligada aos constituintes da planta. Existem vários equipamentos para a desidratação de alimentos que são classificados segundo:

- > Fluxo de carga e descarga - contínuo ou descontínuo;
- > Tipo de pressão utilizada - atmosférica ou vácuo;
- > Método de aquecimento - direto ou indireto;
- > Sistema de fornecimento de calor - convecção, condução, radiação ou dielétrico (Nunes, 1997).

A escolha de um determinado tipo de equipamento de secagem é feita segundo o produto que vai ser desidratado, a forma que se pretende obter e a viabilidade económica.

### **2.7.2. TRITURAÇÃO**

A trituração ou moagem é uma técnica de redução de dimensões que permite adequar a matéria-prima para uma finalidade específica, ou seja, facilitar a mistura do

condimento/tempero (Sal Verde) com os alimentos e permitir uma melhor difusão do sabor do mesmo (United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) e Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO), 2005).

Existem vários equipamentos utilizados para realizar esta técnica, sendo que aplicam forças diferentes, consoante a redução desejada (Vicente e Venâncio, 2008) – Quadro 2.5.

**Quadro 2.5 – Tipos de forças aplicadas à trituração e respetivos princípios e equipamentos**  
Fonte: Vicente e Venâncio (2008)

<b>Força</b>	<b>Princípio</b>	<b>Aparelho</b>
Compressão	Compressão	Cilindros trituradores
Impacto	Impacto	Moinhos de martelos
Corte	Abrasão	Moinhos de discos

Para seleccionar o aparelho adequado deve ter-se em conta:

- > Dureza e abrasividade das matérias;
- > Estrutura mecânica das matérias;
- > Humidade;
- > Sensibilidade à temperatura (Vicente e Venâncio, 2008).

O aparelho ideal é aquele que nos permite obter a redução de dimensões pretendida, com o menor custo possível.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAL VEGETAL FRESCO

A *Salicornia ramosissima* foi colhida no Parque Natural da Ria Formosa – Figura 3.1 – cedida pela empresa Necton. Para cada ensaio, recolheram-se amostras frescas, sendo que o 1º ensaio decorreu em maio e o 2º ensaio em junho (considerando que o desenvolvimento das plantas jovens ocorre entre março e julho).



Figura 3.1 – Equipa de recolha das amostras (Dulce Antunes, Custódia Gago, Ana Sousa e Miriam Alves Julião)  
Fonte: ©2013 Miriam Alves Julião

#### 3.2. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

##### *Salicornia ramosissima*

Cortaram-se as plantas em caules de 7 a 8 cm (Figura 3.2) e lavaram-se com água potável. Seguidamente separaram-se as amostras em grupos e imergiram-se as mesmas, durante 2 minutos, em soluções de Nature Seal (Nature Seal Inc), Eugenol (Sigma), Citral (Sigma) e Nature Seal + Citral. As plantas de controlo foram imersas apenas em água destilada – Figura 3.3. Em cada ensaio, submeteram-se as amostras a dois tratamentos (Quadro 3.1).



Figura 3.2 – Corte das plantas de Salicórnia

Fonte: ©2013 Miriam Alves Julião

Quadro 3.1 – Diferentes tratamentos (e respectivas concentrações) aplicados às amostras de Salicórnia, no início de cada ensaio | Fonte: ©2013 Miriam Alves Julião

Imersão, durante 2 minutos, em:			
	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3
1º Ensaio	Água Destilada	Nature [6%]	Nature + Citral [6% + 0,025%]
2º Ensaio	Água Destilada	Eugenol [0,025%]	Citral [0,025%]

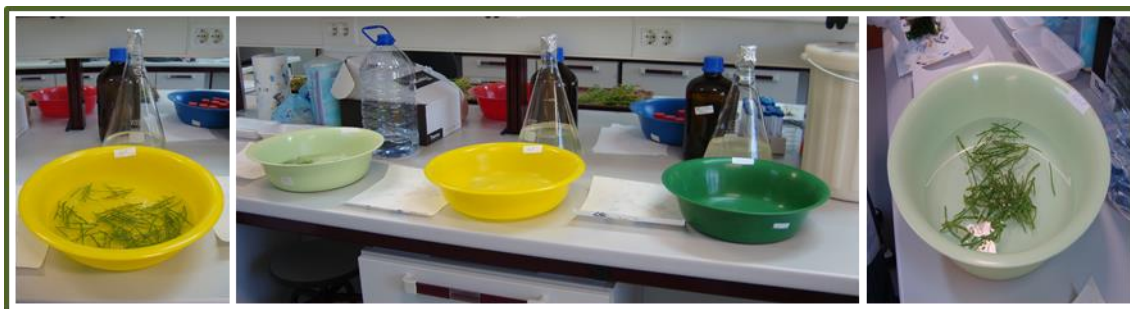


Figura 3.3 – Aplicação dos tratamentos nas amostras de Salicórnia

Fonte: ©2013 Miriam Alves Julião

Após imersão, removeu-se o excesso de solução com papel absorvente e prepararam-se amostras para armazenamento em *cuvettes* de polietileno expandido (21,5 x 13,5 cm), cobertas com película de polietileno linear com 10  $\mu$ m de espessura – Figura 3.4. Em seguida, as embalagens conservaram-se em câmaras de refrigeração a 4 e 9  $\pm$  0,5  $^{\circ}$ C (1º ensaio) e a 1 e 6  $\pm$  0,5  $^{\circ}$ C (2º ensaio). Por fim, realizaram-se análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais nas amostras do tempo 1 (dia), tempo 2 (dia 7), tempo 3 (dia 14) e tempo 4 (dia 21).



Figura 3.4 – Secagem das amostras de *Salicornia* e embalagem das mesmas

Fonte: ©2013 Miriam Alves Julião | Gago *et al.* (2011b)

## Sal Verde

Para a preparação do Sal Verde, colocaram-se a secar as amostras frescas de *Salicornia* na estufa (Memmer) a  $70 \pm 0,5$  °C, durante o tempo suficiente para que as mesmas mantivessem um peso constante (aproximadamente uma semana). Após a secagem, procedeu-se à sua trituração com o moinho (MF 10 basic IKA®WERKE), com o crivo de 2 mm. As plantas foram armazenadas em tubos *Falcon* (selados com película Parafilm) à temperatura ambiente ( $\approx 25$  °C) e a uma temperatura fria (6 °C). Realizaram-se análises físico-químicas e microbiológicas no tempo 1, ao fim de 90 dias (tempo 2) e por fim aos 180 dias (tempo 3).

### 3.3. PARÂMETROS FÍSICOS

Na determinação dos parâmetros que se seguem, realizaram-se triplicados de cada amostra.

#### 3.3.1. COR

Utilizando como referência o método de Koukoumaras e Sfakiotakis (2007), este parâmetro avaliou-se nas amostras de *Salicornia* e de Sal Verde, ao longo do tempo de armazenamento. A cor da halófito determinou-se através do uso de um colorímetro (CR-300 Minolta Meter). Utilizou-se a escala CIE  $L^*a^*b^*$  que permite uma classificação numérica da cor. O instrumento calibrou-se previamente usando um padrão de referência branco ( $L^* = 97,14$ ;  $a^* = 0,38$ ;  $b^* = 1,70$ ) e um padrão de referência preto ( $L^* =$

26,90;  $a^* = -0,43$ ;  $b^* = -0,79$ ). O valor de  $L^*$  varia entre o branco (100) e o preto (0), indicando a luminosidade; o valor de  $a^*$  determina a quantidade de vermelho ( $+a^*$ ) ou de verde ( $-a^*$ ); e o valor de  $b^*$ , caracteriza a variação da cor entre o amarelo ( $+b^*$ ) e o azul ( $-b^*$ ) (Martin-Diana *et al.*, 2006).

As coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  possibilitam calcular o ângulo Hue ( $H^\circ$ ) ou tonalidade da cor. Quando os valores de  $H^\circ$  estão próximos de  $0^\circ$ , a cor é púrpura, quando estão próximos de  $90^\circ$  as amostras apresentam-se amareladas, verde-azuladas quando próximos de  $180^\circ$  ou ainda azuis se rondarem os  $270^\circ$ . O termo *chroma* (também designado como saturação ou pureza da cor) distingue cores vivas de cores baças (Pomeranz e Meloan, 1994).

O ângulo Hue ( $H^\circ$ ) e o *chroma* ( $C^*$ ) são dois parâmetros efetivos na caracterização da cor da amostra, calculados através da equação 1 e 2, respetivamente (Silva, 2007).

$H^\circ = 180^\circ + \tan^{-1} (b^*/a^*)$ <p>quando <math>a^* &lt; 0</math> e <math>b^* &gt; 0</math></p>	(Equação 1)	$C^* = [(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$	(Equação 2)
---	-------------	-----------------------------------	-------------

### 3.3.2. PERDA DE PESO

Este parâmetro analisou-se nas amostras de Salicórnia, no decorrer dos ensaios, segundo Sothornvit e Kiatchanapaibul (2009). Para avaliar o peso perdido pelas amostras, pesou-se com uma balança digital (Denver Instrument Company) a massa inicial da amostra para cada tratamento e temperatura. No decorrer do ensaio, pesaram-se as mesmas amostras e calculou-se a perda de peso em percentagem relativamente à sua massa original.

### 3.3.3. PERDA DE ELETRÓLITOS

Este parâmetro analisou-se nas amostras de Salicórnia, ao tempo 1, 2, 3 e 4. Cortaram-se 6 ápices de Salicórnia, todos com igual comprimento, de modo a que no total pesassem 4 gramas. Colocaram-se os mesmos em tubos *Falcon* e agitaram-se. Deixou-se à temperatura ambiente ( $\approx 25^\circ\text{C}$ ) e mediu-se a condutividade elétrica (CE)

## MATERIAIS E MÉTODOS

usando um condutivímetro (Thermo Electron, Orion 3 Star com eletrodo Orion Conductivity Cell), após 2, 4 e 6 horas de repouso. Congelaram-se as amostras durante 24 horas e descongelaram-se. Repetiu-se novamente o congelamento e o descongelamento até ficar à temperatura ambiente e mediu-se a CE, sendo esta considerada a perda total de eletrólitos. Os valores após as 2, 4 e 6 horas foram calculados em percentagem do total.

### 3.4. PARÂMETROS QUÍMICOS

Na determinação dos parâmetros que se seguem, realizaram-se triplicados de cada amostra.

#### 3.4.1. AMOSTRA FRESCA

Para a determinação dos parâmetros que se seguem, realizaram-se análises em amostras frescas da planta halófito *Salicornia ramosissima*.

##### 3.4.1.1. CLOROFILA

A análise do teor em clorofilas efetuou-se nas amostras de Salicórnia fresca, através da espectrofotometria ultravioleta (UV) e visível a 665 e 649 nm, segundo Charles *et al.* (2008). As clorofilas foram extraídas de 1 grama de amostra macerada juntamente com 62,5 mL de acetona a 80% (José Manuel Gomes dos Santos, Lda) e 0,3 g de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub> da Riedel-de Haën). A maceração realizou-se com um pilão, durante 3 minutos. Filtrou-se a mistura e completou-se o volume de 125 mL com acetona a 80%. Leram-se as absorvâncias, no espectrofotómetro (Ultrospect 1100 Pro), a dois comprimentos de onda (649 e 665 nm) e calculou-se o teor total de clorofilas em mg/L, segundo a equação 3 (Charles *et al.*, 2008).

$$\text{Teor Total em Clorofilas} = 6,45 \times \text{Abs}_{665} + 17,72 \times \text{Abs}_{649}$$

(Equação 3)

Os resultados finais foram expressos em mg/100 g de P<sub>F</sub> de amostra.

### 3.4.1.2. $\beta$ – CAROTENO

Este parâmetro determinou-se através de espectrofotometria ultravioleta e visível a 470 nm, conforme apresentado por Reyes *et al.* (2007). Esta análise realizou-se nas amostras de Salicornia ao tempo 0. Inicialmente preparou-se uma solução acetona/etanol (A/E), com 50 mL de etanol a 96 % (AGA), 50 mL de acetona a 80 % (José Manuel Gomes dos Santos, Lda) e 0,02 g de BHT (Fluka). Este último adicionou-se para evitar a oxidação do  $\beta$ -caroteno, possibilitando a realização desta análise à temperatura ambiente e com luz.

Seguidamente, pesou-se 1 g de amostra, adicionaram-se 5 mL da solução A/E e macerou-se. Prosseguiu-se com a filtração e após a mesma, lavou-se o filtro com 10 mL da solução A/E. Colocou-se o filtrado num tubo *Falcon*, adicionaram-se 10 mL da solução A/E e outros 10 mL de hexano a 98% (Pronalab). Agitou-se e deixou-se repousar no escuro, durante 15 minutos. Após o repouso, adicionaram-se 10 mL de água mili-Q, agitou-se a amostra, colocou-se numa ampola de decantação e deixou-se decantar durante 30 minutos, no escuro. De seguida, retirou-se a fase inferior e leu-se absorvância da fase superior num espectrofotómetro de UV-visível (Ultrospect 1100 Pro) a 470 nm.

Para a reta padrão, elaborou-se uma solução com 0,1 g de  $\beta$ -caroteno ( $C_{40}H_{56}$  da Sigma-Aldrich) e 1 mL de hexano. Prepararam-se várias concentrações a partir dessa solução (0,05; 0,025; 0,0125; 0,00625; 0,003125), leram-se as absorvâncias a 470 nm e obteve-se o gráfico que se segue – Gráfico 3.1.

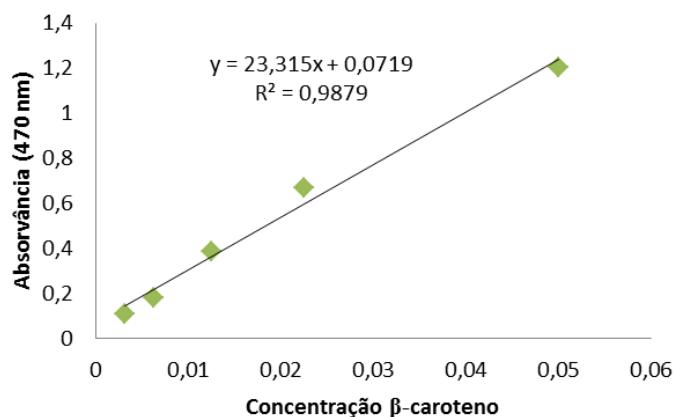


Gráfico 3.1 - Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada na determinação do teor em  $\beta$ -caroteno das amostras

Os resultados finais foram expressos em mg/100g de amostra.

### **3.4.1.3. ÁCIDO ASCÓRBICO**

Determinou-se o ácido ascórbico (AA) pelo método de titulação indofenol, com referência ao método apresentado em A.O.A.C. (2000). Esta determinação baseia-se na redução do indicador pelo ácido ascórbico. No fim da titulação, o corante em excesso vai apresentar uma coloração rosa cravo. O título do corante pode ser determinado usando uma solução padrão de AA.

A determinação do teor em ácido ascórbico realizou-se através da análise das amostras da Salicórnia (no decorrer do ensaio) e elaboraram-se as seguintes soluções:

#### **Solução de Ácido Oxálico**

Pesaram-se 10 g de ácido oxálico ( $C_2H_2O_4$  da Fluka), colocaram-se num balão volumétrico de 1000 mL e dissolveu-se com água destilada, perfazendo o volume.

#### **Solução padrão de AA**

Mediram-se 100 mg de AA ( $C_6H_8O_6$  da Merck) para um balão volumétrico de 100 mL e dissolveram-se em 100 mL de ácido oxálico.

#### **Solução de Indofenol (Corante)**

Pesaram-se 42 mg de carbonato de sódio (Pronalab) e juntaram-se 50 mL de água destilada. Adicionaram-se 50 mg de 2,6-diclorofenol indofenol (Fluka). Perfez-se o volume até 200 mL com água destilada, filtrou-se e armazenou-se num frasco de vidro escuro.

Para a preparação das amostras, mediram-se 15 g de Salicórnia, maceraram-se e adicionaram-se 45 mL de ácido oxálico. Desta solução retiraram-se 10 mL, filtrou-se e utilizou-se para fazer as titulações.

Inicialmente efetuaram-se controlos aos reagentes/soluções, através da titulação de um branco (apenas com 7 mL de ácido oxálico). Em seguida, colocaram-se 5 mL de

## MATERIAIS E MÉTODOS

ácido oxálico em cada um de 3 Erlenmeyer, adicionaram-se 2 mL da solução padrão de AA e realizou-se a titulação até a solução adquirir uma coloração rosa cravo que durasse mais do que 5 segundos. Repetiu-se para as outras réplicas e a média dos volumes gastos nas 3 titulações, deu 20,6 mL, sendo este valor, o título. Procedeu-se da mesma forma para analisar as amostras, substituindo os 2 mL de solução padrão de AA por 2 mL de amostra.

Os resultados finais foram expressos em mg de ácido ascórbico/100 g P<sub>F</sub>.

### 3.4.2. AMOSTRA SECA

Para a determinação dos parâmetros que se seguem, realizaram-se análises em amostras secas da planta halófito *Salicornia ramosissima*.

#### 3.4.2.1. AZOTO

Esta análise realizou-se nas amostras de Salicórnia, pelo método de Kjeldahl, com referência ao descrito em A.O.A.C. (2000). Efetuaram-se várias soluções para a determinação deste parâmetro.

#### Solução de Hidróxido de Sódio a 35%

Dissolveram-se 350 g de hidróxido de sódio a 98 % (NaOH da ABSOLVE) em água destilada, num balão volumétrico de 1000 mL e fez-se o volume com água destilada.

#### Solução Ácido Bórico a 4%

Pesaram-se 40 gramas de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> da Pronalab) para um balão volumétrico de 1000 mL e dissolveu-se com água destilada até ao volume total do balão.

#### Solução de Ácido Clorídrico a 0,005 N

Pipetaram-se 0,425 mL de ácido clorídrico a 37 % (HCl da Riedel-de Haën) e diluiu-se com água destilada para um balão volumétrico de 1000 mL.

**MATERIAIS E MÉTODOS**

Pesaram-se 2 gramas de amostra previamente seca, num papel de filtro (Whatman nº 42). Introduziu-se o papel de filtro com a amostra no tubo de Kjeldahl, adicionou-se uma pastilha de catalisador e juntaram-se 25 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado da Riedel-de Haën). Colocaram-se os tubos de Kjeldahl na bateria de digestão e aumentou-se gradualmente a temperatura até aos 350 °C. A digestão terminou, quando a substância sólida desapareceu e a solução ficou incolor. Transferiu-se o digerido para o aparelho de destilação e preparou-se um balão com água destilada. No tubo de saída do destilador (Pró-nitro II), colocou-se um balão Erlenmeyer de 250 mL com 10 mL da solução de ácido bórico e 3 gotas de indicador misto (vermelho de metil e azul metileno da Panreac). A destilação terminou após a viragem do indicador de rosa para verde. Finalmente prosseguiu-se com a titulação, utilizando a solução de ácido clorídrico 0,005 N, até que o indicador virou para rosa.

Para calcular o teor de azoto, recorreu-se à equação 4 e obtiveram-se os resultados em %. O teor de azoto final foi convertido em g/100 g P<sub>5</sub>.

$$\% N = \frac{V \times f \times 0,014 \times 100}{P} \quad (\text{Equação 4})$$

(em que V = volume de HCl gasto na titulação (mL); f = titulação do HCL → 0,005 N; P = peso da amostra; 0,014 = valor de N que reage com 1 mL de HCL 1 N).

**3.4.2.2. MINERAIS**

A análise de minerais efetuou-se nas amostras de Salicórnia, apenas no tempo inicial.

**Preparação das amostras**

A preparação das amostras efetuou-se segundo o método de calcinação (Protocolo do Laboratório de Solos e Resíduos. FCT – Universidade do Algarve). Pesou-se 1 g de amostra seca num cadinho de porcelana e colocou-se na mufla (Termolyne Type 1500 Furnace) a 500 °C durante algumas horas (aproximadamente 7) até à combustão total da amostra. Retirou-se o cadinho da mufla e colocou-se no exsicador durante 30 minutos. Seguidamente retirou-se o cadinho do exsicador e adicionaram-se 10 mL de

## MATERIAIS E MÉTODOS

ácido clorídrico a 37% (HCL da Riedel-de Haën). Colocou-se o cadinho na placa de aquecimento (VELP Scientifica – Qlabo), sendo que o aquecimento se efetuou de forma lenta e no interior da *hotte* (Industrial Laborum). Retirou-se o cadinho da placa de aquecimento assim que se verificou a libertação de fumo branco. Filtrou-se o conteúdo do cadinho para um balão volumétrico de 100 mL e realizou-se a aferição do volume com água destilada.

### 3.4.2.2.1. FÓSFORO

A determinação deste mineral efetuou-se por espectrofotometria ultravioleta e visível a 375 nm, com base no descrito em A.O.A.C. (2000). Elaboram-se um conjunto de soluções, seguidamente descritas.

#### **Solução de Molibdato de Amónio a 5 % (Solução 1)**

Dissolveram-se 50 g de molibdato de amónio ( $H_{24}Mo_7N_6O_{24}.H_2O$  da Riedel-de Haën) em água bidestilada num balão de 1000 mL e perpez-se o volume. Armazenou-se a solução num frasco de vidro escuro e colocou-se no frigorífico (INDESIT).

#### **Solução de Vanadato de Amónio a 0,25 % (Solução 2)**

Pesaram-se 2,5 g de vanadato de amónio ( $NH_4VO_4$  da Panreac) e dissolveram-se em 500 mL de água quente. Após arrefecimento, adicionaram-se 350 mL de ácido nítrico concentrado a 65 % ( $HNO_3$  da Riedel-de Haën). Aguardou-se novamente o arrefecimento e perpez-se o volume num balão volumétrico, de 1000 mL, com água bidestilada.

#### **Reagente Misto**

Esta solução preparou-se diariamente num volume correspondente à quantidade de amostras a analisar. Mediram-se volumes iguais da solução 1 e da solução 2 para um balão Erlenmeyer e homogeneizou-se a solução.

**Solução Padrão de Fósforo de 100 ppm**

Pesou-se 0,4349 g de potássio di-hidrogeno fosfato a 99,5% ( $\text{KH}_2\text{HPO}_4$  da Merck), sendo que este foi previamente seco na estufa (Memmer) a 100 °C (até peso constante) e dissolveu-se em 20 mL de água destilada. Posteriormente fez-se o volume num balão volumétrico, de 1000 mL, com água destilada.

Para a realização de uma curva de calibração, prepararam-se soluções padrão com as seguintes concentrações: 0, 2, 4, 6, 8 e 10 ppm, de acordo com Quadro 3.2.

Quadro 3.2 – Preparação das diluições das soluções padrão de fósforo

Concentração da solução (ppm)	Quantidade da solução padrão 100 ppm (mL)	Quantidade de reagente misto (mL)	Quantidade água destilada (mL)	Volume final (mL)
0	0	12,5	37,5	50
2	1	12,5	36,5	50
4	2	12,5	35,5	50
6	3	12,5	34,5	50
8	4	12,5	33,5	50
10	5	12,5	32,5	50

Para a preparação das amostras, pipetaram-se 5 mL das mesmas para um balão volumétrico de 50 mL, adicionaram-se 12,5 mL de reagente misto e agitou-se cuidadosamente. Deixou-se repousar durante 15 minutos e fez-se o volume com água destilada.

A leitura da absorvância por espectrofotometria dos padrões e das amostras foi realizada no espectrofotômetro (Ultrospect 1100 Pro) a 375 nm. A reta padrão utilizada para determinar a quantidade de fósforo presente nas amostras está representada no Gráfico 3.2.

Apresentaram-se os resultados finais em g/100 g de  $\text{P}_5$  de amostra.

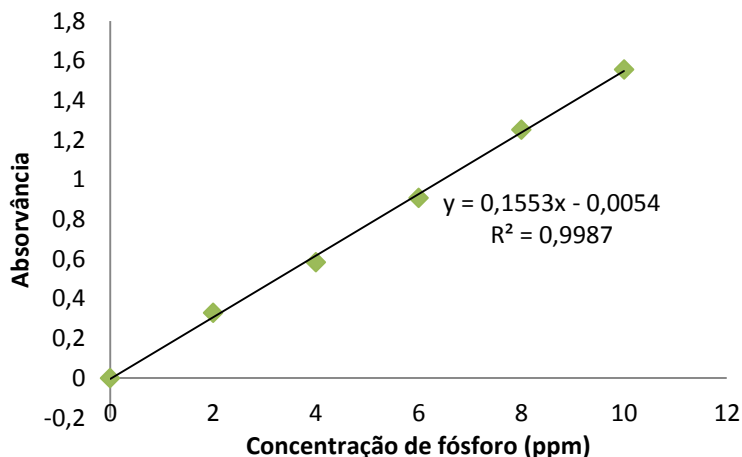


Gráfico 3.2 - Reto padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para quantificação do fósforo

#### 3.4.2.2.2. POTÁSSIO

Quantificou-se o teor deste mineral por fotometria de chama, com base no descrito em A.O.A.C. (2000). A partir da solução *stock* de potássio de 1000 ppm (Panreac), pipetou-se 10 mL para um balão volumétrico de 100 mL e fez-se o volume com água desionizada. Para a construção da reta padrão, prepararam-se várias concentrações da solução padrão (0, 2, 4, 6, 8 e 10 ppm).

No Gráfico 3.3, encontra-se apresentada a reta padrão para o potássio, elaborada a partir dos resultados obtidos através das soluções padrão.

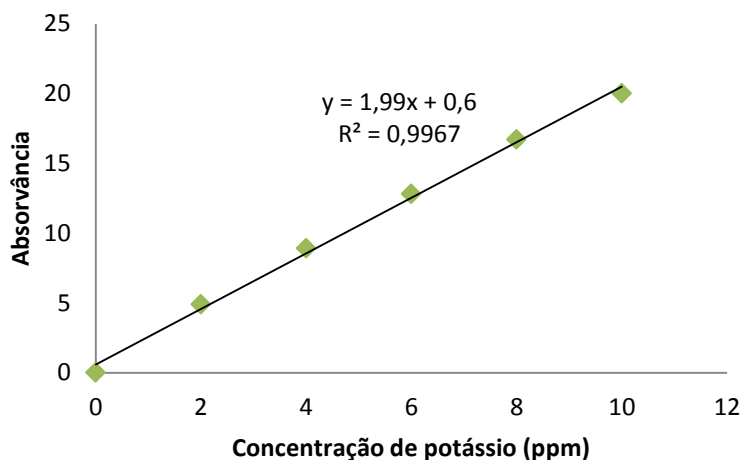


Gráfico 3.3 - Reto padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada na determinação do potássio

**MATERIAIS E MÉTODOS**

Procedeu-se à leitura através do fotómetro de chama (Jenway PFP-7). Quando o valor da leitura excedeu o intervalo da curva padrão, diluíram-se as amostras.

Os resultados finais foram expressos em g/100 g de P<sub>s</sub> de amostra.

**3.4.2.2.3. SÓDIO**

O teor deste parâmetro determinou-se por fotometria de chama, com base no descrito em A.O.A.C. (2000). Para a preparação da solução padrão de sódio 100 ppm (Panreac), pipetaram-se 10 mL da solução *stock* de sódio de 1000 ppm e diluiu-se em 100 mL de água desionizada. Elaboraram-se várias soluções padrão com as seguintes concentrações: 0, 2, 4, 6, 8 e 10 ppm, posteriormente utilizadas para a construção da reta padrão – Gráfico 3.4.

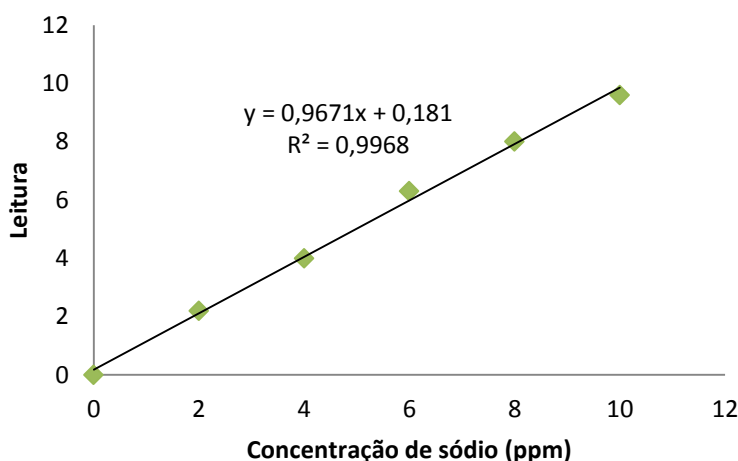


Gráfico 3.4 - Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada na determinação do sódio

Utilizou-se o fotómetro de chama (Jenway PFP-7) para obter a leitura das análises. Quando se verificou que o valor da leitura da amostra excedeu o intervalo da curva padrão, procedeu-se à sua diluição.

Para obter os resultados finais não se utilizou a equação da reta, uma vez que os resultados obtidos são expressos em ppm. Estes converteram-se e apresentaram-se em g/100 gramas de P<sub>s</sub>.

**3.4.2.2.4. SULFATOS**

Para a quantificação em sulfatos utilizou-se espectrofotometria ultravioleta e visível a 450 nm, segundo o manual de utilização do espectrofotómetro. Este método baseia-se na reação do ião sulfato, existente na amostra, com o cloreto de bário – presente na dose de reagente Sulpha4 – que vai originar sulfato de bário (pouco solúvel).

Leu-se a solução obtida por calcinação para a determinação de minerais num espectrofotómetro UV-visível (Lange Hach United for Water Quality DR2800), a 450 nm. Efetuou-se uma diluição 1:10 e colocaram-se 9 mL de água destilada e 1 mL de amostra nas células. De seguida, colocou-se uma dose de reagente (Sulpha4) na célula. Deixou-se repousar 5 minutos e efetuou-se a leitura.

Os resultados obtidos são expressos em g/100 g de P<sub>s</sub> da amostra.

**3.4.2.2.5. OUTROS ELEMENTOS**

A solução da Salicórnica obtida pelo método de calcinação com ácido clorídrico foi enviada e analisada pelo Laboratório de Análises Químicas (LAQ) - Pavilhão D6 da Universidade do Algarve no Campus de Gambelas. No Quadro 3.3, encontram-se descritos os minerais analisados, bem como os métodos utilizados.

**Quadro 3.3 – Elementos analisados e respetivos métodos**

<b>Mineral</b>	<b>Método</b>
Cádmio (Cd)	Espetrofotometria de absorção atómica a 228,8 nm em câmara de grafite
Cálcio (Ca)	Espetrofotometria de absorção atómica de chama a 422,7 nm
Chumbo (Pb)	Espetrofotometria de absorção atómica a 217,0 nm em câmara de grafite
Cloretos (Cl)	Eléctrodo seletivo de cloretos
Cobre (Cu)	Espetrofotometria de absorção atómica a 324,8 nm em câmara de grafite
Ferro (Fe)	Espetrofotometria de absorção atómica de chama a 248,3 nm
Zinco (Zn)	Espetrofotometria de absorção atómica de chama a 213,9 nm

### 3.4.2.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a determinação deste parâmetro, realizou-se a extração dos componentes da Salicórnia para uma solução – Figura 3.5. Pesou-se 1 g da planta seca, cortaram-se em pequenos cilindros de 2 mm e adicionaram-se 7 mL de etanol a 96 % (AGA). Colocaram-se as amostras no sonicador (Sonics&Materials Vibra Cell), a 20 Hz, durante 1 minuto, repetindo este último passo 3 vezes. Centrifugaram-se as amostras numa centrífuga (Universal 320 Hettich Zentrifuger) a 2000 RCF, durante 5 minutos. Retirou-se o sobrenadante e congelaram-se as amostras numa arca de congelação (INDESIT).



Figura 3.5 – Solução da extração dos componentes da planta *Salicornia ramosissima*

A atividade antioxidante das amostras avaliou-se recorrendo a dois métodos.

#### 3.4.2.3.1. TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITY (TEAC)

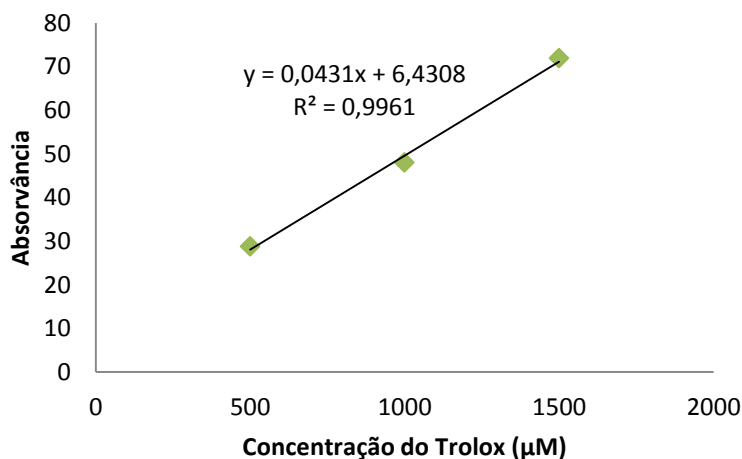
Este método consiste na determinação da redução do catião radical  $ABTS^+$ , que resulta da oxidação do ABTS quando em contato com uma amostra que contenha antioxidantes. A redução do  $ABTS^+$  é quantificada pela reação do mesmo com os fenóis que existam na amostra (Rodrigues, 2009).

A determinação deste parâmetro efetuou-se segundo Re *et al.* (1998). Preparou-se uma solução de ABTS (7 mM), à qual se adicionou uma solução de persulfato de potássio (2,45 mM) e incubou-se a mistura no escuro durante 24 horas, à temperatura

**MATERIAIS E MÉTODOS**

ambiente. Inicialmente leu-se a absorvância do etanol (auto-zero) e solução de ABTS com persulfato de potássio (controlo). Diluiu-se o controlo com etanol, até se obter uma absorvância aproximada de 0,700. Para análise das amostras, colocou-se numa *cuvette* 990  $\mu\text{L}$  do controlo e leu-se a absorvância (Ultrospec 1100 Pro) a 734 nm. Em seguida, adicionou-se a amostra (10  $\mu\text{L}$ ), aguardaram-se 6 minutos (tempo da reação) e leu-se a absorvância a 734 nm.

Para a preparação dos padrões, utilizou-se o antioxidante Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico, solução “stock” de 2,5 mM), o qual foi armazenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para a posterior preparação das diferentes concentrações (500  $\mu\text{M}$ , 1000  $\mu\text{M}$  e 1500  $\mu\text{M}$ ). Os padrões leram-se da mesma forma que as amostras, substituindo os 10  $\mu\text{L}$  de amostra por 10  $\mu\text{L}$  de padrão. As absorvâncias lidas foram utilizadas para a elaboração da reta padrão – Gráfico 3.5.



**Gráfico 3.5 - Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para a determinação da concentração de antioxidantes nas amostras, através do método TEAC**

Para calcular a capacidade antioxidante das amostras, usou-se a equação 5 e os resultados foram expressos em mM equivalentes de Trolox/100 g de  $P_s$  de amostra.

$$\frac{\text{Abs.}_{\text{ABTS}} - \text{Abs.}_{\text{ABTS} + \text{amostra}}}{\text{Abs.}_{\text{ABTS}} \times 100} \quad (\text{Equação 5})$$

### **3.4.2.3.2. OXYGEN RADICAL ABSORBANCE CAPACITY (ORAC)**

Este método permite determinar a capacidade do antioxidante para captar radicais peróxido formados por uma fonte radicalar, a 37 °C. A determinação do poder antioxidante baseia-se na redução da concentração de um substrato radicalar ao longo do tempo, diferenciando-se do método TEAC, que apenas determina a diminuição da inibição no momento da análise (Almajano, 2009).

Utilizou-se o método ORAC sugerido por Ou *et al.* (2001), no entanto, adaptou-se o mesmo ao manual de utilização do leitor de placas (Biotek, Sinergy 4). Elaboraram-se várias soluções para a análise deste parâmetro.

#### **Solução Tampão Fosfato**

Mediram-se 80,2 mL de  $K_2HPO_4$  (Merck), colocou-se num balão volumétrico de 250 mL e fez-se o volume com água milli-Q. Pipetaram-se 19,8 mL de  $KH_2PO_4$  (Merck), colocou-se num balão volumétrico de 100 mL e fez-se o volume com água milli-Q. Juntaram-se as duas soluções num balão volumétrico de 1000 mL e fez-se com água milli-Q.

#### **Solução de Fluoresceína**

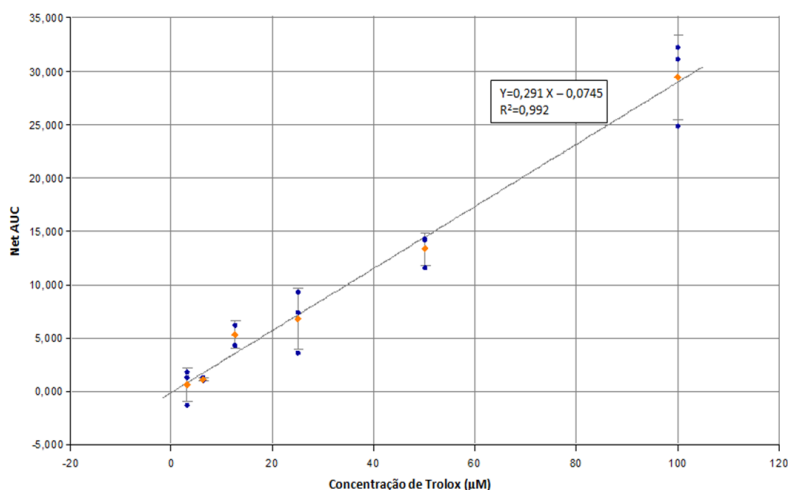
Preparou-se uma solução de fluoresceína ( $C_{20}H_{10}Na_2O_5$  da Sigma Aldrich) de 1 mM e filtrou-se a solução. Elaborou-se a solução intermédia, composta por 0,4 mL da solução de fluoresceína e 10 mL de água milli-Q. Ainda se preparou uma solução diariamente, de 0,4 mL da intermédia com 20 mL de água milli-Q.

#### **Solução de ABAP**

Pesaram-se 0,1 gramas de ABAP 98% (2,2' – Azobis (2 methylpropionamide) dihydrochloride da ACRÕS). Esta solução preparou-se diariamente.

### Solução Trolox a 0,02 M

Pesaram-se 0,5006 g de Trolox ( $C_{14}H_{18}O_4$  da Fluka), adicionou-se 100 mL de água milli-Q e a partir desta solução, elaboraram-se várias diluições para construir a reta padrão (100; 50; 25; 12,5 e 6,125  $\mu$ M) – Gráfico 3.6.



**Gráfico 3.6 - Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para a determinação da concentração de antioxidantes nas amostras, através do método ORAC**

A leitura das amostras efetuou-se em microplacas pretas (VWR), cujo preenchimento se encontra apresentado na Figura 3.6.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		F	ABAP	TP 50	TP 12	TP 3	2	4	6	10	11	
C		F	ABAP	TP 50	TP 12	TP 3	2	4	6	10	11	
D		F	ABAP	TP 50	TP 12	TP 3	2	4	6	10	11	
E		F	ABAP	TP 25	TP 6	1	3	5	7	9	12	
F		F	ABAP	TP 25	TP 6	1	3	5	7	9	12	
G		F	ABAP	TP 25	TP 6	1	3	5	7	9	12	
H												

**Figura 3.6 - Esquema representativo do preenchimento dos poços de uma microplaca**

F representa 150  $\mu$ L da solução de Fluoresceína (1 mM) + 50  $\mu$ L da solução Tampão Fosfato de Potássio (0,075); **ABAP** representa 150  $\mu$ L da solução de Fluoresceína (1 mM) + 25  $\mu$ L da solução Tampão Fosfato de Potássio (0,075 M) + 25  $\mu$ L da solução de ABAP (320 mM); **TP 50** representa 150  $\mu$ L da solução de Fluoresceína (1 mM) + 25  $\mu$ L da solução de Trolox (50  $\mu$ M) + 25  $\mu$ L da solução de ABAP (320 mM); **TP 25** representa 150  $\mu$ L da solução de Fluoresceína (1 mM) + 25  $\mu$ L da solução de Trolox 25  $\mu$ M + 25  $\mu$ L da solução de ABAP (320 mM); **TP 12** representa 150  $\mu$ L da solução de Fluoresceína (1 mM) + 25  $\mu$ L da solução de Trolox (12,5  $\mu$ M) + 25  $\mu$ L da solução de ABAP (320 mM); **TP 6** representa 150  $\mu$ L da solução de Fluoresceína (1 mM) + 25  $\mu$ L da solução de Trolox 6,25  $\mu$ M + 25  $\mu$ L da solução de ABAP (320 mM); **TP 3** representa 150  $\mu$ L da solução de Fluoresceína (1 mM) + 25  $\mu$ L da solução de Trolox 3,125  $\mu$ M + 25  $\mu$ L da solução de ABAP (320 mM).

Para proceder à leitura das amostras, colocou-se a microplaca no leitor de placas e incubou-se durante 10 minutos a 37 °C. Seguidamente, adicionou-se ABAP e efetuou-se uma agitação rápida durante 30 segundos. Prosseguiu-se com a leitura, a um comprimento de onda de excitação de 485,20 nm e de emissão de 528,20 nm, de 30 em 30 segundos, durante 90 minutos.

A capacidade antioxidante apresentou-se em mM de equivalentes de Trolox/100 g de P<sub>5</sub> de amostra.

#### **3.4.2.4. COMPOSTOS FENÓLICOS**

A análise destes compostos efetuou-se nas amostras de Salicórnia e Sal Verde, no decorrer dos ensaios. Prepararam-se as amostras de forma idêntica à forma referida para a determinação da atividade antioxidante. A espectroscopia ultravioleta é uma das técnicas para a deteção de fenóis. Todos os fenóis têm um máximo de absorção característico numa região ultra violeta entre 239 e 290 nm. Podem classificar-se algumas das classes dos compostos fenólicos, através da utilização do comprimento de onda característico de cada classe (ex.: ácidos hidroxicinâmicos de 310 a 332 nm e flavonóis de 350 a 390 nm). A quantificação dos fenóis totais é geralmente feita pelo método de Folin-Ciocalteu que se baseia no número de grupos fenólicos ou noutros potenciais grupos oxidáveis presentes nos compostos da amostra. Vários padrões podem servir de referência para a comparação de amostras, como por exemplo, o ácido gálico, ácido cafeíco, quercetina, entre outros.

##### **3.4.2.4.1. ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS**

A análise deste parâmetro realizou-se por espectrofotometria de leitura direta a 320 nm. Elaborou-se o solvente A (10 de etanol a 96 % (AGA) + 100 mL de água destilada), o solvente B (95 mL de etanol + 5 mL de água destilada + 0,1 mL de HCl a 37 % (Riedel-Haën) e o solvente C (98 mL de água destilada + 2 mL de HCl). Para a preparação da solução padrão de ácido cafeíco (C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> da Fluka), pesaram-se 10 mg do mesmo e

adicionaram-se 100 mL do solvente A. As diluições realizadas encontram-se apresentadas no Quadro 3.4.

Quadro 3.4 – Preparação das diluições das soluções padrão de ácido cafeico

Quantidade da solução padrão cafeico (mL)	Quantidade solvente A (mL)	Volume final (mL)
7,5	2,5	10
5	5	10
2,5	7,5	10
1	9	10

Mediu-se 1 mL de cada padrão para a célula, adicionou-se 1 mL do solvente B e fez-se o volume, até 10 mL, com o solvente C. Leu-se a absorvância (Ultraspect 1100 Pro) a 320 nm. As absorvâncias obtidas foram utilizadas na construção da reta padrão – Gráfico 3.7.

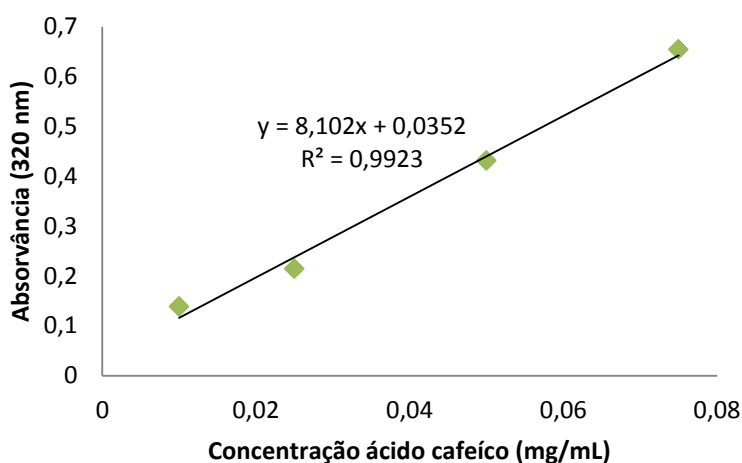


Gráfico 3.7 - Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para a quantificação de ácidos hidroxicinâmicos da amostra

Seguidamente, leram-se as amostras da mesma forma, substituindo o 1 mL de padrão por 1 mL de amostra. O auto-zero realizou-se com solvente B e com solvente C.

Os resultados finais foram expressos em g/100 g de P<sub>s</sub> de amostra.

### 3.4.2.4.2. Flavonóis

A quantificação deste parâmetro efetuou-se por espectrofotometria de leitura direta a 360 nm, Elaboraram-se os solvente A, B e C da mesma forma que na quantificação anterior. Para a preparação da solução padrão de quercetina ( $C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2H_2O$  da Sigma-Aldrich), pesaram-se 15 mg da mesma e adicionaram-se 100 mL do solvente A. No Quadro 3.5 encontram-se apresentadas as diluições efetuadas.

Quadro 3.5 – Preparação das diluições das soluções padrão de quercetina

Quantidade da solução padrão quercetina (mL)	Quantidade solvente A (mL)	Volume final (mL)
7,5	2,5	10
5	5	10
2,5	7,5	10
1	9	10

Mediu-se 1 mL de cada padrão para a célula, adicionou-se 1 mL do solvente B e fez-se o volume, até 10 mL, com o solvente C. Leu-se a absorvância (Ultrospect 1100 Pro) a 360 nm. As absorvâncias obtidas foram utilizadas na construção da reta padrão – Gráfico 3.8.

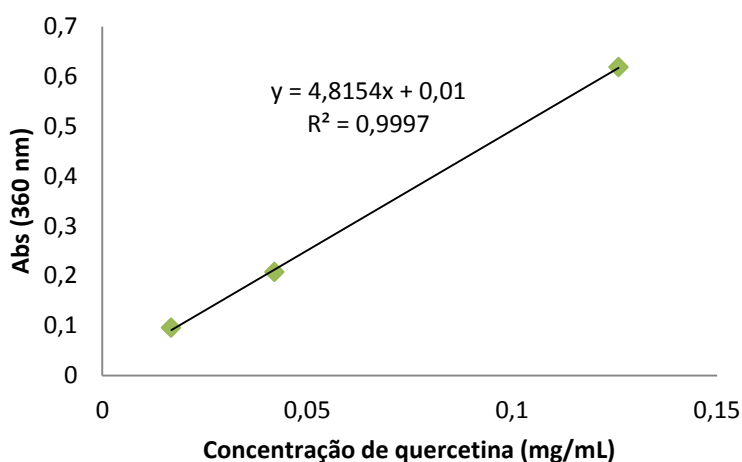


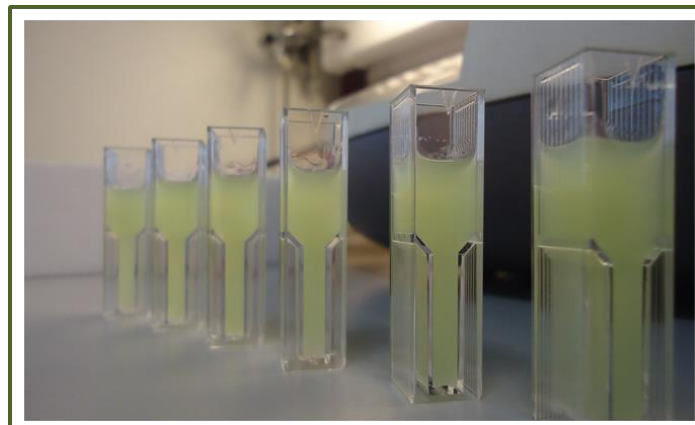
Gráfico 3.8 - Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para a quantificação de flavonóis da amostra

Seguidamente, leram-se as amostras da mesma forma, substituindo o 1 mL de padrão por 1 mL de amostra. O auto-zero realizou-se com solvente B e com solvente C. Os resultados finais foram expressos em g/100 g de P<sub>s</sub> de amostra.

#### **3.4.2.4.3. Fenóis Totais**

Para a determinação dos fenóis totais da halófito, utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu, de acordo com Penarrieta *et al.* (2007). Para a preparação da solução de Folin-Ciocalteu (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O da Merck), mediram-se 10 mL do reagente, colocou-se num balão volumétrico de 100 mL e perpez-se o volume com etanol a 96% (AGA). Para a realização da solução carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> da Pronalab), pesaram-se 7,5 gramas do mesmo para um balão volumétrico de 100 mL e perpez-se o volume com água destilada.

Para análise das amostras, colocou-se 0,80 mL da solução de carbonato de sódio na célula, juntou-se 0,2 mL da amostra e 1 mL da solução de Folin. Incubou-se durante 30 minutos (à temperatura ambiente) e centrifugou-se a amostra (Universal 320 Hettich Zentrifuger) durante 5 minutos a 5000 RCF. Retirou-se o sobrenadante e leu-se a amostra num espectrofotómetro (Ultrospect 1100 Pro), a 765 nm – Figura 3.7.



**Figura 3.7 – Sobrenadante obtido para leitura no espectrofotómetro**

Para a construção da reta padrão, prepararam-se soluções de ácido gálgico com as concentrações 0,02; 0,15 e 0,2 (mg/mL) e leram-se as absorvâncias da mesma forma que se efetuou para as amostras – Gráfico 3.9.

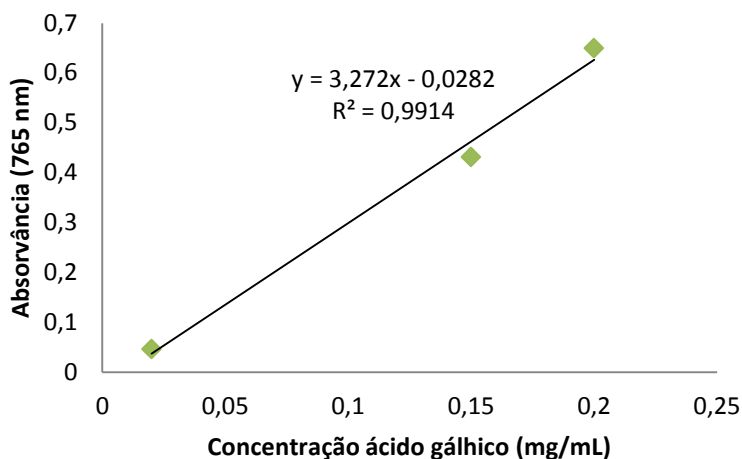


Gráfico 3.9 - Reta padrão com equação e coeficiente de correlação, utilizada para a quantificação de fenóis totais da amostra

Os resultados obtidos foram expressos em mg GAE e g GAE/100 g de P<sub>s</sub> de amostra.

### 3.5. PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

#### Preparação das Amostras

Pesaram-se 10 g de Salicórnica/Sal Verde para um saco de mistura de homogeneizador (Bag Light® 20 x 25), juntaram-se 90 mL de água peptonada tamponada (Merck) e homogeneizou-se (Stomacher Masticator IUL Instruments) a amostra durante 90 segundos – Figura 3.8. Prepararam-se amostras para cada tempo, tratamento e temperatura, em duplicado.

Realizaram-se várias diluições (até 10<sup>-6</sup>) da amostra homogeneizada (solução-mãe).

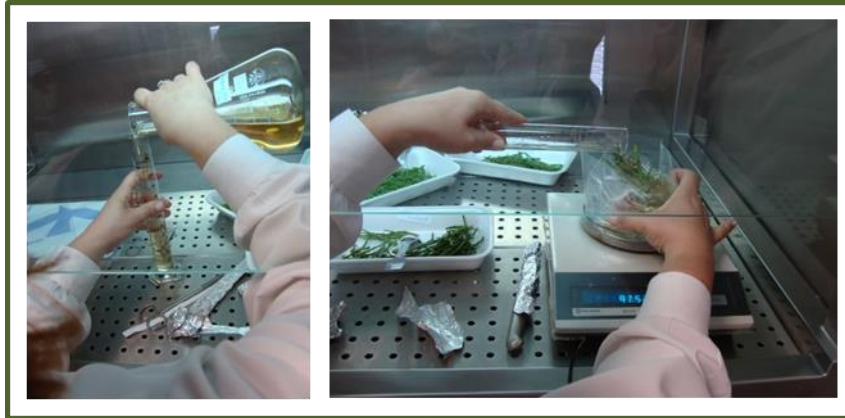


Figura 3.8 – Preparação da solução-mãe para análises microbiológicas da Salicórnica

### **3.5.1. BACTÉRIAS PSICRÓFILAS**

Estes microrganismos analisaram-se utilizando com base o método apresentado na ISO 17410:2001. Inoculou-se 100  $\mu$ L de cada diluição em meio Plate Count Agar – PCA (Merck), recorrendo à técnica do espalhamento. As placas foram incubadas a  $15 \pm 0,5$  °C, durante 5 dias.

### **3.5.2. BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS**

Estes microrganismos analisaram-se utilizando com base o método apresentado na ISO 4883:2003. Plate Count Agar – PCA (Merck), recorrendo à técnica do espalhamento. As placas foram incubadas a  $30 \pm 0,5$  °C, durante 48 horas.

### **3.5.3. BOLORES E LEVEDURAS**

Estes microrganismos analisaram-se utilizando com base o método apresentado na ISO 7954:1984. Inoculou-se 100  $\mu$ L de cada diluição em meio Sabouraud (Merck), recorrendo à técnica do espalhamento. As placas foram incubadas a  $25 \pm 0,5$  °C, durante 72 horas.

Após os respetivos tempos de incubação, procedeu-se à contagem das unidades formadoras de colónias (UFC) por grama e o valor final foi expresso em unidades logarítmicas de UFC/g de amostra.

### **3.6. PARÂMETROS SENSORIAIS**

Esta análise efetuou-se para a Salicórnia, no decorrer do ensaio, e para análise destes parâmetros foram convidados 15 provadores, de ambos os sexos e com uma faixa etária variada (18 a 50 anos), que não possuíam qualquer tipo de treino específico.

Para a realização do inquérito, recorreu-se a uma escala hedónica de 1 a 5 pontos, que representam uma descrição verbal da sensação que é transmitida pelo produto. O painel de provadores atribuiu uma classificação aos parâmetros avaliados (aparência, cor, sal, textura, suculência, sabor e aroma).

O inquérito apresentado a cada um dos provadores para a avaliação dos parâmetros sensoriais da planta halófita *Salicornia ramosissima* pode ser consultado na secção Anexos, no Anexo I.

### **3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados obtidos durante o ensaio experimental foram analisados no Software SPSS v. 16.0 (Statistical Package for Social Sciences).

Neste programa, analisou-se a variância (ANOVA) e comparações múltiplas através do Teste Duncan, que permitiu determinar as diferenças significativas entre tratamentos aplicados à Salicórnia e o efeito dos mesmos no decorrer do ensaio. As diferenças entre as médias ao nível de 5% ( $p < 0,05$ , ou seja, num intervalo de confiança de 95%) foram consideradas significativas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. CARATERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Para a caracterização nutricional da planta halófito *Salicornia ramosissima* determinaram-se vários parâmetros químicos (ácido ascórbico, azoto,  $\beta$ -caroteno, cádmio, cálcio, chumbo, cloro, clorofilas, cobre, ferro, fósforo, sódio, sulfatos, potássio e zinco) e o parâmetro físico da cor.

Os valores referentes à cor da planta halófito ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  e  $H^\circ$ ) encontram-se representados no Quadro 4.1.

**Quadro 4.1 - Cor da planta halófito *Salicornia ramosissima***  
(Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas)

Parâmetro				
$L^*$	$a^*$	$b^*$	<i>chroma</i> ( $C^*$ )	Hue ( $H^\circ$ )
37,38 $\pm$ 1,96	-10,99 $\pm$ 0,43	22,75 $\pm$ 0,64	27,27 $\pm$ 0,77	115,76 $\pm$ 0,25

Através da análise dos valores obtidos, verifica-se que a planta apresenta uma cor verde, uma vez que o valor de  $a^*$  é negativo, no entanto, é um verde com tons verde-amarelados, tendo em conta que o valor de  $b^*$  é positivo. O valor de  $L^*$  é de 37,38, indicando um verde mais escuro. O valor de  $H^\circ$  indica também, a cor esverdeada com tons amarelos da planta.

Os valores referentes à composição bioquímica da halófito *Salicornia* (clorofilas,  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico e azoto) encontram-se representados no Quadro 4.2.

**Quadro 4.2 – Composição bioquímica da *Salicornia ramosissima***  
(Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas)

Parâmetro			
Clorofilas mg/100g PF	$\beta$ -Caroteno mg/100g PF	Ácido Ascórbico mg/100g PF	Azoto g/100g PS
27,63 $\pm$ 4,48	0,65 $\pm$ 0,86	0,86 $\pm$ 0,11	0,23 $\pm$ 0,003

A halófito *Salicornia ramosissima* apresenta um teor de clorofilas semelhante ao da halófito *Sarcocornia perennis* (29,95 mg/100g P<sub>F</sub>) apresentado por Sousa (2012) e realizado em paralelo com este trabalho experimental. No entanto, o valor da *Salicornia ramosissima* é bastante inferior ao valor apresentado por Lu *et al.* (2010) para a *Salicornia bigevolii* (56,91 mg/100g P<sub>F</sub>).

Relativamente ao  $\beta$ -caroteno, a planta apresenta 0,65 mg/100g P<sub>F</sub>. Este valor é muito semelhante ao da *Sarcocornia perennis* (0,5 mg/100g P<sub>F</sub>), embora seja ligeiramente superior. Comparando com o valor da *Salicornia bigevolii* (15,9 mg/100g P<sub>F</sub>), verifica-se que a *Salicornia ramosissima* possui um teor de  $\beta$ -caroteno bastante inferior.

O teor em ácido ascórbico é bastante baixo (0,86 mg/100g P<sub>F</sub>) comparativamente ao teor apresentado para a *Salicornia bigevolii* (5,84 mg/100g P<sub>F</sub>). Porém, o teor apresentado pela *Sarcocornia perennis* é relativamente próximo (0,68 mg/100g P<sub>F</sub>). Considerando que a dose diária recomendada (DDR) de ácido ascórbico para um adulto (> 19 anos) é de 45 mg/dia (FAO, 2002), cada porção edível de 100 gramas da planta *Salicornia ramosissima* preenche 2% das carências necessárias de ácido ascórbico.

Quanto ao valor apresentado para o teor de azoto da halófito *Salicornia ramosissima* é de 0,23 g/100 g de P<sub>S</sub> de planta, bastante similar ao obtido no estudo da *Sarcocornia perennis* (0,21 g/100g P<sub>S</sub>).

Os valores referentes aos minerais da planta halófito *Salicornia ramosissima* (cálcio, cloro, fósforo, sódio, sulfato, potássio, cádmio, chumbo, cobre, ferro e zinco) encontram-se representados no Quadro 4.3.

**Quadro 4.3 – Minerais da planta *Salicornia ramosissima***  
(Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas)

	Parâmetro		
	g/100g P <sub>S</sub>	mg/100g P <sub>S</sub>	
Sódio (Na)	18,19 ± 0,13	Ferro (Fe)	19,67 ± 0,0026
Cálcio (Ca)	0,27 ± 0,009	Zinco (Zn)	3,39 ± 0,64

**Quadro 4.3 (Continuação) – Minerais da planta *Salicornia ramosissima***  
(Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas)

Parâmetro			
	g/100g Ps		mg/100g Ps
Cloro (Cl)	0,19 ± 0,092	Cobre (Cu)	1,32 ± 0,19
Fósforo (F)	0,23 ± 0,004	Chumbo (Pb)	0,15 ± 0,023
Sulfato (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	1,57 ± 0,15	Cádmio (Cd)	0,05 ± 0,01
Potássio (K)	1,06 ± 0,013		

O mineral sódio apresenta um valor de 18,19 g/100 g de P<sub>s</sub>, para a planta halófitas *S. ramosissima*. Outros estudos em plantas halófitas apresentam valores semelhantes para a *Sarcocornia perennis* (16 g/100g P<sub>s</sub>) e para a *Salicornia europaeae* (12,9 g/100g P<sub>s</sub>) sendo este último apresentado por CEVA (2003). São igualmente apresentados valores bastante inferiores para a *Salicornia herbacea* (1,22 g/100g P<sub>s</sub>) e para a *Salicornia bigevolii torr* (3,1 g/100g P<sub>s</sub>), sendo que esta última foi analisada por Attia *et al.* (1997) e doravante será mencionada como *Salicornia bigevolii torr* II. O consumo quer excessivo, quer insuficiente deste mineral, causa sérias consequências na saúde humana (Belitz e Grosch, 1999). Segundo a National Academy of Sciences (2004), a dose diária recomendada para adultos (≥ 19 anos) é de 1,5 gramas, ou seja, devem ingerir-se o máximo de 8,25 g de *Salicornia* por dia.

Relativamente ao cálcio, a planta *Salicornia ramosissima* apresenta um teor de 0,27 gramas por cada 100 gramas de P<sub>s</sub>. Este valor assemelha-se aos teores da *Salicornia europaeae* (0,38 g/100g P<sub>s</sub>), da *Sarcocornia perennis* (0,31 g/100g P<sub>s</sub>) e da *Salicornia bigevolii torr* II (0,365 g/100g P<sub>s</sub>), embora seja ligeiramente inferior. Segundo a FAO (2002), a DDR é de 1000 mg de cálcio/dia para adultos (19-65 anos), ou seja, 100 gramas de *Salicornia ramosissima* asseguram 27% das necessidades diárias deste mineral.

Quanto ao mineral cloro presente na planta *Salicornia ramosissima*, este apresenta um teor de 0,19 g por 100 gramas de P<sub>s</sub> da planta. Comparando com o valor apresentado para a halófitas *Sarcocornia perennis* (0,082 g/100g P<sub>s</sub>) verificamos que

esta última possui menos de metade do teor da *S. ramosissima*. A dose diária recomendada para este mineral é 1500 mg para um adulto (National Academy of Sciences, 2004), ou seja, 100 gramas de *Salicornia ramosissima* contêm cerca de 8% das necessidades diárias de cloro.

O teor em fósforo obtido para 100 gramas da planta halófito *Salicornia ramosissima*, é de 0,23 gramas. A *Salicornia bigevolii torr II* apresenta um valor três vezes mais elevado (0,66 g/100g P<sub>S</sub>) do que o da *S. ramosissima*. No entanto, o valor da planta *Sarcocornia perennis* é bastante similar (0,22 g/100g P<sub>S</sub>), bem como o da *Salicornia europeae* (0,25 g/100g P<sub>S</sub>). A ingestão de 100 gramas da *S. ramosissima* provê 33% das carências diárias de fósforo, para um adulto, segundo a dose diária recomendada de 0,7 gramas, referida por Padovani *et al.* (2006).

Relativamente à presença de sulfatos na planta halófito *Salicornia ramosissima*, esta apresenta um teor de 1,57 gramas por cada 100 gramas de halófito. O valor obtido para a *S. ramosissima* é superior ao obtido para a *Sarcocornia perennis* (0,93 g/100g P<sub>S</sub>).

Quanto ao mineral potássio, a halófito *Salicornia ramosissima* apresenta 1,06 gramas por cada 100 gramas de P<sub>S</sub>. Outras halófitas, apresentam valores próximos, tais como 1,11 g de potássio por 100 gramas de P<sub>S</sub> de *Sarcocornia perennis*, 1,35 g por 100 gramas de P<sub>S</sub> de *Salicornia europeae* e 1,32 g por 100 gramas de P<sub>S</sub> de *S. bigevolii torr II*. Segundo o FNB e IOM (2005), a dose diária recomendada deste mineral para adultos (≥ 18 anos) é de 4,7 g, ou seja, cada 100 gramas de *S. ramosissima* contém cerca de 23% das necessidades diárias de potássio.

A planta *Salicornia ramosissima* apresenta um teor de ferro de 19,67 mg por cada 100 gramas de P<sub>S</sub>. Outros estudos em halófitas, apresentam valores superiores para a *Sarcocornia perennis* (35,02 mg/100g P<sub>S</sub>), para a *Salicornia herbacea* (66,2 mg/100g P<sub>S</sub>) e para a *Salicornia bigevolii torr* (44 mg/100g P<sub>S</sub>). A ficha nutricional da Salicornia (CEVA, 2011) apresenta um teor inferior (4,9 mg/100g P<sub>S</sub>), bem como a *Salicornia europeae* (9 mg/100g P<sub>S</sub>). Tendo em conta que a DDR para um adulto (≥ 19 anos) varia de 8 a 18 mg/dia (National Academy of Sciences, 2004), bastaria a ingestão de 50

gramas de parte edível da planta *Salicornia ramosissima* para suprir as necessidades diárias de ferro no organismo humano.

Quanto ao teor em zinco, a halófito *Salicornia ramosissima* apresenta 3,39 mg por cada 100 gramas de P<sub>s</sub>. Este teor é aproximado ao da *Sarcocornia perennis* (2,12 mg/100g P<sub>s</sub>) e ao da *Salicornia bigevollii torr* II (4 mg/100g P<sub>s</sub>). Para a *Salicornia bigevollii torr* o valor é significativamente inferior ao da *Salicornia ramosissima* (0,41 < 3,39 mg/100g P<sub>s</sub>). Considerando que para um adulto (≥ 18 anos), segundo a FAO (2002), a DDR é de 59-72 µg/kg de peso corporal (P<sub>c</sub>) e supondo que o adulto pesa 65 kg, 100 gramas de parte edível de *Salicornia ramosissima* suprem 72% a 88% das necessidades diárias deste mineral.

A planta halófito *Salicornia ramosissima* apresenta o valor mais elevado do mineral cobre (1,32 mg/100g P<sub>s</sub>) em relação às halófitas de outros estudos analisados neste trabalho, contudo, com valores relativamente próximos – *Sarcocornia perennis* (1,12 mg/100g P<sub>s</sub>); *Salicornia herbacea* (1,1 mg/100 g P<sub>s</sub>); *Salicornia bigevollii torr* II (1 mg/100g P<sub>s</sub>). A DDR recomendada é de 0,05 a 0,5 mg/ kg P<sub>c</sub> (JECFA, 1982), ou seja, 100 gramas de *Salicornia ramosissima* contêm 4 a 40% das necessidades diárias de cobre.

O teor de chumbo que a halófito *Salicornia ramosissima* apresenta é de 0,15 mg por cada 100g P<sub>s</sub>, muito próximo do teor apresentado para a *Sarcocornia perennis* (0,16 mg/100g P<sub>s</sub>). Por outro lado, a planta *Salicornia bigevollii torr* apresenta um teor bastante inferior (0,002 mg/100g P<sub>s</sub>). Este mineral é um metal pesado que não possui nenhuma função específica no organismo, cuja acumulação excessiva provoca graves doenças (EFSA, 2010). Segundo Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI, 1999), o valor máximo de ingestão de chumbo não deve exceder 0,025 mg/kg P<sub>c</sub>/semana. Se considerarmos um adulto (≥ 18 anos) com um peso corporal de 65 kg, o limite diário para ingestão deste mineral é de 0,23 mg por dia, sendo que 100 gramas de parte edível de *Salicornia ramosissima* não atingem esse limite.

Relativamente ao teor de cádmio, a *Salicornia ramosissima* apresenta um valor de 0,05 mg/100g P<sub>s</sub>, bastante semelhante ao da planta *Sarcocornia perennis* (0,04 mg/100g P<sub>s</sub>). A halófito *Salicornia bigevollii torr* apresenta um valor inferior (0,001 mg/100g P<sub>s</sub>) aos acima mencionados. À semelhança do chumbo, o cádmio também é

um metal pesado, cuja acumulação no organismo deve ser evitada (EFSA, 2009). Como tal, o valor de consumo deste mineral de 0,007 mg/kg P<sub>C</sub>/semana (PTWI, 2005) não deve ser excedido. Um adulto ( $\geq 18$  anos) com um peso corporal de 65 kg, teria de ingerir 1 kg da planta *Salicornia ramosissima* por semana, para ultrapassar o limite máximo de cádmio que deve ser ingerido.

## 4.2. CARACTERIZAÇÃO AO LONGO DO TEMPO

No decorrer deste projeto, analisaram-se parâmetros quer na Salicórnia fresca refrigerada, quer no Sal Verde (Salicórnia seca e triturada), ao longo do ensaios.

### 4.2.1. SALICÓRNIA FRESCA REFRIGERADA

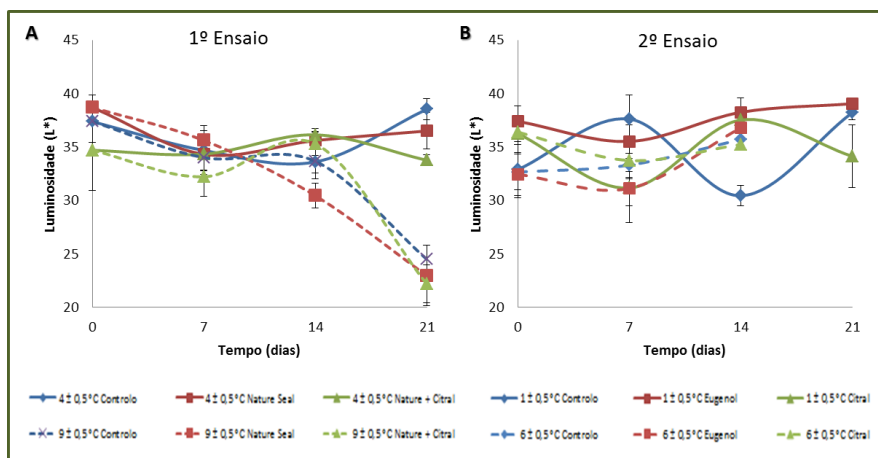
Os parâmetros que se seguem foram analisados de 7 em 7 dias, durante 21 dias.

#### 4.2.1.1. COR

Esta característica da planta *Salicornia ramosissima* foi avaliada através dos parâmetros L\*, a\*, b\*, *chroma*\* e ângulo Hue.

#### Parâmetro L\*

Os resultados para a luminosidade da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.1.



**Gráfico 4.1 – Luminosidade (L\*) da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os valores obtidos para este parâmetro variam entre 22,2 e 39,1, indicando o grau de luminosidade das amostras de *Salicornia ramosissima*.

### 1º Ensaio

Analisando o Gráfico 4.1 (A), constata-se que em todas as amostras armazenadas a 9 °C, existe uma redução acentuada do valor de luminosidade a partir do 14º dia, enquanto que nas outras amostras armazenadas a 4 °C, não se verificaram grandes alterações deste parâmetro. Segundo a análise estatística (Anexos V – XIV), no decorrer do ensaio existem diferenças significativas, a partir do 14º dia de armazenamento, nomeadamente entre os tratamentos armazenados a 4 °C e os a 9 °C ( $p < 0,05$ ). Através da análise individual dos tratamentos, quer do controlo, quer do Nature, bem como do Nature+Citral armazenados a 4 °C, verifica-se que não existem diferenças significativas ao longo do tempo. Quanto aos tratamentos armazenados a 9 °C, estes possuem diferenças significativas entre os primeiros tempos (0, 7 e 14 dias) e o último tempo (21 dias), indicando mudanças significativas nos valores da luminosidade da planta.

### 2º Ensaio

As amostras armazenadas a 6 °C apresentam resultados somente até aos 14 dias, uma vez que se deterioram antes do final dos 21 dias do ensaio. Verificam-se apenas pequenas variações da luminosidade, através da análise do gráfico 4.1 (B), entre os 3 tratamentos armazenados a 2 temperaturas diferentes. Segundo a análise estatística (Anexos XV – XXIV), existem diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no 14º dia entre os tratamentos (controlo a 1 °C  $\neq$  Eugenol e Citral a 1 °C). Analisando cada tratamento isoladamente, verifica-se que o controlo a 1 °C apresenta diferenças significativas ao longo dos tempos (tempo 3  $\neq$  tempo 1,2 e 4). Quanto ao tratamento Eugenol a 6 °C, este também apresenta diferenças significativas entre o tempo 2 (7 dias) e o tempo 3 (14 dias).

Uma vez que os resultados pretendidos são que não ocorra qualquer alteração da Luminosidade da planta tratada e armazenada, verifica-se que as combinações que apresentam melhores resultados são todos os tratamentos a 4 °C.

Comparativamente com a halófita *Sarcocornia perennis* (Sousa, 2012) – estudo que decorreu em paralelo com este trabalho – verifica-se que nas amostras armazenadas a 9 °C, também ocorreu uma diminuição acentuada da luminosidade, enquanto, nas amostras das outras 3 temperaturas não se verificaram grandes variações da luminosidade.

No estudo efetuado com *Salicornia bigevolii torr* por Lu et al. (2010), as amostras (sem imersão em revestimentos edíveis) foram armazenadas a 4 temperaturas, sendo as mais semelhantes a este trabalho 2 e 8 °C. Ao fazer a comparação da *S. ramosissima* a 1 °C e a *S. bigevolii torr* a 2 °C, verifica-se que em ambas as temperaturas, a luminosidade de comporta de forma semelhante, sem grandes variações. Em relação à *S. ramosissima* a 9 °C e a *S. bigevolii torr* a 8 °C, verificam-se diferentes variações da luminosidade. Nas amostras de *S. ramosissima*, o valor de luminosidade diminui, ou seja, as amostras clarearam. No entanto, nas amostras de *S. bigevolii torr*, o valor da luminosidade aumentou, significando que as amostras escureceram.

### **Parâmetro a\***

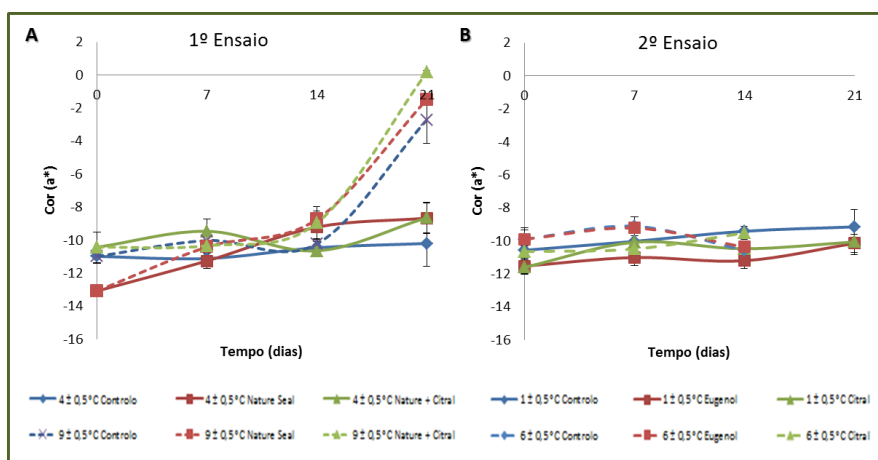
Os resultados para o parâmetro a\* da halófita *S. ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.2.

Os valores obtidos para o parâmetro a\* variam entre -13,1 e 0,16, sendo que os valores negativos de a\* determinam a quantidade de cor verde existente na amostra.

### **1º Ensaio**

Através do Gráfico 4.2 (A) verifica-se que as amostras de todos os tratamentos armazenados a 9 °C, a partir do 14º dia, possuem uma diminuição acentuada da cor verde. Conforme a análise estatística efetuada (Anexos V – XIV) ao longo do tempo, pode verificar-se que no tempo 0 existem diferenças significativas entre as amostras

tratadas com Nature e as que foram imersas em outras soluções. Só se voltam a verificar diferenças significativas no tempo 4 (21º dia), em que todos os tratamentos a 9 °C diferem dos tratamentos a 4 °C, sendo os valores a 9 °C superiores. Ao analisar os tratamentos um a um, verifica-se que apenas o tratamento controlo e Citral a 4 °C não possuem diferenças significativas no decorrer do tempo. Quanto às restantes amostras, apresentam diferenças significativas entre os primeiros 3 tempos (0 a 14 dias) e o tempo 4 (21º dia).



**Gráfico 4.2 – Cor (a\*) da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

## 2º Ensaio

A análise do Gráfico 4.2 (B) permite verificar que não existem variações acentuadas no parâmetro a\* durante o decorrer dos 21 dias. Segundo a análise estatística que se realizou (Anexos XV – XXIV), apenas o tempo 3 (14 dias) apresenta diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamentos, sendo que o Eugenol a 1 °C difere do controlo a 1 °C. Quanto ao controlo a 6 °C, este difere significativamente entre o 7º dia e o 14º dia, enquanto no Eugenol a 6 °C, se distinguem de forma significativa os tempos 1 (0 dias) e o 3 (14 dias).

Considera-se que os melhores valores para o parâmetro em análise são apresentados por todos os tratamentos armazenados a 1 e 4 °C, tendo em conta que se pretendem poucas ou nenhuma alteração da cor verde nas amostras.

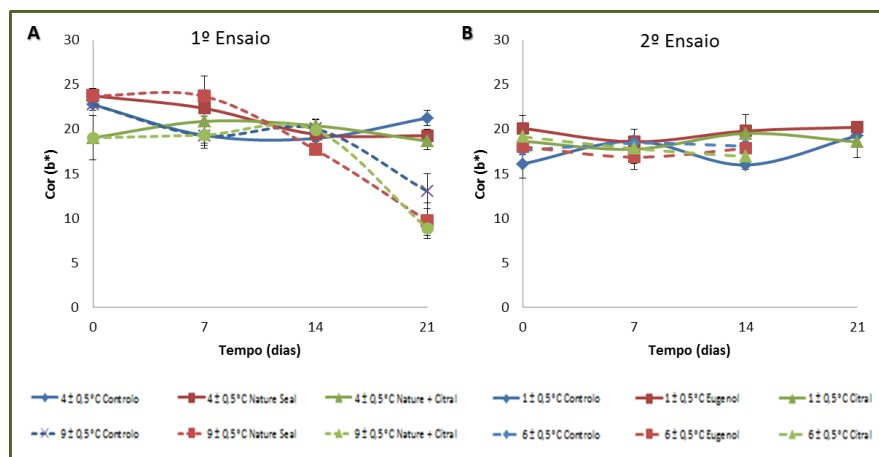
**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Comparando com a planta *Sarcocornia perennis*, verificam-se semelhanças na variação do parâmetro  $a^*$ , excetuando aos 9 °C, em que as amostras de *S. ramosissima* perderam de forma significativa a cor verde, enquanto as amostras de *S. perennis* variaram pouco os valores deste parâmetro

Relativamente à *Salicornia bigevollii torr*, as amostras armazenadas a 2 e a 8 °C, foram gradualmente aumentando o valor de  $a^*$ , ou seja, perdendo a cor verde. Porém, verificou-se que as amostras não tratadas de *S. bigevollii torr* subiram mais rapidamente o valor de  $a^*$  do que as amostras de *S. ramosissima*.

**Parâmetro  $b^*$** 

Os valores obtidos para a cor (parâmetro  $b^*$ ) da planta *S. ramosissima* - armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.3.



**Gráfico 4.3 – Cor ( $b^*$ ) da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os valores acima apresentados variam entre 8,9 e 23,7. Este parâmetro indica a variação da cor, entre o amarelo e o azul.

**1º Ensaio**

À semelhança dos 2 parâmetros anteriores, verificam-se poucas variações do valor  $b^*$ , excetuando as amostras de todos os tratamentos armazenados a 9 °C, que

apresentaram uma diminuição desde parâmetro no 21º dia (Gráfico 4.3 (A)). Segundo a análise estatística (Anexo V – XIV), os tratamentos controlo e Nature a 4 °C apresentam diferenças significativas entre o primeiro tempo (0 dias) e os restantes ( $p < 0,05$ ). Quanto aos tratamentos armazenados a 9 °C, todos revelaram diferenças significativas entre os primeiros 3 tempos e o último tempo (21 dias). Quanto à variação dos tratamentos ao longo do tempo, aos 14 dias, a amostra Nature a 9 °C apresenta diferenças significativas em relação a todos os outros tratamentos. Ao 21º dia, os tratamentos a 9 °C distinguem-se significativamente dos tratamentos a 4 °C, sendo os resultados dos últimos mais elevados.

### 2º Ensaio

Recorrendo à análise do Gráfico 4.3 (B), verifica-se que os valores de  $b^*$  variam pouco ao longo do ensaio. A análise estatística deste parâmetro (Anexos XV – XXIV) revela que, aos 0 dias, existem diferenças significativas entre o controlo e Eugenol a 1 °C, sendo os valores das amostras de controlo inferiores aos das amostras tratadas com Eugenol. De todos os tratamentos apenas o Citral a 6 °C revela diferenças significativas entre o tempo inicial (0 dias) e o tempo 3 (14 dias).

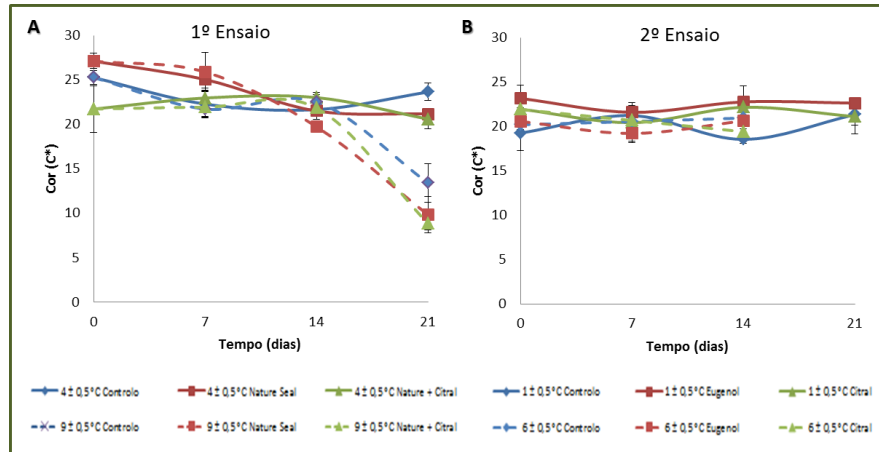
Destacam-se assim o controlo e o Citral a 4 °C e todos os tratamentos armazenados a 1 °C, como sendo as combinações que apresentam menores alterações no parâmetro da cor  $b^*$ .

Analisando o estudo realizado com a *Salicornia perennis*, verifica-se que os valores do parâmetro  $b^*$  variam um pouco, mas sem modificações abruptas, de forma similar ao que ocorreu com a *Salicornia ramosissima*.

Quanto à *Salicornia bigevolii torr* a 2 °C, possui uma variação do valor de  $b^*$  semelhante à da *S. ramosissima* a 1 °C, assim como se observam variações semelhantes na *S. ramosissima* a 9 °C e na *S. bigevolii torr* a 8 °C.

**Paramêtro chroma\***

Os valores obtidos para o valor de *chroma* ( $C^*$ ) da halófito *Salicornia ramosissima* - armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.4.



**Gráfico 4.4 – Valor de *chroma* ( $C^*$ ) da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento.**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os valores apresentados no Gráfico 4.4 variam entre 8,6 e 23,2. O valor de *chroma* indica a pureza da cor da planta halófito *Salicornia ramosissima*.

**1º Ensaio**

No decorrer deste ensaio, ocorre um ligeiro decréscimo do parâmetro, que se acentua a partir do 21º dia, nas amostras armazenadas a 9 °C – Gráfico 4.4 (A). Recorrendo à análise estatística dos dados obtidos (Anexos V – XIV), constata-se que nos 2 primeiros tempos não há ocorrência de diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). No tempo 3 e 4 (14 e 21 dias), os tratamentos diferem estatisticamente entre si. Relativamente aos tratamentos, o Nature+Citral a 4 °C, é o único no qual não ocorrem diferenças significativas nos 4 tempos do ensaio. As restantes amostras apresentam diferenças estatísticas, nomeadamente entre o tempo 4 (21 dias) e os restantes.

## 2º Ensaio

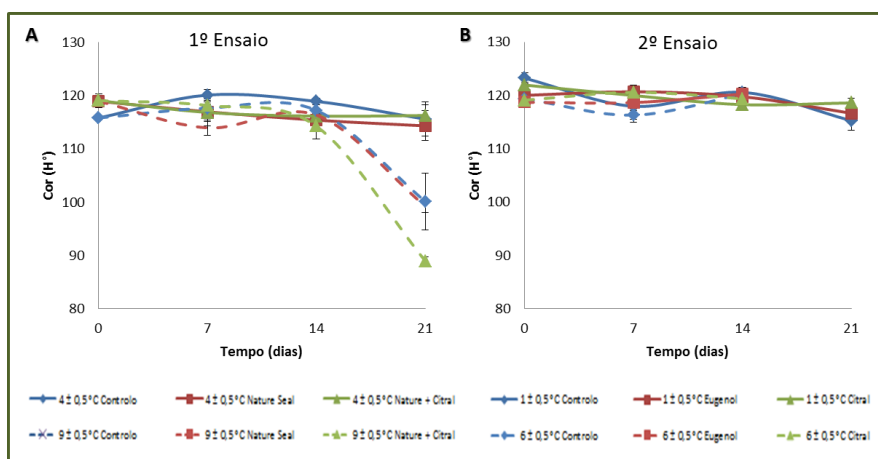
Através da análise do Gráfico 4.4 (B), não se observam grandes variações do parâmetro C\*. Estatisticamente (Anexos XV – XXIV), observa-se a inexistência de diferenças significativas entre tratamentos no decorrer dos 21 dias ( $p < 0,05$ ). Analisando os tratamentos individualmente, apenas no tratamento Citral a 6 °C ocorrem diferenças significativas entre o tempo 1 (0 dias) e o tempo 3 (14 dias).

Portanto, considera-se que as combinações que apresentam uma maior diminuição do parâmetro C\*, são o Nature a 4 °C e todos os tratamentos a 1 e 6 °C, excetuando o Citral a 6 °C.

Relativamente ao estudo realizado para a halófito *Sarcocornia perennis* por Sousa (2012), observa-se que no 1º ensaio ocorrem oscilações acentuadas do parâmetro, diferentemente das amostras de *S. ramosissima*. No 2º ensaio, ambas as halófitas mantêm um comportamento semelhante, no qual não se verificam grandes alterações do parâmetro.

## Parâmetro Hue

Os resultados para ângulo Hue (H°) da planta halófito *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.5.



**Gráfico 4.5 – Ângulo Hue (H°) da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os valores obtidos variam entre 88,9 e 123,3. O ângulo de Hue indica a tonalidade da cor da halófito.

### 1º Ensaio

O Gráfico 4.5 (A) demonstra que não existem grandes variações deste parâmetro nas amostras de todos os tratamentos a 9 °C. Porém, nas amostras armazenadas a 9 °C, ocorre um decréscimo acentuado dos valores, nomeadamente a partir do dia 14. O tratamento estatístico dos resultados (Anexos V – XIV), indica a existência de diferenças significativas entre todos os tratamentos, com exceção do tempo 3 (14 dias), em que os tratamentos não diferem estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Quanto às amostras controlo, Nature e Nature+Citral a 9 °C, estas apresentam diferenças significativas entre o tempo 4 e os restantes.

### 2º Ensaio

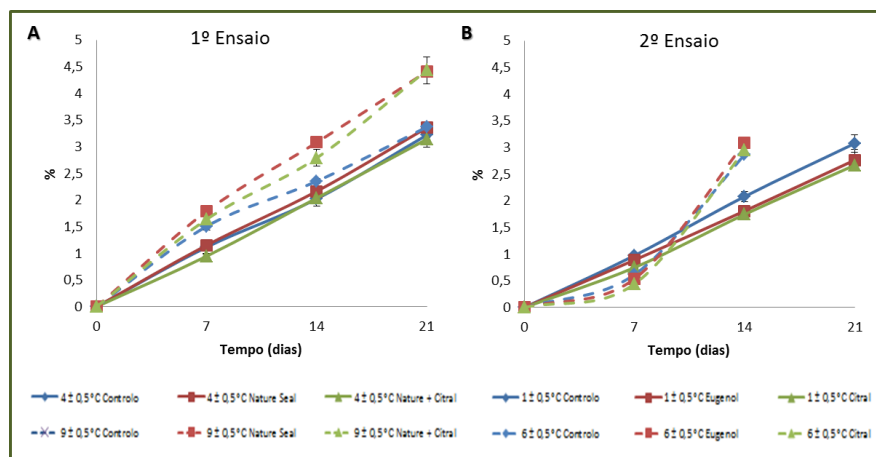
Graficamente, não se observam grandes variações do ângulo de Hue, apenas uma ligeira diminuição dos valores – Gráfico 4.5 (B). Porém, recorrendo à análise estatística (Anexos XV – XXIV), verifica-se que apenas o controlo a 6 °C apresenta diferenças significativas entre o tempo 2 (14 dias) e os restantes ( $p < 0,05$ ). No decorrer do ensaio, no dia 0, observa-se que o controlo a 1 °C difere significativamente do Eugenol a 1 °C (os valores do controlo a 1 °C são superiores aos do Eugenol a 6 °C).

Como tal, consideram-se todos os tratamentos a 1 e 4 °C como as melhores combinações, nas quais se observam melhores resultados para a variação do ângulo H°, ao longo do ensaio.

As amostras de *Sarcocornia perennis* apresentam grandes oscilações dos valores deste parâmetro no 1º ensaio, contrariamente às amostras de *S. ramosissima*. Quanto ao 2º ensaio, a halófito *S. perennis* não apresenta grandes variações, mantendo um comportamento similar ao das amostras de *S. ramosissima*.

#### 4.2.1.2. PERDA DE PESO

Os valores apresentados para a perda de peso da *Salicornia ramosissima* - armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.6.



**Gráfico 4.6 – Perda de peso da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os resultados obtidos variam entre 0 e 4,43 %. Este parâmetro indica a quantidade de água perdida no decorrer dos ensaios.

#### 1º Ensaio

Recorrendo à análise do Gráfico 4.6 (A), verifica-se que existe uma maior perda de água nas amostras Nature e Nature+Citral a 9 °C. Através da análise estatística dos dados (Anexos V – XIV), constata-se a existência de diferenças significativas entre os tratamentos no tempos 2, 3 e 4 ( $p < 0,05$ ). Aos 7 e 14 dias, os valores dos tratamentos a 9 °C são significativamente superiores aos dos tratamentos a 4 °C. No tempo 4, destacam-se as amostras Nature e Nature+Citral a 9 °C, pois apresentam valores significativamente mais elevados do que os das outras amostras. Quanto aos tratamentos, todos diferem significativamente entre os 4 tempos (valores tempo 4 > valores tempo 3 > valores tempo 2 > valores tempo 1).

## 2º Ensaio

Nas amostras armazenadas a 1 °C, observa-se uma perda gradual de água, enquanto as amostras a 6 °C apresentam uma perda de água acentuada entre os 7 e os 14 dias – Gráfico 4.6 (B). Segundo a análise estatística (Anexos XV – XXIV), nos tempos 2 e 4 (7 e 21 dias, respetivamente) não se observam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). Quanto ao tempo 3, o tratamento controlo a 1 °C apresenta valores de perda de água significativamente inferiores aos restantes tratamentos e temperaturas. De forma semelhante ao ensaio 1, todos os tratamentos diferem significativamente entre os 4 tempos (valores tempo 4 > valores tempo 3 > valores tempo 2 > valores tempo 1).

Uma vez que a perda de água está associada à diminuição de vida de um produto hortofrutícola após colheita, considera-se que os tratamentos, mais eficazes na retenção da água, são todos os armazenados a 1 °C.

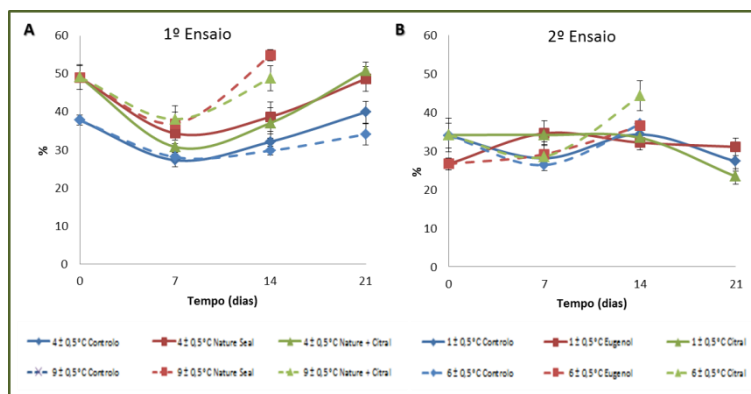
Sousa (2012) apresenta para a *Sarcocornia perennis*, uma perda de água mais acentuada em todas as amostras armazenadas a 9 °C, sendo os melhores resultados (menor perda de água) apresentados pelas amostras a 4 °C, distintamente das amostras de *S. ramosissima*.

Quanto às amostras de *Salicornia bigevolii torr*, estudadas por Lu *et al.* (2010), as amostras não tratadas e armazenadas a 2 °C apresentam uma menor perda de água do que as amostras armazenadas a 8 °C, tal como acontece nas amostras de *S. ramosissima*, em que as amostras a 1 °C têm uma perda de água inferior às amostras a 9 °C.

### **4.2.1.3. PERDA DE ELETRÓLITOS**

No Gráfico 4.7 encontra-se representada a perda de eletrólitos na planta *Salicornia ramosissima* - armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C.

Os valores obtidos para este parâmetro variam entre 23,4 e 54,8 %. A perda de eletrólitos indica a perda de sais acumulados e salinidade da planta. A percentagem inicial média apresentada para este parâmetro é de 38,4 %.



**Gráfico 4.7 – Perda de eletrólitos da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento.**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

### 1º Ensaio

Observam-se variações dos valores deste parâmetro no decorrer dos 21 dias do ensaio verificando-se contudo, a inexistência de grandes variações entre os valores do tempo 1 e do último tempo (Gráfico 4.7 (A)). O tratamento estatístico dos dados obtidos (Anexos V – XIV) revela que, nos tempos 1 e 4, os valores das amostras controlo a 4 e 9 °C são significativamente inferiores aos valores dos restantes tratamentos ( $p < 0,05$ ). No tempo 2 e 3 (7 e 14 dias, respetivamente), as amostras dos tratamentos Nature e Nature+Citral a 9 °C apresentam resultados significativamente mais elevados do que as restantes amostras. Quanto aos tratamentos analisados um a um, todos apresentam diferenças significativas entre os 4 tempos do ensaio.

### 2º Ensaio

Recorrendo ao Gráfico 4.7 (B), o parâmetro perda de eletrólitos apresenta poucas variações no decorrer dos 21 dias do ensaio, nomeadamente a 1 °C. Após análise estatística dos resultados deste parâmetro (Anexos XV – XXIV), pode verificar-se que apenas no tempo 2 (14 dias) há existência de diferenças significativas, em que os resultados do controlo a 6 °C são significativamente inferiores aos resultados para as amostras com Eugenol e Citral a 1 °C ( $p < 0,05$ ). O tratamento controlo e Eugenol a 1 °C não apresentam qualquer distinção significativa entre os 4 tempos do ensaio, sendo que os restantes tratamentos apresentam diferenças significativas entre os tempos.

Considera-se que as amostras Nature e Nature+Citral a 9 °C, controlo a 1, 4 e 9 °C, e ainda Eugenol a 1 °C, são as que apresentam melhores resultados para o parâmetro perda de eletrólitos.

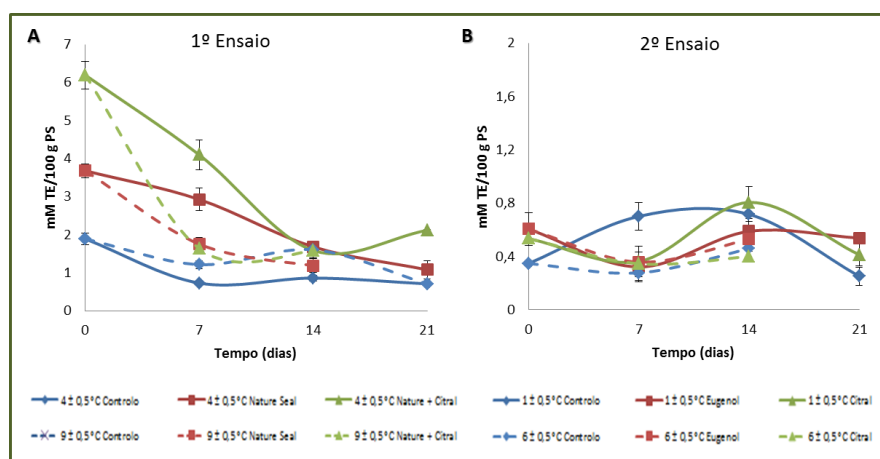
As amostras de *Sarcocornia perennis* apresentam um aumento da percentagem da perda de eletrólitos no decorrer dos 21 dias do ensaio, contrariamente ao que acontece com as amostras de *S. ramosissima*. Quanto ao 2º ensaio, a percentagem do parâmetro aumenta lentamente até ao 14º dia, sendo que no tempo 4 (21 dias) ocorre um grande aumento da perda de eletrólitos, distinguindo-se das amostras de *S. ramosissima*, nas quais a perda de eletrólitos se mantém nos mesmos valores durante o 2º ensaio.

#### 4.2.1.4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante da planta halófito *Salicornia ramosissima* foi determinada recorrendo a dois métodos – TEAC e ORAC.

#### Método TEAC

Os valores referentes à atividade antioxidante da planta *Salicornia ramosissima* - armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.8.



**Gráfico 4.8 – Atividade antioxidante (método TEAC) da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento. A - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. B – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.**

Os dados apresentados variam entre 0,3 e 6,2 mM TE/100 g de P<sub>s</sub> de amostra. Para atividade antioxidante, as amostras de Salicórnia apresentam um valor inicial médio de 2,23 mM TE/100 g de P<sub>s</sub>. A atividade antioxidante indica a capacidade da halófito de retardar ou inibir substratos oxidáveis.

### 1º Ensaio

Recorrendo a análise do Gráfico 4.8 (A), nota-se um decréscimo evidente deste parâmetro no decorrer de todo o ensaio. O tratamento estatístico dos resultados (Anexos V – XIV), permite observar a ocorrência de diferenças significativas entre todos os tratamentos ao longo do ensaio ( $p < 0,05$ ). Através da análise individual dos tratamentos, verifica-se que todos os tratamentos às duas temperaturas apresentam diferenças significativas entre todos os tempos do ensaio.

### 2º Ensaio

O Gráfico 4.8 (B) permite verificar que a quantidade inicial de atividade antioxidante é bastante inferior à apresentada pelas amostras iniciais do 1º ensaio. Observa-se que não existem grandes variações dos valores, apenas um ligeiro decréscimo do parâmetro. Estatisticamente (Anexos XV – XXIV), verifica-se que as amostras tratadas com Eugenol e armazenadas a 1 e 6 °C, são as únicas que não diferem estatisticamente nos 4 tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ). Nos tempos 1, 2 e 4 (0, 7 e 21 dias, respetivamente), os tratamentos diferem significativamente entre si.

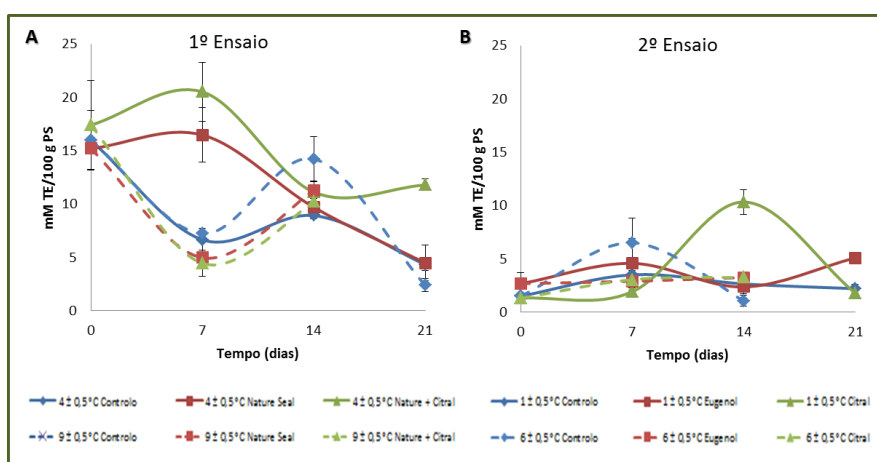
Considerando que não se pretende a diminuição da atividade antioxidante durante o armazenamento, as melhores combinações tratamento/temperatura são os tratamentos Eugenol armazenados a 1 e 6 °C.

No estudo de Sousa (2012), as amostras de *Sarcocornia perennis* apresentam um aumento da atividade antioxidante no decorrer do 1º ensaio, embora possua valores iniciais deste parâmetro inferiores aos valores iniciais apresentados para as amostras de *S. ramosissima*. No 2º ensaio, os valores iniciais das amostras de *S. perennis* assemelham-se aos das amostras de *S. ramosissima*. No entanto, no decorrer do

ensaio, as amostras de *S. perennis* apresentam um aumento da atividade antioxidante, enquanto as amostras de *S. ramosissima* possuem uma ligeira diminuição.

### Método ORAC

Os resultados para a atividade antioxidante da halófito *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.9.



**Gráfico 4.9 – Atividade antioxidante (método ORAC) da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento. A - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. B – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.**

Os dados apresentados variam entre 1,1 e 20,5 mM TE/100 g de P<sub>5</sub> de amostra. O valor inicial médio apresentado pelas amostras é de 9,00 mM TE/100 g P<sub>5</sub>. A atividade antioxidante indica a capacidade da halófito de retardar ou inibir substratos oxidáveis.

### 1º Ensaio

Através da análise do Gráfico 4.9 (A), observa-se a ocorrência de uma diminuição deste parâmetro ao longo dos 21 dias do ensaio, sendo que nas amostras Nature e Nature+Citral a 4 °C a diminuição é inferior. Recorrendo ao tratamento estatístico dos dados obtidos (Anexos V – XIV), constata-se que todos os tratamentos às duas temperaturas apresentam diferenças significativas entre todos os tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ). No tempo 0, não ocorre qualquer distinção significativa entre todos os tratamentos. Aos 7 dias, os valores dos tratamentos Nature e Nature+Citral a 4 °C são

significativamente mais elevados do que os dos restantes tratamentos. No tempo 3, o tratamento controlo a 9 °C distingue-se significativamente, sendo os resultados apresentados para o mesmo superiores comparativamente com os apresentados para os restantes tratamentos. No tempo final do ensaio, os valores para o tratamento Nature+Citral a 4 °C são significativamente superiores aos dos outros tratamentos.

### 2º Ensaio

Os valores iniciais deste parâmetro são inferiores aos valores apresentados pelas amostras do 1º ensaio, o que se pode dever à recolha das amostras frescas ter sido efetuada em fases diferentes do desenvolvimento e maturação da planta. No decorrer dos 21 dias do ensaio, nota-se um decréscimo dos valores deste parâmetro, excetuando nas amostras com Eugenol a 1 °C, em que os valores se mantêm – Gráfico 4.9 (B). Através da análise estatística (Anexos XV – XXIV), observa-se a inexistência de diferenças significativas nos primeiros 3 tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ). No tempo 4 (21 dias), a amostra Eugenol a 1 °C é significativamente mais elevada do que as restantes amostras. Os tratamentos Eugenol a 1 °C e Eugenol e Citral a 6 °C, não apresentam diferenças significativas no decorrer dos 4 tempos do ensaio.

Os tratamentos Nature e Nature+Citral a 4 °C, e ainda Eugenol a 1 e 6 °C, são considerados como as melhores combinações pois são os que apresentam uma menor diminuição da atividade antioxidante.

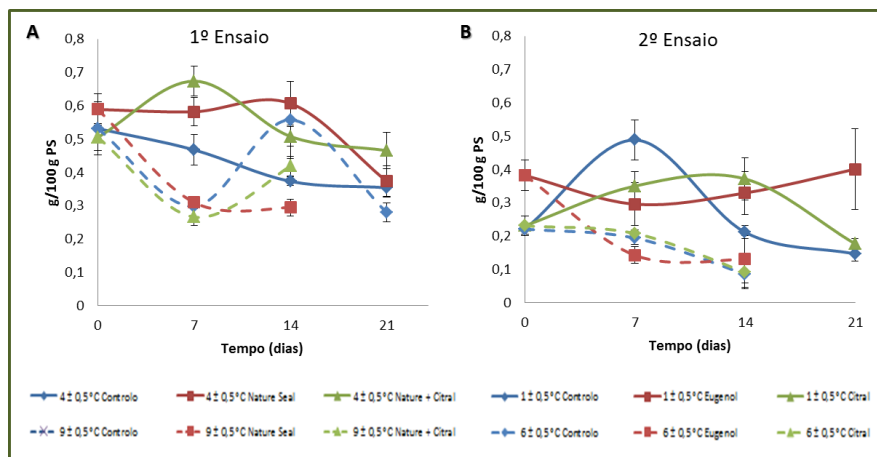
O estudo da *Sarcocornia perennis*, demonstra que tanto as amostras a 4 °C do 1º ensaio, como as amostras a 1 °C pertencentes ao 2º ensaio, apresentam pequenos decréscimos nos valores da atividade antioxidante. A variação da atividade antioxidante da halófito *S. perennis* durante os dois ensaios é bastante similar à apresentada pela *S. ramosissima*, embora os valores iniciais da *S. ramosissima* sejam superiores aos apresentados inicialmente pela *S. perennis*.

#### **4.2.1.5. COMPOSTOS FENÓLICOS**

Foram efetuadas determinações para as seguintes classes de compostos fenólicos: ácidos hidroxicinâmicos, flavonóis e fenóis totais.

### Ácidos Hidroxicinâmicos

Os dados obtidos referentes à quantificação de ácidos hidroxicinâmicos da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representadas no Gráfico 4.10.



**Gráfico 4.10 – Ácidos hidroxicinâmicos da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os valores representados para os ácidos hidroxicinâmicos variam entre 0,1 e 0,7 g/100 g de P<sub>s</sub>. O valor inicial médio apresentado para este parâmetro é de 0,410 g/100 g P<sub>s</sub>.

#### 1º Ensaio

Recorrendo à análise do Gráfico 4.10 (A), constata-se uma diminuição da quantidade de ácidos hidroxicinâmicos, no geral, no decorrer dos 21 dias do ensaio. Nas amostras de todos os tratamentos armazenados a 9 °C, verificam-se oscilações mais acentuadas dos valores do parâmetro, pelo que o decréscimo da quantidade de ácidos hidroxicinâmicos não é tão evidente. Segundo a análise estatística (Anexos V – XIV), o tempo 1 é o único do ensaio no qual não ocorrem diferenças significativas entre os vários tratamentos ( $p < 0,05$ ). Quanto aos tratamentos, todos apresentam diferenças significativas entre os 4 tempos, sendo que o tempo 4 (21 dias) se distingue mais significativamente em relação aos restantes.

## 2º Ensaio

Observa-se que o valor de ácidos hidroxicinâmicos é inferior nas amostras de todos os tratamentos armazenados a 6 °C e que ocorrem oscilações dos resultados para este parâmetro nas amostras a 1 °C, embora não ocorra uma diminuição evidente de ácidos hidroxicinâmicos – Gráfico 4.10 (B). De acordo com o tratamento estatístico dos dados (Anexos XV – XXIV), as amostras tratadas com Eugenol e armazenadas a 1 °C, são as únicas que não apresentam diferenças significativas entre os vários tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ). No tempo 1 (0 dias), as amostras possuem diferenças significativas entre si, nomeadamente entre as amostras com Eugenol e as restantes. Porém, no tempo 2 (7 dias), a amostra controlo a 1 °C distingue-se significativamente de todas as outras amostras, sendo o seu valor significativamente superior ao das restantes amostras. Nos restantes tempos, as diferenças significativas entre tratamentos são inexistentes.

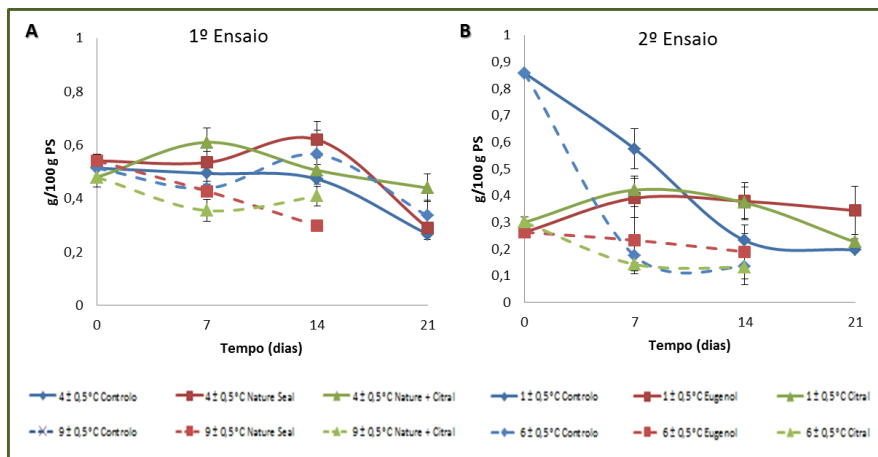
Tendo em conta, que a presença de compostos fenólicos é de suma importância para a valorização das plantas halófitas como fontes de metabolitos secundários naturais (Ksouri *et al.* 2008), considera-se que as combinações que apresentam melhores resultados (menor diminuição de ácidos hidroxicinâmicos) são as amostras controlo armazenadas a 4 °C e as amostras Eugenol a 1 °C.

Em relação à planta halófito *Sarcocornia perennis*, estudada por Sousa (2012), no 1º ensaio observa-se um comportamento bastante similar ao apresentado pelas amostras de *S. ramosissima*, sendo que as oscilações do parâmetro são mais acentuadas nas amostras a 9 °C. Relativamente ao 2º ensaio, as amostras de *S. perennis* apresentam valores iniciais, deste parâmetro, inferiores aos obtidos para a *S. ramosissima*. No entanto, a variação dos mesmos é bastante semelhante em ambas.

## Flavonóis

Os valores apresentados para os flavonóis da *Salicornia ramosissima* - armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.11.

Os dados apresentados para os flavonóis variam entre 0,13 e 0,9 g/100 g de P<sub>s</sub> de amostra. O valor inicial médio apresentado pelas amostras é de 0,49 g/100 g P<sub>s</sub>.



**Gráfico 4.11 – Flavonóis da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

### 1º Ensaio

No decorrer dos 21 dias, observa-se um decréscimo da quantidade de flavonóis nas amostras de todos os tratamentos armazenados às duas temperaturas – Gráfico 4.11 (A). Através da análise estatística (Anexos V – XIV), nos tempos 2, 3 e 4 (7, 14 e 21 dias, respetivamente) verifica-se a ocorrência de diferenças significativas entre os vários tratamentos, nomeadamente do Nature + Citral a 4 °C, cujos resultados são significativamente mais elevados do que os outros tratamentos ( $p < 0,05$ ).

### 2º Ensaio

Recorrendo ao Gráfico 4.11 (B), verifica-se que existe uma tendência para diminuição do conteúdo em flavonóis da planta, com exceção das amostras de Eugenol e Citral, armazenadas a 1 °C, nas quais se constata que a quantidade destes compostos se mantém. A análise estatística dos resultados obtidos para os flavonóis (Anexo XV – XXIV) permite-nos verificar que apenas as amostras tratadas com Eugenol a 1 e 6 °C, não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). Nos restantes tratamentos, observa-se a ocorrência de diferenças significativas entre os tempos do ensaio, especificamente entre o tempo 1 e 3 e os restantes.

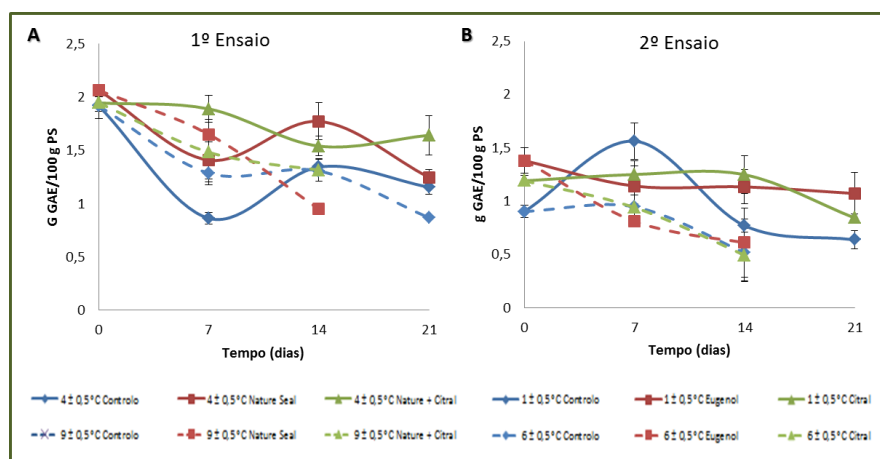
Uma vez que se pretende manter a quantidade de flavonóis presentes nas amostras, consideram-se todos os tratamentos armazenados a 4 °C e as amostras controlo e Eugenol a 6 °C, como as combinações que apresentam melhores resultados.

Segundo Ksouri *et al.* (2008), as amostras de *Mesembryanthemum crystallinum* (planta halófita da Tunísia) apresentam um conteúdo de flavonóis de 0,03 g/100 g de P<sub>s</sub>, significativamente inferior ao apresentado inicialmente pelas amostras de *S. ramosissima* (0,49 g/100 g de P<sub>s</sub>).

Relativamente à planta *Sarcocornia perennis*, observa-se que no decorrer no 1º ensaio os resultados de flavonóis vão diminuindo. No 2º ensaio, constata-se que os valores iniciais são inferiores aos das amostras de *S. ramosissima*, mas o comportamento das amostras de ambas as halófitas é similar no decorrer dos 21 dias do ensaio.

### Fenóis Totais

Os resultados para os fenóis totais da halófita *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.12.



**Gráfico 4.12 – Fenóis totais da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os valores obtidos para os fenóis totais variam entre 0,5 e 2,1 g GAE/100 g de P<sub>S</sub>. A quantidade inicial média deste parâmetro nas amostras é de 1,57 g/100 g de P<sub>S</sub>.

### 1º Ensaio

Analisando o Gráfico 4.12 (A), verifica-se que todas as amostras apresentam uma diminuição da quantidade de fenóis totais no decorrer dos 21 dias do ensaio. Porém, a diminuição dos resultados deste parâmetro é mais evidente nas amostras de todos os tratamentos armazenados a 9 °C. Segundo o tratamento estatístico dos dados (Anexos V – XIV), observa-se que ocorrem diferenças significativas entre todos os tratamentos, exceto no tempo 1 ( $p < 0,05$ ). Recorrendo à análise individual dos tratamentos, observa-se que apenas o Nature + Citral 4 °C, não apresenta diferenças significativas entre os tempos do ensaio. Quanto aos restantes, diferem estatisticamente entre os 4 tempos do ensaio.

### 2º Ensaio

Recorrendo ao Gráfico 4.12 (B), constata-se que todas as amostras apresentam uma diminuição pouco acentuada no desenrolar do ensaio. Através da análise estatística (Anexos XV – XXIV), verifica-se que o tempo 1 e 2 (0 e 7 dias, respetivamente) apresentam diferenças significativas entre tratamentos ( $p < 0,05$ ). Aos 0 dias, as amostras controlo (armazenadas a ambas as temperaturas) apresentam resultados significativamente inferiores aos das restantes amostras. Aos 7 dias, o tratamento Eugenol a 6 °C e controlo a 1 °C, diferem significativamente, sendo que o último apresenta um valor mais elevado. Quanto aos tratamentos, todos apresentam diferenças significativas entre os tempos do ensaio, exceto o Eugenol a 1 °C e o controlo a 6 °C.

Tendo em conta que se pretende a menor diminuição do conteúdo em fenóis totais, consideram-se todos os tratamentos armazenados a 1 e 4 °C como sendo os que apresentam os melhores resultados para este parâmetro.

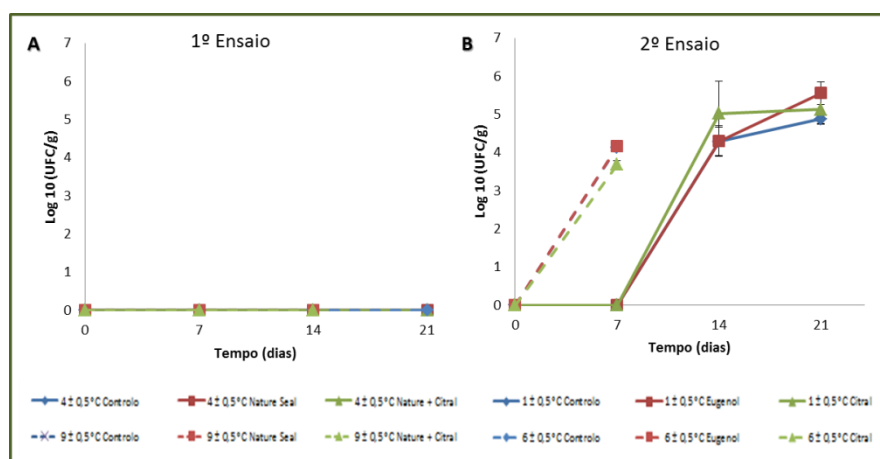
As amostras da planta halófito tunisina – *Mesembryanthemum crystallinum* – estudada por Ksouri *et al.* (2008), apresentam um conteúdo de fenóis totais de 0,14 g

GAE/100 g de P<sub>s</sub>, significativamente inferior ao apresentado, no início do ensaio, pelas amostras de *S. ramosissima* (1,57 GAE g/100 g de P<sub>s</sub>). Porém, o mesmo autor apresenta para outra halófito da Tunísia - *Mesembryanthemum edule* – o valor de 7,01 GAE g/100 g de P<sub>s</sub>, bastante acima do obtido para a *Salicornia ramosissima*.

Em relação aos resultados obtidos por Sousa (2012), para a *Sarcocornia perennis*, verifica-se que em ambos os ensaios ocorre uma diminuição lenta dos fenóis totais, à semelhança do que sucede com as amostras de *S. ramosissima*.

#### 4.2.1.6. BACTÉRIAS

Os valores obtidos para a pesquisa de bactérias psicrófilas da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.13.



**Gráfico 4.13 – Bactérias psicrófilas da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os valores apresentados para este parâmetro variam entre 0 e 5,6 unidades logarítmicas de unidades formadoras de colónias (UFC) por grama de amostra.

#### 1º Ensaio

Observa-se que no decorrer de todo o ensaio é inexistente a presença de bactérias psicrófilas – Gráfico 4.13 (A).

## 2º Ensaio

Através da análise do Gráfico 4.13, verifica-se que as amostras de todos os tratamentos armazenados a 1 °C apresentam crescimento de bactérias psicrófilas a partir do 14º dia, enquanto nas amostras a 6 °C o crescimento ocorre logo no tempo 2 (7 dias). Recorrendo à análise estatística (Anexos XV – XXIV), verifica-se que existem diferenças significativas entre os tratamentos a 1 °C e os a 6 °C, sendo os últimos significativamente mais elevados ( $p < 0,05$ ). Quanto aos tratamentos controlo, Eugenol e Citral a 1 °C, apresentam diferenças significativas entre os tempos, diferindo os 0 e 7 dias, dos 14 e 21 dias.

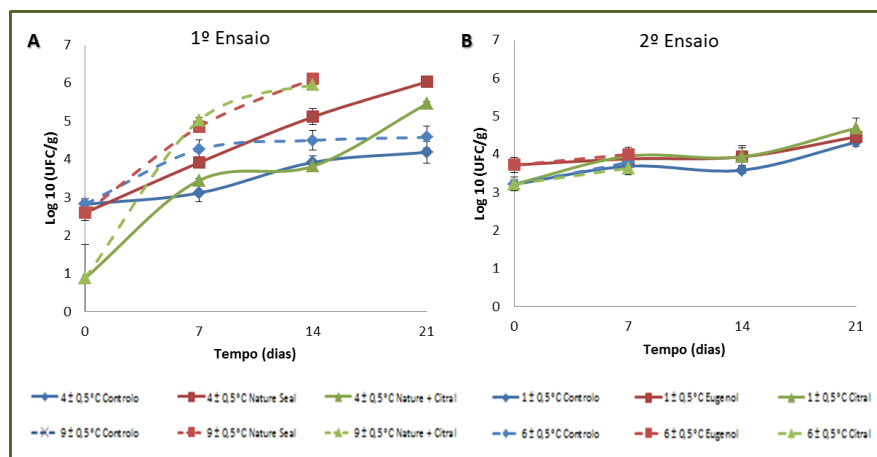
Uma vez que as amostras a 6 °C se deterioraram no tempo 3, não sobrou quantidade suficiente de amostras para a determinação dos vários parâmetros. Sendo assim, a pesquisa de bactérias psicrófilas, efetuou-se apenas no tempo 1 e 2 (0 e 7 dias).

Considerando que o limite crítico para a contagem de bactérias psicrófilas em vegetais é de 8 Log UFC/g (Jacxsens *et al.* 2002), verifica-se que o mesmo não é ultrapassado no decorrer dos dois ensaios. Portanto, consideram-se todos os tratamentos, tempos e temperaturas como aceitáveis para armazenamento da planta *Salicornia ramosissima*, no que concerne a este parâmetro.

Comparativamente ao estudo efetuado para a halófito *Sarcocornia perennis* por Sousa (2012), as amostras de todos os tratamentos a 1 e 4 °C também não apresentam qualquer crescimento de bactérias psicrófilas. No entanto, as amostras controlo, Citral e Eugenol a 1 °C apresentam crescimento de bactérias psicrófilas a partir do 7º dia, ou seja, 7 dias mais cedo do que o desenvolvimentos dos referidos microrganismos nas amostras de *S. ramosissima*.

### **4.2.1.7. BOLORES E LEVEDURAS**

No Gráfico 4.14 encontram-se representados os dados obtidos para a quantidade de bolores e leveduras existentes na planta *Salicornia ramosissima* - armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C.



**Gráfico 4.14 – Bolores e leveduras da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Os dados obtidos para o parâmetro bolores e leveduras variam entre 0,9 e 6,1 unidades logarítmicas de unidades formadoras de colónias (UFC) por grama de amostra.

### 1º Ensaio

Após análise do Gráfico 4.14 (A), verifica-se a presença de bolores e leveduras no tempo 1 (0 dias), que se desenvolvem no decorrer do ensaio, sendo o seu crescimento mais acentuado nas amostras armazenadas a 9 °C. Segundo a análise estatística (Anexos V – XIV), constata-se a existência de diferenças significativas entre todos os tratamentos, ao longo dos 4 tempos ( $p < 0,05$ ). Analisando os tratamentos isoladamente, também se verifica que todos possuem diferenças significativas entre os tempos.

### 2º Ensaio

Recorrendo ao Gráfico 4.14 (B), verifica-se um crescimento pouco acentuado ao longo dos 21 dias do ensaio. Através da análise estatística (Anexos XV – XXIV), comprova-se a inexistência de diferenças significativas entre tratamentos ao longo dos tempos ( $p < 0,05$ ). A análise individual dos tratamentos controlo, Citral e Eugenol a 1 °C,

revela que os tempos 1, 2 e 3 (0, 7 e 14 dias, respetivamente) diferem significativamente do tempo 4.

Para a contagem de leveduras e bolores, o limite crítico é de 5 log UFC/g para vegetais (Jacxsens, 2002), sendo atingido a partir do dia 14 no 1º ensaio, especialmente pelas amostras tratadas com Nature Seal. Consideram-se as amostras de todos os tratamentos armazenados a 1 °C como as combinações que apresentam melhores resultados para este parâmetro.

Comparativamente ao efetuado para a *Sarcocornia perennis*, as amostras do 1º ensaio apresentam um comportamento semelhante ao das amostras de *S. ramosissima*, sendo que as amostras armazenadas a 9 °C possuem valores mais elevados. Porém, no 2º ensaio, as amostras de *S. perennis* apresentam valores de bolores e leveduras superiores aos obtidos para a *S. ramosissima*.

#### **4.2.1.8. PARÂMETROS SENSORIAIS**

A análise sensorial da planta *Salicornia ramosissima* realizou-se através da avaliação dos seguintes parâmetros: aparência, cor, sal, textura, suculência, sabor e aroma.

##### **Aparência**

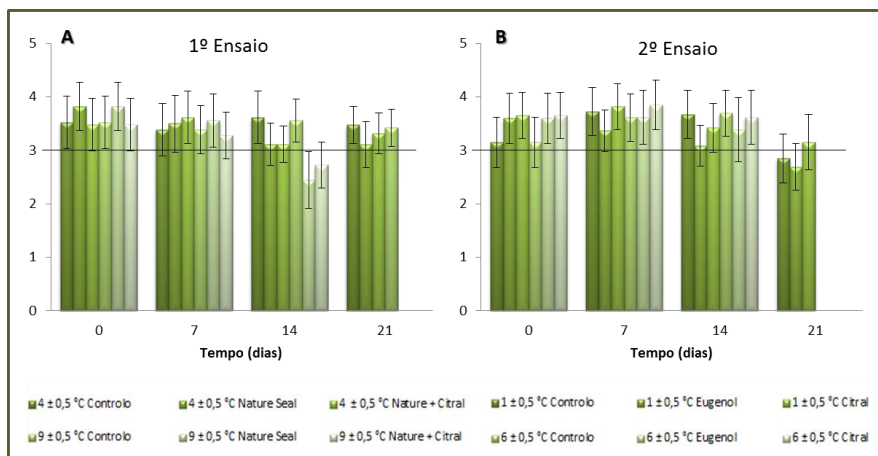
Os resultados médios referentes à avaliação sensorial da aparência da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.15.

Avaliou-se sensorialmente este parâmetro, utilizando uma escala de 5 pontos, em que 1 é mau e 5 é excelente, tendo em conta que o valor 3 é considerado como aceitável.

No 1º ensaio, verifica-se que a aparência das plantas de Salicórnia armazenadas a 4 °C está acima do aceitável no decorrer de todo o ensaio (21 dias). Porém, as amostras Nature e Nature+Citral a 9 °C, a partir do 14 º dia, apresentam valores abaixo do limite aceitável (3) – Gráfico 4.15 (A). Relativamente ao 2º ensaio, as avaliações deste parâmetro estão acima do considerado aceitável, excetuando a partir do tempo 4 (21

dias), no qual ocorre um decréscimo do nível de aceitabilidade nas amostras de todos os tratamentos – Gráfico 4.15 (B).

As combinações que apresentam melhores valores para o parâmetro aparência, são todos os tratamentos a 4 e 9 °C.

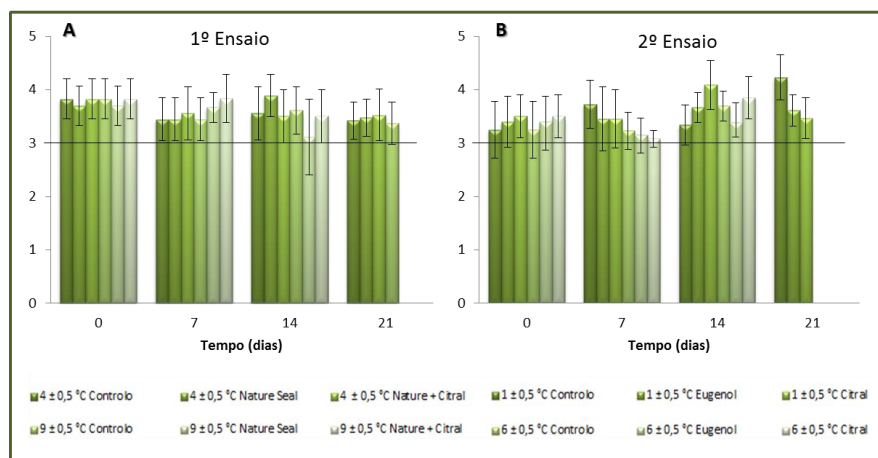


**Gráfico 4.15 – Avaliação da aparência da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento.**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

### Cor

Os dados obtidos referentes à avaliação sensorial da cor da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.16.



**Gráfico 4.16 – Avaliação da cor da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento.**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

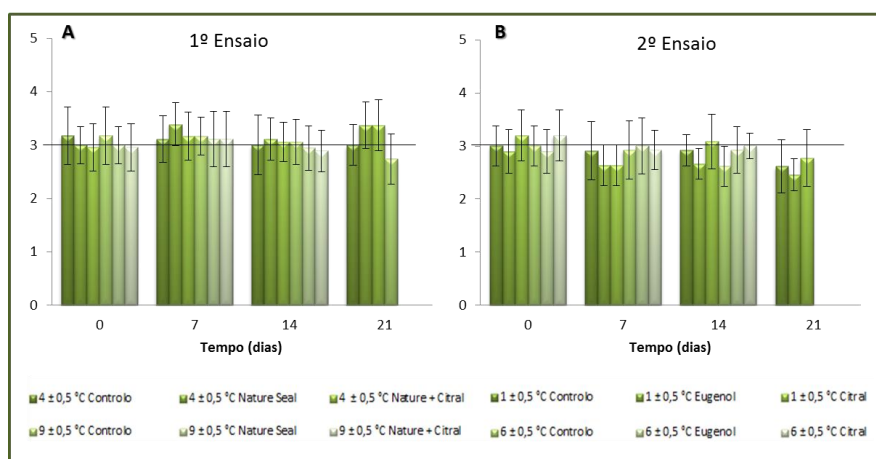
Efetuiu-se uma avaliação sensorial deste parâmetro, utilizando uma escala de 5 pontos, em que 1 é amarelado e 5 é verde-escuro, considerando o valor 3 como aceitável.

No decorrer dos 21 dias do 1º ensaio (Gráfico 4.16 (A)), constata-se que a cor, de todos os tratamentos armazenados às duas temperaturas, se encontra sempre acima do considerado aceitável, no decorrer de todo o ensaio, embora se verifique um ligeiro decréscimo aos 21 dias. Quanto ao 2º ensaio, as avaliações efetuadas para este parâmetro estão acima do aceitável no decorrer de todo o ensaio, com um ligeiro aumento no decorrer de todo o ensaio – Gráfico 4.16 (B).

Verifica-se que as combinações que apresentam melhores resultados são todos os tratamentos armazenados às 4 temperaturas.

### Sal

No Gráfico 4.17 encontram-se representados os valores obtidos referentes à avaliação sensorial do sal da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C.



**Gráfico 4.17 – Avaliação do sal da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

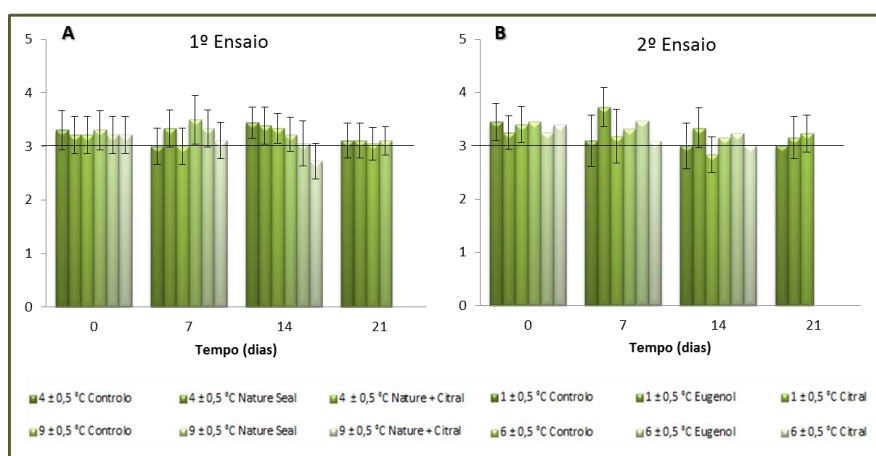
Realizou-se a avaliação sensorial deste parâmetro, recorrendo a uma escala de 5 pontos, em que 1 é muito pouco e 5 é excessivo, considerando o valor 3 como razoável.

Relativamente ao 1º ensaio – Gráfico 4.17 (A) – constata-se que a quantidade de sal presente na amostra foi considerada razoável no desenrolar do ensaio, embora algumas amostras apresentem valores inferiores a 3, indicando que os provadores consideraram que a quantidade de sal é pouca. Através da análise do Gráfico 4.17 (B), verifica-se que, no geral do 2º ensaio, o painel de provadores avaliou a quantidade de sal existente nas amostras como pouca, visto que a grande maioria das avaliações se encontram abaixo do nível 3, com tendência para se aproximar do ponto 2, cujo significado é “pouco”.

Consideram-se todos os tratamentos armazenados a 4 e 9 °C, como as combinações que apresentam resultados mais aceitáveis.

### Textura

Os resultados obtidos referentes à avaliação sensorial da textura da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representadas no Gráfico 4.18.



**Gráfico 4.18 – Avaliação da textura da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

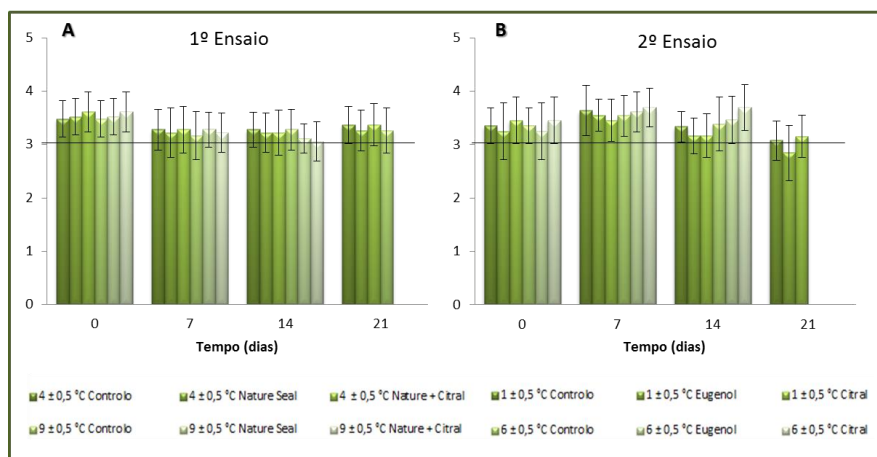
Avaliou-se sensorialmente o parâmetro textura, usando uma escala de 5 pontos, em que 1 é muito mole e 5 é muito dura, considerando o valor 3 como aceitável.

Para o 1º ensaio – Gráfico 4.18 (A) – os valores apresentados para avaliação deste parâmetro, no geral, são aceitáveis, para todos os tratamentos, tempos e temperaturas. Quanto ao 2º ensaio, as avaliações do parâmetro estão acima do nível de aceitabilidade (3), embora a partir do 14º dia ocorra uma diminuição das avaliações nas amostras de todos os tratamentos (Gráfico 4.18 (B)).

Considera-se que todas as combinações entre tratamentos e temperaturas apresentam resultados favoráveis para a avaliação da textura da planta *Salicornia ramosissima*.

### Suculência

No Gráfico 4.19 encontram-se representados os valores obtidos referentes à avaliação sensorial da suculência da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C.



**Gráfico 4.19 – Avaliação da suculência da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

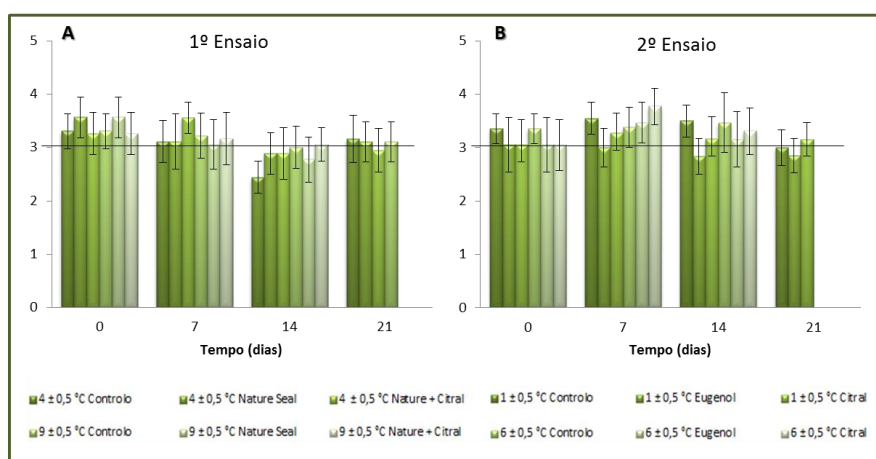
Avaliou-se sensorialmente o parâmetro suculência, utilizando uma escala de 5 pontos, em que 1 é mau e 5 é excelente, tendo em conta que o valor de 3 é aceitável.

No decorrer de todo o 1º ensaio, constata-se que as avaliações das amostras estão acima do nível de aceitabilidade, excetuando as amostras de Nature e Nature+Citral a 9 °C, a partir do 14º dia – Gráfico 4.19 (A). Para o 2º ensaio, as avaliações efetuadas pelo painel de provadores apresentam valores acima da aceitabilidade, sendo que no tempo 4, ocorre um decréscimo dos mesmos – Gráfico 4.19 (B).

Constata-se que as combinações entre todos os tratamentos, temperaturas e tempos apresentam valores aceitáveis para o parâmetro suculência.

### **Sabor**

Os dados obtidos referentes à avaliação sensorial do sabor da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.20.



**Gráfico 4.20 – Avaliação do sabor da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Efetuiu-se uma avaliação sensorial deste parâmetro, utilizando uma escala de 5 pontos, em que 1 é muito desagradável e 5 é excelente, considerando o valor 3 como aceitável.

No 1º ensaio, as avaliações apresentadas para o sabor em todos os tratamentos e às duas temperaturas, é considerado acima do aceitável até aos 14 dias (tempo 3),

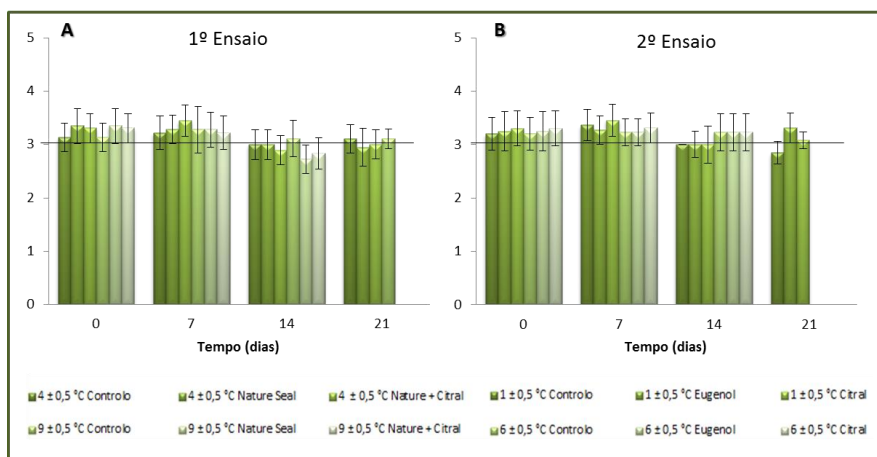
**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

sendo que após este tempo, são conferidas avaliações inferiores ao aceitável, tanto nas amostras a 4 °C, como nas amostras a 9 °C – Gráfico 4.20 (A). Quanto ao 2º ensaio, as avaliações estão acima do aceitável, no entanto, a partir do 14º dia, ocorre uma diminuição do nível de aceitabilidade nas amostras de todos os tratamentos armazenados a 1 °C – Gráfico 4.20 (B).

Considera-se que os tratamentos armazenados a 4 °C são os que apresentam avaliações mais aceitáveis.

**Aroma**

Os resultados apresentados para o aroma da planta *Salicornia ramosissima* – armazenada a 4 e 9 °C; e 1 e 6 °C – encontram-se no Gráfico 4.21.



**Gráfico 4.21 – Avaliação do aroma da *Salicornia ramosissima* durante 21 dias de armazenamento**

**A** - Amostras controlo e tratadas com Nature a 6 %, Nature a 6 % + Citral a 0,025 % no 1º ensaio e armazenadas a 4 e 9 ± 0,5 °C. **B** – Amostras controlo e tratadas com Eugenol a 0,025 % e Citral a 0,025 % no 2º ensaio e armazenadas a 1 e 6 ± 0,5 °C. Os valores representam a média e o erro padrão de três réplicas.

Avaliou-se sensorialmente o parâmetro aroma, utilizando uma escala de 5 pontos, em que 1 é muito desagradável e 5 é excelente, tendo em conta que o valor de 3 é aceitável.

Em relação ao 1º ensaio (Gráfico 4.21 (A)), verifica-se que o aroma de todos os tratamentos a ambas temperaturas é considerado acima do aceitável até ao 14º dia, em que a maioria das amostras passa a ter uma avaliação inferior à considerada

aceitável, nomeadamente as amostras armazenadas a 9 °C. No 2º ensaio, as avaliações do aroma apresentadas estão acima do aceitável, no entanto, a partir do tempo 3 (14 dias), existe uma diminuição do nível de aceitabilidade nas amostras de todos os tratamentos armazenados a 1 °C – Gráfico 4.21 (B).

Considera-se que todos os tratamentos armazenados a 6 °C são a melhor combinação para manter o nível de aceitabilidade deste parâmetro.

#### 4.2.2. SAL VERDE

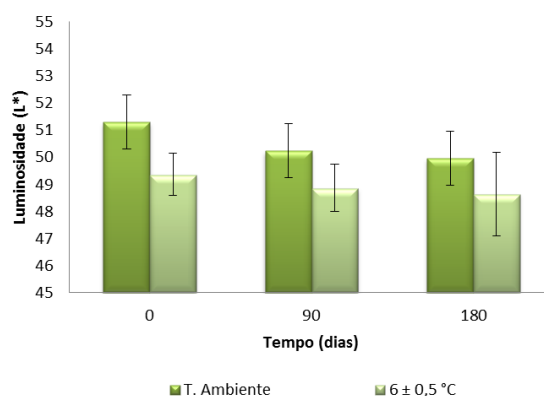
Para a caracterização do Sal Verde ao longo do tempo, realizaram-se análises no tempo 0, ao fim de 90 e 180 dias.

##### 4.2.2.1. COR

Este atributo do Sal Verde foi avaliado através dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $chroma^*$  e ângulo Hue.

##### Parâmetro $L^*$

Os resultados apresentados para a luminosidade do Sal Verde – armazenado à temperatura ambiente e a 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.22.



**Gráfico 4.22 – Luminosidade ( $L^*$ ) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento**  
Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a  $6 \pm 0,5$  °C.  
Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Os valores obtidos para este parâmetro variam entre 48,6 e 51,3, indicando o grau de luminosidade das amostras de *Salicornia ramosissima* em pó. O resultado médio apresentado para este parâmetro é 50,32.

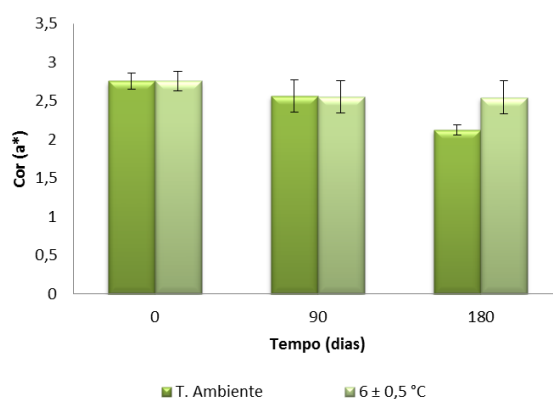
Após a análise do Gráfico 4.22, verifica-se que, no decorrer dos 180 dias, existe um pequeno decréscimo na luminosidade do Sal Verde. As amostras armazenadas à temperatura ambiente apresentam uma maior diminuição desse parâmetro do que as amostras armazenadas a 6 °C.

Segundo a análise estatística (Anexos XXV – XXX), verifica-se que não ocorrem diferenças significativas entre as duas temperaturas, nem entre os 3 tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ).

Em relação ao estudo realizado em paralelo por Sousa (2012), no Sal Verde da *Sarcocornia perennis*, verifica-se que a luminosidade deste também diminui ao longo dos 180 dias, sendo a diminuição mais elevada nas amostras armazenadas à temperatura ambiente, ou seja, verifica-se um comportamento semelhante ao da luminosidade das amostras de Sal Verde de *S. ramosissima*.

### **Parâmetro a\***

Os resultados para o parâmetro a\* do Sal Verde – armazenado à temperatura ambiente e a 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.23



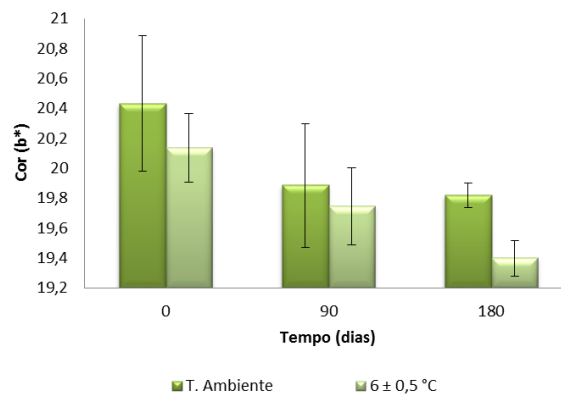
**Gráfico 4.23 – Cor (a\*) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento.**  
Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a 6 ± 0,5 °C.  
Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Os valores obtidos para o parâmetro  $a^*$  variam entre 2 e 3, sendo que os valores negativos de  $a^*$  determinam a quantidade de cor verde existente na amostra. O valor inicial médio para o parâmetro  $a^*$  da cor é de 2,76

Recorrendo ao Gráfico 4.23, constata-se que existe uma diminuição mínima do valor de  $a^*$  aos 90 dias. No entanto, no tempo 3 (180 dias), as amostras armazenadas à temperatura ambiente apresentam uma perda significativa da quantidade da cor verde, ou seja, uma diminuição mais acentuada do parâmetro, contrastando com as amostras a 6 °C, nas quais a diminuição é quase nula. Após análise estatística dos dados (Anexos XXV – XXX), verifica-se que à temperatura ambiente ocorrem diferenças significativas entre o tempo 3 (180 dias) e o tempo 1 (0 dias), em que este último apresenta resultados significativamente superiores ( $p < 0,05$ ).

### **Parâmetro $b^*$**

Os valores obtidos para a cor (parâmetro  $b^*$ ) da halófito *Salicornia ramosissima* em pó – armazenado à temperatura ambiente e a 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.24.



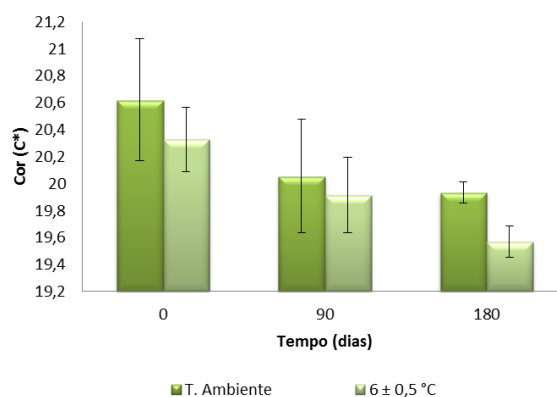
**Gráfico 4.24 – Cor ( $b^*$ ) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento.**  
Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a 6 ± 0,5 °C.  
Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Os valores acima apresentados variam entre 19,4 e 20,4. Este parâmetro indica a variação da cor, entre o amarelo e o azul. Para o parâmetro  $b^*$  da cor, apresenta 20,29 como valor médio inicial.

Este parâmetro vai diminuindo no decorrer dos 180 dias do ensaio, segundo o Gráfico 4.24. Embora a diminuição da cor amarelada se verifique nas amostras armazenadas a ambas as temperaturas, as amostras a 6 °C apresentam um decréscimo mais acentuado do parâmetro  $b^*$ . Analisando estatisticamente os resultados obtidos (Anexo XXV – XXX), observa-se que apenas no tempo 3 (180 dias) existem diferenças significativas, sendo que os resultados para a temperatura ambiente são significativamente mais elevados do que os apresentados para amostras a 6 °C.

### **Parâmetro *chroma*\***

Os valores obtidos para o valor de *chroma* ( $C^*$ ) do Sal Verde - armazenado à temperatura ambiente e a 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.25.



**Gráfico 4.25 – Valor de *chroma* ( $C^*$ ) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento.**  
Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a  $6 \pm 0,5$  °C.  
Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

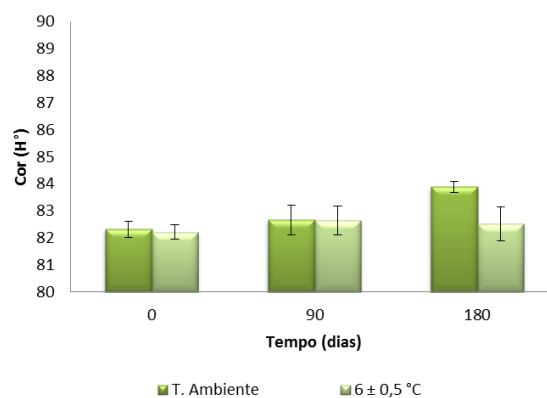
Os valores apresentados no Gráfico 4.25 variam entre 19,6 e 20,6. O valor de Chroma indica a pureza da cor da planta halófito *Salicornia ramosissima* em pó. Este parâmetro apresenta um valor médio inicial de 20,47.

Analisando o Gráfico 4.25, verifica-se que o valor do parâmetro  $C^*$  apresenta um decréscimo no decorrer de todo o ensaio, sendo que o mesmo é mais evidenciado nas amostras armazenadas a 6 °C. Segundo a análise estatística (Anexos XXV – XXX), verifica-se que não ocorrem diferenças significativas entre as duas temperaturas, nem

entre os 3 tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ). Ambas as temperaturas apresentam resultados aceitáveis da variação do parâmetro *chroma*\*.

### Parâmetro Hue

Os resultados para ângulo Hue ( $H^\circ$ ) do Sal Verde da planta halófito *Salicornia ramosissima* – armazenado à temperatura ambiente e a  $6^\circ\text{C}$  – encontram-se representados no Gráfico 4.26.



**Gráfico 4.26 – Ângulo Hue ( $H^\circ$ ) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento.**  
Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a  $6 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .  
Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Os valores obtidos variam entre 82,2 e 83,9. O ângulo Hue indica a tonalidade da cor da halófito. O resultado inicial médio apresentado para o ângulo Hue é de 82,26.

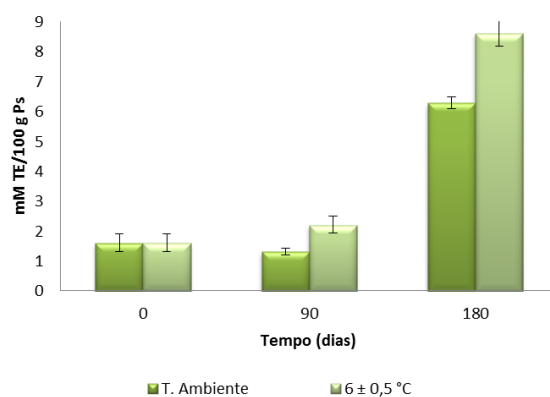
Verifica-se que este parâmetro da cor – ângulo  $H^\circ$  – apresenta uma menor variação dos valores nas amostras de Sal Verde armazenadas à temperatura ambiente do que nas amostras a  $6^\circ\text{C}$  – segundo o Gráfico 4.26. Analisando estatisticamente (Anexos XXV – XXX), constata-se a existência de diferenças significativas entre o tempo 1 (0 dias) e o tempo 3 (180 dias), em que os resultados do tempo 1 são significativamente superiores aos resultados do tempo 3 ( $p < 0,05$ ). As amostras a  $6^\circ\text{C}$  são as que apresentam melhores valores para o desenrolar deste parâmetro ao longo do ensaio.

#### 4.2.2.2. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A determinação deste parâmetro no Sal Verde foi efetuada por 2 métodos distintos: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) e Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).

##### Método TEAC

Os valores obtidos para a Atividade Antioxidante do Sal Verde da planta halófito *Salicornia ramosissima* – armazenado à temperatura ambiente e a 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.27.



**Gráfico 4.27 – Atividade Antioxidante (Método TEAC) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento.**

Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a 6 ± 0,5 °C.

Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Os resultados obtidos variam entre 1,3 e 8,6 mM TE/100 g de P<sub>s</sub>. O valor inicial médio nas amostras é de 1,2 mM TE/100 g de P<sub>s</sub>. A atividade antioxidante indica a capacidade para retardar ou inibir substratos oxidáveis.

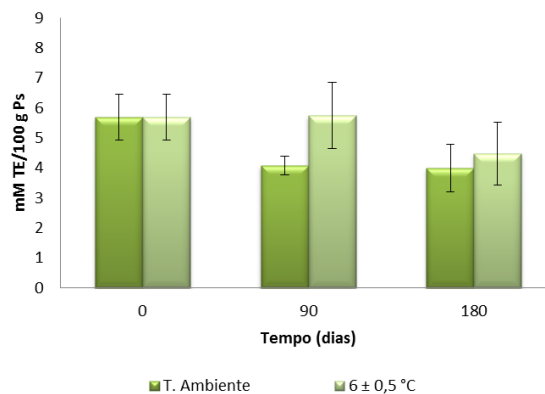
Recorrendo à análise do Gráfico 4.27, verifica-se que, nas amostras armazenadas à temperatura ambiente, ocorre uma ligeira diminuição da atividade antioxidante aos 90 dias, sendo que no tempo 3 sucede um aumento significativo da mesma. Nas amostras armazenadas a 6 °C, verifica-se um aumento no decorrer de todo ensaio, sendo o mesmo mais elevado dos 90 para os 180 dias. Segundo a análise estatística (Anexos XXV – XXX), verifica-se que não ocorrem diferenças significativas entre as duas

temperaturas, nem entre os 3 tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ). A temperatura de armazenamento de 6 °C, é a que apresenta melhores resultados para a atividade antioxidante.

Comparando com o estudo de Sousa (2012), as amostras de Sal Verde de *Sarcocornia perennis* exibiram um comportamento diferente do Sal Verde da *S. ramosissima*, uma vez que entre os 90 e os 180 dias apresentaram uma diminuição da atividade antioxidante.

### **Método ORAC**

Os valores apresentados para a Atividade Antioxidante do Sal Verde da *Salicornia ramosissima* – armazenado à temperatura ambiente e a 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.28.



**Gráfico 4.28 – Atividade Antioxidante (Método ORAC) do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento.**

Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a 6 ± 0,5 °C.

Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Os resultados obtidos variam entre 4 e 5,8 mM TE/100 g de P<sub>s</sub>. O valor inicial médio nas amostras é de 4,1 mM TE/100 g de P<sub>s</sub>. A atividade antioxidante indica a capacidade para retardar ou inibir substratos oxidáveis.

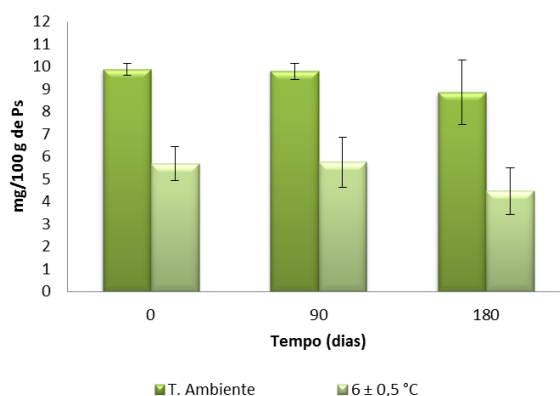
Segundo o Gráfico 4.28, as amostras guardadas a 6 °C mantêm a atividade antioxidante nos primeiros 90 dias, sendo que no tempo 3 ocorre um decréscimo da mesma. Quanto às amostras armazenadas à temperatura ambiente, no tempo 1 (90

dias), ocorre uma diminuição da atividade antioxidante. No entanto, os valores mantiveram-se iguais após 180 dias. A análise estatística (Anexos XXV – XXX) indica que, no tempo 1 (0 dias), se observa a inexistência de diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). Porém para o tempo 2 e 3 (90 e 180 dias, respetivamente), verifica-se que as temperaturas diferem significativamente entre si, sendo que o valor da amostra armazenada a 6 °C é superior ao da temperatura ambiente. As duas temperaturas possuem diferenças significativas no decorrer dos 3 tempos do ensaio. Os melhores resultados são apresentados pelas amostras de *Salicornia* armazenadas a 6 °C.

Zheng e Wang (2001) apresentam um estudo efetuado com 27 ervas utilizadas na culinária, cujos valores para a atividade antioxidante (determinada pelo método ORAC) varia entre 0,24 a 9,22 mM TE/100 g P<sub>F</sub>. Conforme se pode verificar, as amostras de Sal Verde da *Salicornia ramosissima* apresentam valores superiores aos obtidos por Zheng e Wang.

#### 4.2.2.3. FENÓIS TOTAIS

Os resultados apresentados para o teor de fenóis do Sal Verde – armazenado à temperatura ambiente e a 6 °C – encontram-se representados no Gráfico 4.29.



**Gráfico 4.29 – Fenóis totais do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento**  
Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a 6 ± 0,5 °C.  
Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Os valores apresentados no Gráfico 4.29 variam entre 4,5 e 9,9 mg/ 100 g P<sub>S</sub> e o valor médio 0,1 mg/ 100 g P<sub>S</sub>.

Segundo a análise do Gráfico 4.29, constata-se que o total de fenóis nas amostras de Sal Verde da *S. ramosissima* se mantêm ao longo do ensaio, com exceção do último tempo (180 dias), no qual as amostras armazenadas à temperatura ambiente apresentam um decréscimo dos fenóis totais. Segundo a análise estatística (Anexos XXV – XXX), verifica-se que não ocorrem diferenças significativas entre as duas temperaturas, nem entre os 3 tempos do ensaio ( $p < 0,05$ ).

Em relação ao Sal Verde da planta *Sarcocornia perennis*, verifica-se uma semelhança no comportamento dos fenóis do Sal Verde da *S. ramosissima*. Os fenóis totais mantêm-se ao longo do ensaio, com variações mais acentuadas nas amostras armazenadas a 6 °C.

#### **4.2.2.4. MICRORGANISMOS**

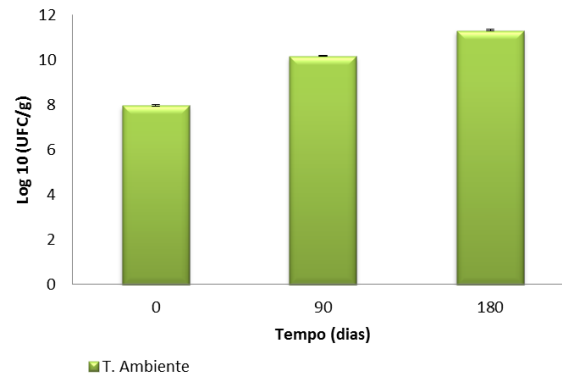
Para determinação de presença de microrganismos nas amostras de Sal Verde, pesquisaram-se diferentes tipos de microrganismos: bactérias e bolores e leveduras.

##### **Bactérias**

Para a verificação da presença de bactérias no Sal Verde da *Salicornia ramosissima*, pesquisaram-se bactérias psicrófilas, nas amostras armazenadas a 6 °C, e bactérias aeróbias mesófilas no Sal Verde armazenado à temperatura ambiente ( $\approx 25$  °C).

Quanto às bactérias psicrófilas a sua presença não se verifica no decorrer de todo o ensaio (180 dias). Porém, verifica-se crescimento de bactérias aeróbias mesófilas. Os resultados obtidos para estas bactérias do Sal Verde – armazenado à temperatura ambiente – encontram-se apresentados no Gráfico 4.30.

Os valores apresentados para este parâmetro variam entre 8 e 11,4 unidades logarítmicas de unidades formadoras de colónias (UFC).



**Gráfico 4.30 – Bactérias aeróbias mesófilas do Sal Verde durante 180 dias de armazenamento**  
Estão representadas amostras armazenadas à temperatura ambiente e a  $6 \pm 0,5$  °C.  
Estão representadas as médias e erro padrão de 3 réplicas.

Recorrendo à análise do Gráfico 4.30, verifica-se a existência da presença de bactérias nas amostras do tempo 1. Ao longo dos 180 dias, as mesmas apresentam um crescimento contínuo. Quanto à análise estatística (Anexo XXIX), observa-se que este parâmetro possui diferenças significativas entre os 3 tempos do ensaio, sendo que o valor do tempo 3 (180 dias) é significativamente superior ao valor do tempo 2 (90 dias) e este último é significativamente superior ao do tempo 1 (0 dias) ( $p < 0,05$ ).

Comparativamente ao apresentado para o Sal Verde da *Sarcocornia perennis*, constata-se que os resultados são bastante similares, uma vez que as amostras iniciais também continham bactérias aeróbias mesófilas, cujo crescimento aumenta no decorrer dos 180 dias nas amostras armazenadas à temperatura ambiente.

Segundo as recomendações da Comissão Internacional para Especificações Microbiológicas em Alimentos (ICMSF), o nível de contaminação aceitável de bactérias aeróbias mesófilas em especiarias não pode exceder  $10^6$  UFC/g (ICMSF, 1974). Como tal, verifica-se a existência de um nível de contaminação inaceitável deste parâmetro.

### **Bolores e Leveduras**

Quanto a bolores e leveduras, a sua presença não se verifica no Sal Verde de *S. ramosissima*, à semelhança do Sal Verde de *S. perennis*, onde o crescimento é inexistente.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho estudou-se a avaliação do potencial da planta halófito *Salicornia ramosissima*, sujeita a diferentes tratamentos e armazenada a várias temperaturas, avaliando o potencial uso da mesma em saladas frescas embaladas. Pretendeu-se ainda caracterizar a *Salicornia ramosissima* seca e triturada (Sal Verde), para possível utilização como especiaria.

A avaliação física da planta halófito *Salicornia ramosissima*, nomeadamente dos parâmetros L\* (37,38), a\* (-10,99), b\* (22,75), C\* (27,27) e H° (115,76), permitiu concluir que a planta apresenta uma cor verde-escura com tons amarelados.

Segundo as análises qualitativas efetuadas na *Salicornia ramosissima* constata-se que a mesma tem potencial para ser utilizada com sucesso em saladas, quer seja fresca ou em Sal Verde (como tempero substituto do sal). Os resultados obtidos relativamente à caracterização físico-química da planta permitem concluir que a halófito é singular nos seus elevados teores de substâncias minerais, sendo caracterizada pelo elevado teor em sódio (18,19 g/100g P<sub>S</sub>) e teores médios de potássio (1,06 g/100g P<sub>S</sub>), cálcio (0,27 g/100g P<sub>S</sub>), fósforo (0,23 g/100g P<sub>S</sub>) e ferro (19,67 mg/100g P<sub>S</sub>). A halófito *Salicornia ramosissima* é uma fonte excepcional de compostos antioxidantes (método TEAC – 2,23 mM TE/ 100g P<sub>S</sub> e método ORAC – 9,00 mM TE/100 g P<sub>S</sub>), nomeadamente de β-caroteno (0,65 mg/100 g P<sub>F</sub>), de flavonóis (0,49 g/100 g P<sub>S</sub>), de ácidos hidroxicinâmicos (0,410 g/100 g P<sub>S</sub>) e de ácido ascórbico (0,86 mg/100g P<sub>F</sub>).

Com relação aos tratamentos aos quais a halófito *Salicornia ramosissima* foi submetida (Nature Seal, Citral, Nature Seal + Citral e Eugenol), esperava-se as amostras com estes revestimentos apresentassem resultados melhores aos apresentados pelas amostras controlo, uma vez que estes tratamentos fornecem uma barreira semipermeável a gases e a vapor de água à planta. Porém, pode dizer-se que não se observaram alterações significativas nas amostras com tratamentos comparativamente às amostras de controlo, na análise da cor, da perda de água, perda de eletrólitos, atividade antioxidante, presença de compostos fenólicos e existência de microrganismos.

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Relativamente às temperaturas de armazenamento, estas são consideradas como o fator mais importante para manter a qualidade de uma planta após colheita. Os resultados das amostras da planta halófito *Salicornia ramosissima* fresca mostraram que a mesma deve ser armazenada a temperaturas de refrigeração (1 a 4 °C) durante 21 dias. Os resultados para as plantas armazenadas entre as referidas temperaturas apresentaram melhores resultados do que nas plantas armazenadas a temperaturas superiores (6 e 9 °C), uma vez que que nas amostras a 1 a 4 °C ocorreram perdas de águas menores, atrasou-se o envelhecimentos das plantas e ainda se evitou a ocorrência de mudanças significativas na cor das amostras. O intervalo das temperaturas de armazenamento (1 a 4 °C) não deve ser excedido, quer por valores superiores – onde já se verificou que ocorre a deterioração da planta – quer por valores inferiores, pois estes podem causar danos em produtos hortofrutícolas.

Submeteram-se as amostras da planta halófito *Salicornia ramosissima* a uma avaliação sensorial, analisando a aparência, a cor, o sal, a textura, a suculência, o sabor e o aroma. No geral, as amostras da planta halófito apresentaram características sensoriais agradáveis, uma vez que apresentaram avaliações superiores ao considerado aceitável. Dos parâmetros sensoriais avaliados destacou-se a suculência, como o parâmetro que obteve melhores classificações, o que seria de esperar, pois este é um dos mecanismos que permite à halófito tolerar meios de alta salinidade.

O Sal Verde produziu-se através da secagem e trituração das amostras frescas de *Salicornia ramosissima*. Submeteu-se a planta fresca a estes tratamentos, pois estes permitem a conversação da planta durante mais tempo. Em relação à planta fresca, o Sal Verde possui um volume consideravelmente inferior, o que possibilita um armazenamento e transporte mais eficientes (custos menores). A especiaria Sal Verde permite ainda a utilização deste produto como tempero para alimentos em substituição do sal.

No início do ensaio, o Sal Verde apresentou valores diferentes de L\* (50,32), a\* (2,75), b\* (20,29), C\* (20,47) e H° (82,26) comparativamente às amostras de *Salicornia ramosissima* frescas. O Sal Verde apresenta uma diminuição acentuada na quantidade de cor verde em relação à planta fresca. A cor da Salicórnia seca e tratada revelou uma

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

cor verde muito escura com tons amarelos e acastanhados. O Sal apresentou valores de atividade antioxidante (método TEAC – 1,20 mM TE/100 g P<sub>S</sub>; e método ORAC – 4,14 mM TE/100 g P<sub>S</sub>) bastante inferiores aos apresentados pelas amostras da planta fresca. Quanto ao teor em fenóis totais (0,001 g/100 g P<sub>S</sub>) do Sal Verde é bastante menor ao apresentado para as Salicórnias frescas. Conclui-se que o processamento a que a *Salicornia ramosissima* é submetida para transformação em Sal Verde causa alterações na cor da planta e diminuição dos compostos antioxidantes da planta.

Relativamente ao armazenamento do Sal Verde, esperava-se a existência de variações dos resultados apresentados pelas amostras armazenadas a 6 °C e pelas armazenadas à temperatura ambiente (≈ 25 °C). Porém, tal não ocorreu, com exceção das bactérias mesófilas aeróbias que apresentaram um crescimento demasiado elevado, inclusive ultrapassando o limite máximo destes microrganismos em especiarias (10<sup>6</sup> UFC/g). Uma das possíveis causas que explica a elevada presença de microrganismos é que tenha ocorrido contaminação microbiológica durante o processo de obtenção da especiaria. A planta *Salicornia ramosissima* foi submetida a uma secagem e se a mesma for realizada de forma incorreta poderá contaminar os alimentos.

Conclui-se que a temperatura ideal para armazenamento da especiaria Sal Verde da planta *Salicornia ramosissima* é a temperatura fria, ou seja, a 6 °C, durante 180 dias (6 meses), dado que nas amostras armazenadas à temperatura ambiente ocorreu um crescimento excessivo de microrganismos.

## 6. PERSPETIVAS FUTURAS

Reconhecendo o potencial da planta halófito *Salicornia ramosissima* para a produção de alimentos (fresca ou como Sal Verde), destaca-se a necessidade de se domesticar a planta para o desenvolvimento da agricultura em água salgada e ainda criar um método de colheita que possa rentabilizar todo o processo.

Após este a realização deste trabalho, verifica-se que *Salicornia ramosissima* é uma planta rica em minerais (sódio, ferro e potássio) e em compostos antioxidantes ( $\beta$ -caroteno, flavonóis, ácidos hidroxicinâmicos, ácido ascórbico). Considerando que os compostos antioxidantes previnem o aparecimento de certas doenças e o envelhecimento precoce do organismo humano, é de grande importância formar uma parceria com profissionais da área da saúde, para poder relacionar o consumo da halófito com alguns benefícios na saúde.

Relativamente ao Sal Verde, considera-se de suma importância aprimorar as técnicas de processamento da especiaria (secagem e trituração), pois estes são considerados pontos de controlo necessários, para que o produto final não apresente contaminações microbiológicas. Ainda se revela essencial, o estudo de forma mais aprofundada do tempo de duração máximo para o armazenamento do Sal Verde e ainda dos tratamentos aos quais poderá ser sujeito, visando o aumento do seu período de conservação.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Adams, M. R.; Moss, M. O. (1995). *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Almajano, M. P. (2009). *Determinacion de la actividad antioxidante de las bayas de Goji*. Consorci Escola Industrial de Barcelona. Barcelona.
- Almeida, D. (2004). *Revestimentos*. Acedido em 14 de Março de 2012 no Web site: <http://dalmeida.com/poscolheita/tecnologia/Revestimentos.pdf>
- Almeida, D. (2005). *Manuseamento de Produtos Hortofrutícolas*. Sociedade Portuguesa de Inovação. Principia, Publicações Universitárias e Científicas. São João do Estoril.
- Angelo, P. M.; Jorge, N. (2006). Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. 66 (1): 232 – 240.
- A.O.A.C. (2000). *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Inc. Washinton, D.C. E.U.A
- Attia, F. M.; Alsobayel, A. A.; Kriadees, M. S.; Al-Saiady, M. Y.; Bayoumi, M. S. (1997). Nutrient composition and feeding value of *Salicornia bigevolii* torr meal in broiler diets. *Animal Feed Science Technology*, 65: 257 – 263.
- Azerêdo, G. A.; Oliveira, F. L. N.; Faro, Z. P. (2008). *Pulsos eléctricos na Preservação de Alimentos: Factores críticos na inactivação microbiana e efeitos sobre os constituintes alimentares*. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v.26, n. 2: 171 – 178
- Baldwin, E. A. (1994). Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present and future. Em: J. M. Krochta, E. A. Baldwin, M. Nisperos-Carriedo (eds.). *Edible coatings and films to improve food quality*. CRC Press. New York.
- Belitz, H. D.; Grosch, W. (1999). *Food Chemistry*. Second Edition. Springer, Berlim.
- Board, R. G. (1983). *A Modern Introduction to Food Microbiology*. Blackwell Scientific Publications. London.
- Brackett, R. E. (1993). Microbial quality. Em: R. L. Shewfelt, S. E. Prussia (eds.). *Postharvest Handling*. Academic Press, Inc. California.
- Bredemeier, C.; Mundstock, C. M. (2000). *Regulação da Absorção e Assimilação do Nitrogénio em Plantas*. Ciência Rural, Santa Maria, v.30, n.2: 365-372.
- Centro de Estudos e Valorização de Algas (2003). *Salicornia - Curso Salinicultura*. Projecto EQUAL – Animação local para o desenvolvimento e criação de emprego na Ria Formosa.
- Centro de Estudos e Valorização de Algas (2011). *Fiche nutritionelle*. Acedido a 13 de Janeiro de 2012 no Web site da Ceva: [www.ceva.fr](http://www.ceva.fr)

- Charles, F.; Guillaume, C.; Gontard, N. (2008). Effect of passive and active modified atmosphere packaging on quality changes of fresh endives. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 22–29.
- Costa, J. C. (2001). Tipos de vegetação e adaptações das plantas do litoral de Portugal continental. Em M. E. Moreira, A. Casal Moura, H. M. Granja, F. Noronha (Eds.). *Albergaria em homenagem (in honoris) Professor Doutor Soares de Carvalho*: 283-299. Universidade do Minho.
- Coulter, T. P. (1984). *Food – The chemistry of its components*. Royal Society of Chemistry. London.
- Davy, A. J.; Bishop G. F.; Costa, S. B (2001). *Salicornia* L. (*Salicornia pusilla* J. Woods, *S. ramosissima* J. Woods, *S. europaea* L., *S. obscura* P. W. Ball & Tutin, *S. nitens* P. W. Ball & Tutin, *S. fragilis* P. W. Ball & Tutin and *S. dolichostachya* Moss). *Journal of Ecology*. 89: 681 – 707.
- European Food Safety Authority (2009). Cadmiun in food. *The EFSA Journal*, 980: 1-139.
- European Food Safety Authority (2010). Lead in food. *The EFSA Journal*, 8(4): 1570.
- Eskin, N. A. M. (1990). *Biochemistry of Foods*. Academic Press. California, USA.
- Farrell, K. T. (1985). *Spices, Condiments and Seasonings*. The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Ferri, M. G.; Menezes, N. L.; Monteiro-Scanavacca, W. R. (1981). Glossário Ilustrado de Botânica. 1ª Edição, Livraria Nobel SA. São Paulo – Brasil.
- Flowers, T.J; Colmer, T. D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179: 945-963.
- FNB (Food Nutrition Board) e IOM (Institute of Medicine) (2005). *Dietary reference intakes for water, potassium, chloride and sulfate*. The National Academies Press. Washington, D.C.
- Food and Agricultural Organization (2002). Human vitamin and mineral requirements. FAO/WHO. Roma.
- Food and Drug Administration (2009). *Compliance Policy Guides > CPG Sec. 525.759 Spices – Definitions*. Acedido a 13 de Janeiro de 2012 em: <http://www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm074468.htm>
- Francis, F. J. (1985). Pigments and other colorants. Em O. R. Fennema (Eds.). *Food Chemistry*. Marcel Dekker. New York.
- Gago, C; Sousa, A. R.; Julião, M.; Miguel, G.M; Antunes, D.; Panagopoulos, T. (2011a). Refrigeration Needs for Sustainable Preservation of Horticultural Products. *Recent Researches in Energy & Environment*: 53 – 57.

- Gago, C; Sousa, A. R.; Julião, M.; Miguel, G.M; Antunes, D. C.; Panagopoulos, T. (2011b). Sustainable use of energy in the storage of halophytes uses for food. *Interational Journal of Energy and Environment*, 5 (4): 592-599.
- Glenn, E. P.; Brown, J. J.; O'Leary, J. W. (1998). Irrigating crops with seawater. *Scientific American*: August: 76-81.
- Herbs and Spices Processing (2006). *Crop and Food Processing*. Acedido a 11 de Dezembro de 2011 em: [http://practicalaction.org/practicalanswers/product\\_info.php?cPath=28\\_44&products\\_id=173](http://practicalaction.org/practicalanswers/product_info.php?cPath=28_44&products_id=173)
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods)(1974). *Microorganisms in foods*. 1974, Toronto, Canadá, University of Toronto Press.
- IFT (1981). *Sensory evaluation guide for testing food and beverage products*. Sensory evaluation Division, Institute of Food Technologists. *Food Technology* 35(11): 50-59.
- Instituto de Pesca do Governo do Estado de São Paulo (2010). *A descoberta do verde*. Acedido a 21 de Fevereiro de 2012 em : [http://www.pesca.sp.gov.br/noticia.php?id\\_not=7088](http://www.pesca.sp.gov.br/noticia.php?id_not=7088)
- ISO 17410 (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal methods for the enumeration of psychrotrophic microorganisms.
- ISO 4883 (2003). Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal methods for the enumeration of microorganisms. Colony-count technique at 30 °C.
- ISO 7954 (1984). Microbiology—General guidance for enumeration of yeasts and moulds—Colony count technique at 25 °C.
- Jacxsens, J.; Devlieghere, F.; Debevere, J. (2002). Predictive modeling for packaging design: equilibrium modified atmosphere packages of fresh-cut vegetables subjected to a simulation distribution chain. *International Journal of Food Microbiology*, 73: 331-341.
- JECFA Evaluations (1982). Copper – contaminant. *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants*.
- Kegley, S.; Conlisk, E.; Moses, M. (2008). *Marin Municipal Water Ditriect – Herbicide Risk Assessment - Eugenol*. Pesticide Research Institute. California.
- Khan, M. A.; Duke, N. C. (2001). Halophytes – A resource for the future. *Wetlands Ecology management*, 6: 455-456.
- Koukoumaras, A.; Sfakiotakis, E. (2007). Effect of 1-MCP prestorage treatment on ethylene and CO<sub>2</sub> production and quality of 'Hayward' kiwifruit during shelf-life after short, medium and long term cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 174-180.
- Ksouri, R.; Megdiche, W.; Falleh, H.; Trabelsi, N.; Boulaaba, M.; Smaoui, A.; Abdelly, C. (2008). Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic

- content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 865-873.
- La Lettre des Marais Atlantiques (2008). Le Marais Insolite. *Journée mondiale des Zones Humides*, 16. France.
- Lidster, P. D.; Powrie, W. D.; O'Donovan, M.; Leung, C. K. (2011). *Composition and Methods for preserving cut apples*. Patente n.º US 7,931,926 B", publicada em 26 de Abril de 2011.
- Lu, D.; Zhang, M.; Wang, S.; Cai, J.; Zhou, X.; Zhu, C. (2010). Nutritional characterization and changes in *Salicornia bigevollii* Torr. during storage. *Food Science and Technology*: 43, 519-524
- Martin-Diana, A. B.; Barry-Ryan, C.; Rico, D.; Frias, J. M.; Mulcahy, J.; Henehan, G. T. M. (2006). Calcium lactate washing treatments for salad-cut Iceberg lettuce: Effect of temperature and concentration on quality retention parameters. *Food Research International*. 38: 729-740.
- Miller, D. D. (1996). Minerals. Em: O. R. Fennema (ed.). *Food chemistry*. Marcel Dekker. New York.
- Nature Seal, Inc. (2012) *Nature Seal for Fresh-cut Produce*. Acedido a 10 de Fevereiro de 2012 em: <http://www.natureseal.com/faqs-fresh-cut-produce.aspx>
- National Academy of Sciences (2004). *Dietary Reference Intakes: Recommended Intakes for Individuals*. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. National Academies.
- Nunes, V. M. D. (1997). *Cultivo e secagem de alguma espécies aromáticas e condimentares*. Relatório de Estágio da Licenciatura em Engenharia Hortofrutícola. Unidade de Ciências e Tecnologias Agrárias. Universidade do Algarve, Faro. 89 pp.
- Ou B.; Hampsch-Woodill M.; Prior R. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 4619–4626.
- O'Leary, J. W.; Glenn, E. P.; Watson, M. C. (1985). Agricultural production of halophytes irrigated with seawater. *Plant and Soil*, 89: 311-321.
- Padovani, R. M.; Amaya-Farfán, J.; Colugnati, F. A. B.; Domene, S. M. A. (2006). Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. *Revista de Nutrição*, 19(6): 741-760.
- Pedro, J. G. M. (2007). *Produção experimental da planta Halófito Salicórnia, à escala piloto, na Ria Formosa*. Relatório de Estágio da Licenciatura em Engenharia Agronómica – Ramo Hortifruticultura. Faculdade de Engenharia e Recursos Naturais. Universidade do Algarve, Faro. 68 pp.

- Penarrieta, J. M.; Alvarado, J. A.; Bergenstahl, B.; Akesson, B. (2007). Spectrophotometric methods for the measurement of total phenolic compounds and total flavonoids in foods. *Bolivian Journal of Chemistry*, 24: 5-9.
- Pomeranz, Y.; Meloan, C. E. (1994). *Food analysis: Theory and Practice*. Aspen Publishers. Nova Iorque. 778 pp.
- Provisional Tolerable Weekly Intake (1999). Lead – contaminant. *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants (JECFA)*.
- Provisional Tolerable Weekly Intake (2005). Cadmium – contaminant. *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants*.
- Ramamoorthy, P. K.; Bono, A. (2007). Antioxidant activity, total phenolic acid and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. *Journal of Engineering Science and Technology*, 2 (1): 70-80.
- Raposo, M. F. J.; Morais, R. M. S. C.; Morais, A. M. M. B. (2009). Controlled atmosphere storage for preservation *Salicornia ramosissima*. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*. 1 no.4: 394 – 404
- Raybaudi-Massilia, R. M.; Rojas-Graü, M. A.; Mosqueda-Melgar, J.; Martín-Belloso, O. (2008). Comparative study on essential oils incorporated into an alginate-based edible coating to assure the safety and quality of fresh-cut Fuji apples. *Journal of Food Protection*, 71 (6): 1150 – 1161.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1998). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26 (9/10): 1231-1237.
- Reyes, L. F.; Villareal, J. E.; Cisneros-Zevallos, L. (2007). The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable or tissue. *Food Chemistry*, 101: 1254-1262.
- Ribeiro, E. P.; Seravalli, E. A. G. (2007). *Química de Alimentos*. Editora Edgard Blücher Ltda. Brasil.
- Rhee, M. H.; Park, H.; Cho, J. Y. (2009). *Salicornia herbacea*: Botanical, chemical and pharmacological review of halophyte marsh plant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3: 548-555.
- Rocha, A. M. C. N.; Mota, C.; Morais, A. M. M. B. (2005). Efeito no Armazenamento sob vácuo na actividade da PPO e nos compostos fenólicos da cenoura descascada (cv. Nantes). *Alimentos do século XXI: matérias-primas, processos e produtos em 7º Encontro de Química dos Alimentos*. Viseu.
- Rodrigues, D. A. C. (2009). *Avaliação das propriedades anti-radicalares de frutos e legumes*. Tese de Mestrado em Engenharia Biológica. Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade do Algarve, Faro. 190 pp.

- Rozema, J.; Flowers, T. (2008). Crops for a salinized world. *Science*, volume 322: 1478-1480.
- Saddiq, A. A; Khayyat, S. A. (2010). Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: citral. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 89-93.
- Salisbury, F. B; Ross, C. W. (1991). *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company, California.
- Saltveit, M. E. (2006). *Edible Films, Coatings & Processing Aids*. Acedido a 14 de Março de 2012 no Web site Postharvest Quality: [http://www.postharvestquality.com/uwilectures/davis\\_freshcut/EdibleFilms.pdf](http://www.postharvestquality.com/uwilectures/davis_freshcut/EdibleFilms.pdf)
- Sánchez-González, L.; Vargas, M.; González-Mártinez, C.; Chiralt, A.; Cháfer, M. (2011). Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings. *Food Engineering Reviews*, 3: 1-16.
- Silva, M. H. A. (2000). *Aspectos morfológicos e ecofisiológicos de algumas halófitas do sapal da Ria de Aveiro*. Tese de Doutoramento em Biologia. Departamento de Biologia – Universidade de Aveiro. 182 pp.
- Silva, A. P. C. M. (2007). *Dinamização do consumo de castanha com denominação de origem*. Relatório do Final do Projeto AGRO n.939 – Programa Operacional Agricultura e Desenvolvimento Rural.
- Shewfelt, R. L.; Prussia, S.E. (1993). Challenges in Handling Fresh Fruits and Vegetables. Em: R. L. Shewfelt, S. E. Prussia (eds.). *Postharvest Handling*. Academic Press, Inc. California.
- Sothornvit, R.; Kiatchanapaibul, P. (2009). Quality and shelf-life of washed fresh-cut asparagus in modified atmosphere packaging. *Food Science and Technology*: 42: 1484-1490.
- Sousa, A. R. B. (2012). *Explorar o potencial da *Sarcocornia perennis* para saladas frescas ou em pó (Sal Verde) como alternativa ao sal*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia dos Alimentos. Instituto Superior de Engenharia/Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade do Algarve, Faro.
- Ulloa, P. A.; Rubilar, J. F.; Cruz, R. M. S.; Khmelinskii, I. V.; Brigas, A. F.; Figueira, A. C.; Vieira, M. C (2011). Vitamins. Em: R. M. S. Cruz (Ed.). *Practical Food and research*. Nova Science Publishers, Inc. New York.
- United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) e Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2005). *Herbs, Spices and Essential Oils*. Acedido a 07 de Setembro de 2011 no Web site da United Nations Industrial Development Organization (UNIDO): [www.unido.org/fileadmin/user\\_media/Publications/Pub\\_free/Herbs\\_spices\\_and\\_essential\\_oils.pdf](http://www.unido.org/fileadmin/user_media/Publications/Pub_free/Herbs_spices_and_essential_oils.pdf)
- Ventura, Y.; Wuddineh, W. A.; Myrzabayeva, M.; Khozin-Goldberg, I.; Shipgel, M.; Samocha, T. M.; Sagi, M. (2011a). Effect of seawater concentration on the

**BIBLIOGRAFIA**

- productivity and nutritional value of annual *Salicornia* and perennial *Sarcocornia* halophytes as leafy vegetables crops. *Scientia Horticulturae*, 128: 189-196.
- Ventura, Y.; Wuddineh, W. A.; Shippel, M.; Samocha, T. M.; Klim, B. C.; Cohen, S.; Shemer, Z.; Santos, R.; Sagi, M. (2011b). Effects of day length on flowering and yield production of *Salicornia* and *Sarcocornia* species. *Scientia Horticulturae*, 130: 510-516.
- Vicente, A.; Venâncio, A. (2008). *Operações unitárias no processamento alimentar*. Acedido a 21 de Janeiro de 2012 no Web site da Universidade do Minho – Escola de Engenharia: [www.biologica.eng.uminho.pt/CEA/downloads/CEA\\_aula04.pdf](http://www.biologica.eng.uminho.pt/CEA/downloads/CEA_aula04.pdf)
- Watts, B. M.; Ylimaki, G. L.; Jeffery, L. E.; Elias, L. G. (1989) *Basic sensory methods for food evaluation*. International Development research Centre. Ottawa.
- Wuryatmo, E. (2011). *Application of citral to control postharvest diseases of oranges*. Tese de Doutoramento. School of Agriculture, Food and Wine – Faculty of Sciences. The University of Adelaide. 203 pp.
- Yensen, N. P. (2006). Halophyte uses for the twenty-first century. Em M. A. Khan, D. J. Weber (Eds.). *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*. Tasks for vegetation science – volume 40. Springer.
- Zheng, W.; Wang, S. Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Food Chemistry*, 49: 5165-5170.

# ANEXOS

---

## Anexo I

Inquérito utilizado para a avaliação dos parâmetros sensoriais da planta halófito *Salicornia ramosissima*

**Universidade do Algarve | Mestrado em Tecnologia dos Alimentos**  
**Dissertação de Mestrado - Avaliação do potencial da *Salicornia ramosissima* para saladas frescas ou em pó (Sal Verde)**  
Inquérito para painel de provadores

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_.\_\_\_\_.\_\_\_\_\_

	A	B	C	D	E	F
<b>Aparência</b>	1 Má					
	2 Fraca					
	3 Razoável					
	4 Boa					
	5 Excelente					
<b>Cor</b>	1 Amarelado					
	2 Verde pálido					
	3 Verde claro					
	4 Verde					
	5 Verde escuro					
<b>Sal</b>	1 Muito pouco					
	2 Pouco					
	3 Razoável					
	4 Muito					
	5 Excessivo					
<b>Textura</b>	1 Muito mole					
	2 Mole					
	3 Razoável					
	4 Dura					
	5 Muito dura					
<b>Suculência</b>	1 Má					
	2 Fraca					
	3 Razoável					
	4 Boa					
	5 Excelente					
<b>Sabor</b>	1 Muito desagradável					
	2 Desagradável					
	3 Razoável					
	4 Bom					
	5 Excelente					
<b>Aroma</b>	1 Muito desagradável					
	2 Desagradável					
	3 Razoável					
	4 Bom					
	5 Excelente					

## Anexo II

Tabela comparativa dos valores obtidos para *Salicornia ramosissima* com outros valores de referência de plantas halófitas

	<i>Salicornia ramosissima</i>	<i>Sarcocornia perrenis</i> Sousa (2012)	<i>Salicornia bigevolii torr</i> Lu et al. (2010)	<i>Salicornia herbácea</i> Rhee et al. (2009)	<i>Salicornia bigevolii torr II</i> Attia et al. (1997)	<i>Salicornia</i> CEVA (2011)	<i>Salicornia europeae</i> CEVA (2003)
<b>Clorofila</b>	27,63 ± 4,48	29,95	56,91	---	---	---	---
<b>Carotenóides</b>	0,65 ± 0,9	0,5	15,9	---	---	---	---
<b>Ácido Ascórbico</b>	0,86 ± 0,11	0,68	5,84	---	---	---	---
(unidades)	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>F</sub> )	---	---	---	---

<b>Ferro</b>	19,67 ± 0,0026	35,02	1	66,2	44	4,9	9
<b>Zinco</b>	3,39 ± 0,64	2,12	0,41	29,6	4	0,5	---
<b>Cobre</b>	1,32 ± 0,19	1,12	0,09	1,1	1	0,07	---
<b>Chumbo</b>	0,15 ± 0,023	0,16	0,002	---	---	---	---
<b>Cádmio</b>	0,05 ± 0,01	0,04	0,001	---	---	---	---
(unidades)	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>F</sub> )	mg/100g(P <sub>S</sub> )

<b>Cloro</b>	0,19 ± 0,092	0,082	---	---	---	---	---
<b>Sódio</b>	18,19 ± 0,13	16	1	1,22	3,1	1,02	12,9
<b>Potássio</b>	1,06 ± 0,013	1,11	0,18	0,74	1,32	0,12	1,35
<b>Sulfatos</b>	1,57 ± 0,2	0,93	---	---	---	---	---
<b>Cálcio</b>	0,27 ± 0,009	0,31	0,062	0,16	0,365	0,03	0,38
<b>Fósforo</b>	0,23 ± 0,004	0,22	0,018	---	0,66	0,02	0,25
<b>Azoto</b>	0,23 ± 0,003	0,21	---	---	---	---	---
(unidades)	g/100g(P <sub>S</sub> )	g/100g(P <sub>S</sub> )	g/100g(P <sub>F</sub> )	g/100g(P <sub>S</sub> )	g/100g(P <sub>S</sub> )	g/100g(P <sub>F</sub> )	g/100g(P <sub>S</sub> )

## Anexo III

Artigo publicado relacionado com o tema da Dissertação do Mestrado:

Gago, C., Sousa, AR., Juliao, M., Miguel, G., Antunes., D., Panagopoulos, T. 2011. Refrigeration Needs for Sustainable Preservation of Horticultural Products. 6th International Conference on Energy & Environment, February 23-25, 2011, Cambridge, UK, pp: 53-57. (ISBN: 978-960-474274-5)

Recent Researches in Energy & Environment

### Refrigeration Needs for Sustainable Preservation of Horticultural Products

CUSTÓDIA GAGO, ANA RITA SOUSA, MIRIAM JULIÃO, GRAÇA MIGUEL, DULCE ANTUNES. THOMAS PANAGOPOULOS

Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBV, CIEO, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, PORTUGAL  
e-mail: mantunes@ualg.pt

**Abstract:** Fresh horticultural products are highly perishable and need refrigeration for further preservation. Refrigeration needs energy consumption with consequent economical cost and damage for the environment. The objective of the present work was to use efficiently the refrigeration according to the product needs and time for consumption. *Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis* fresh branch tips, which are used for fresh salads, were stored at 1, 4 and 9 °C for up to 21 days. In both species, fresh tips were of good consumer acceptability for up to 14 days at 9°C. At 1 and 4 °C fresh tips could be stored in good conditions up to 21 days. For efficient use of energy in refrigeration of fresh salicornia and sarcocornia we conclude that if it is to put those products in the market earlier we can use the higher temperature for storage saving energy. Only for further storage we shall use the lower temperatures.

**Key-words:** Food salads, halophytes, refrigeration, sustainability, postharvest technologies, energy efficiency, safe food.

#### 1 Introduction

Food system in our days is built upon refrigeration. For many foods, refrigeration is a feature of almost every stage in the supply chain [6]. Fresh horticultural products are important components of human food. However, those products are highly perishable and losses can be of great importance if postharvest correct measures are not provided [2].

To ensure the highest and appropriate quality of horticultural products availability for consumers, it is very important that all parts involved in the chain from farm to plate (production, packaging, storage, transport, distribution and marketing) do everything correctly [8].

This means correct production, harvest and postharvest practices, so that we can have a high quality product which needs less energy consumption for keeping quality through the marketing chain.

Temperature is the most important factor in maintaining quality after harvest. Refrigeration is the first approach to increase storage life of fresh fruits and vegetables since it reduces respiration and other metabolic processes. Refrigerated storage retards deterioration in perishable crops such as, aging due to ripening, softening, and textural and colour changes; undesirable metabolic changes and respiratory heat production; moisture loss and the wilting that results; spoilage due to invasion by

bacteria, fungi, and yeasts; undesirable growth, such as sprouting of potatoes [3].

However, lower temperature limits depend on product commodities since, for some, chilling injuries that damages product can occur above the freezing point [13].

Sustainable development has been defined as the development which meets the needs of the present without compromising the ability of future generations to gather their own needs [14], and integrates economic, social and environmental factors [2]. Sustainable agriculture is the one that produces enough food without depleting the earth's resources or polluting its environment. It is agriculture that follows the principles of nature to develop systems for raising crops and livestock that are, like nature, self-sustaining [5].

In postharvest, good management of energy saving in refrigeration is also through a good management of pre-cooling and cooling systems and storage rooms insulation. Also, while refrigeration entails the use of energy it can of course also help save energy by reducing food waste [6].

Usually, fresh horticultural products are stored at temperatures as lower as possible without causing chilling or freezing injury, to preserve them for as longer as possible with good acceptable quality. However, some produce is consumed earlier and some later through time after harvest, so refrigeration needs can be reduced accordingly. The

reduction of energy consumption for refrigeration through the supply chain of fresh horticultural products, gives advantages as reducing costs and protecting the environment.

Halophytes are plants which tolerate or even demand sodium chloride concentrations in the soil water they absorb. Commercial use of halophytes as fresh food is not very common in our days, but due to recent global changes desertification enhances the need of irrigation with sub-saline water, which provokes the increase of soil salinization. At the same time, the need for renewable energy production from agricultural crops will extend this use to low quality soils and furthermore, limited fresh water resources may increase the use of low quality irrigation water. Hence, intensified use of salt tolerant crop plants will be necessary even in Europe. Several halophyte species are nowadays used as special crop plants.

The objective of the present research was to find which temperature to apply for storage of two halophytes (*Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis*) which grow naturally in the *Ria Formosa* salt marsh wetland in Algarve, Portugal and are used for fresh salads, according to the time needed in the chain from harvest to consumption. The knowledge on correct temperature for the appropriate storage period of those horticultural products will assist energy efficiency in post-harvest and consequently sustainability.

## 2 Materials and methods

### 2.1 Plant material and treatments

*Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis* plants, which grow naturally in some salt marsh wetland of Algarve, Portugal were harvested in May-June and immediately transported to the Postharvest lab at the University of Algarve.

Tips of 6-8 cm youngest fully expanded branches were separated, washed and stored in polystyrene expanded trays, adequate for food storage, and covered with a 10 µm thick polyethylene film. Then, tips were stored in cold rooms at 1, 4 and 9 °C for 21 days. At 0, 7, 14 and 21 days quality evaluation was performed for each replication (total of 3) and temperature treatment.

### 2.2 Measurements

Weight loss was calculated by weighting always the same samples and expressed as the percentage of the initial weight.

Colour was measured on kiwifruit slices with a Chroma meter CR-300 series (CE Minolta, Japan) and quantified in the CIE L\*, a\*, and b\* colour space. The L\* value indicates lightness (black=0 and white=100), a\* changes from green (negative values) to red (positive values), and b\* from blue (negative values) to yellow (positive values) [9].

### 2.3 Statistical analysis

Statistical analyses were carried out with a SPSS 16.0 computer program (SPSS Inc.). Two-way analyses of variance (ANOVA) tests at ( $P<0.05$ ) for comparisons among treatments over time were conducted.

## 3 Results and discussion

### 3.1. Weight loss

Weight loss was reduced by temperature decrease in both species (Figs. 1A and B).

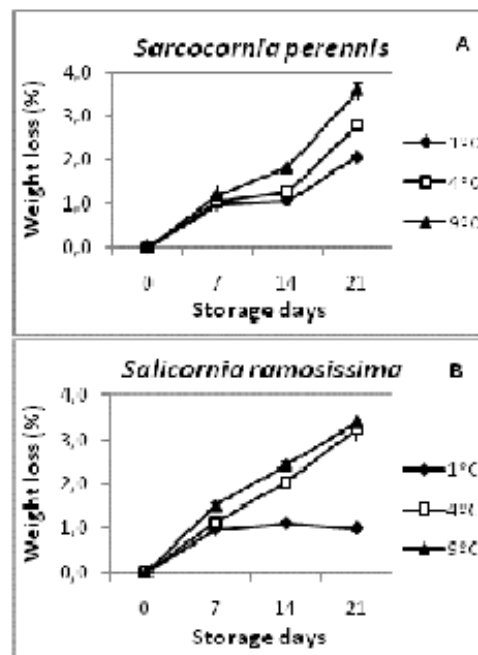


Figure 1. Weight loss of fresh branch tips of *sarcocornia* (A) and *salicornia* (B) stored for 21 days at 1, 4 and 9 °C.

Weight loss is mostly dependent on the relative humidity surrounding the product, but can be also associated with a slight reduction in firmness [1, 7].

Weight loss is of great importance because is associated to shrivelling and advance senescence, making the salad with a not fresh appearance.

In the case of the present work, the weight loss was not of significant importance till 14 days storage at 4 and 9°C for salicornia and till 21 days for sarcocornia at 4°C, since it did not reach 3%. Usually, horticultural products lose their fresh appearance when they have more than 3% weight loss [4].

The fact that the tips of both species were packed in modified atmosphere (MAP) helped to decrease the weight loss, since it is known to be efficient in reducing water loss by fresh horticultural products as well as respiration rate [11]. This fact helped to increase storage life capacity at a given temperature and in addition give protection against pathogen spoilage.

### 3.2. Colour

Colour did not have a significant change through 21 days at 1 and 4 °C for sarcocornia (Figs. 2 A, B C).

Colour at 9 °C, there is an increase in a\* and b\* values and a decrease in L\* being significantly different from treatments at 1 and 4 °C after 21 days storage.

The decrease in L\* and the increase in a\* indicates browning of the tissues [10, 12], as well as b\* increase indicates yellowing [9], indicating loss of freshness. This means that sarcocornia at 9 °C lost freshness mainly from 14 to 21 days.

Salicornia fresh tips followed the same pattern as sarcocornia, but in this case differences in colour parameters after 21 days are higher (Figs. 3 A, B and C). This indicates a higher susceptibility of salicornia to deterioration than of sarcocornia.

### 4. Conclusions

Halophytes grow in saline habitats and are source of food, fibre and bioenergy. Halophytes help combat salinisation, soil erosion, loss of biodiversity and bioproductivity. Halophytic plants, *Salicornia* ssp. and *sarcocornia* are consumed today in Europe as fresh or cooked gourmet foods. Several studies with these species reported their high nutritional content, however, the supply of these plants is limited because of low knowledge on storage. As observed visually and from the data presented, either salicornia or sarcocornia showed a good acceptable quality for consumption up to 21 days at 1 and 4 °C. At 9°C such quality was achieved only till 14 days.

Horticultural products are highly perishable. Reduction of energy consumption for refrigeration in

the chain from farm to consumption, enclose a good knowledge of the management of horticultural products. Preharvest adequate cultural practices are very important to give a quality product which keeps better in postharvest life. In addition, correct harvest measures provide reduction of postharvest losses.

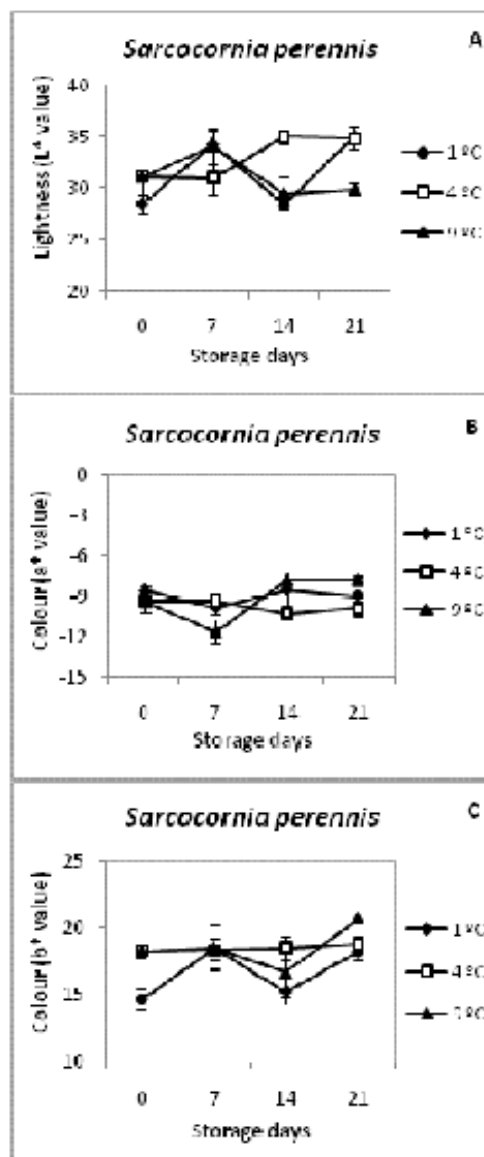


Figure 2. Colour parameters (L\*, a\* and b\*) of fresh branch tips of sarcocornia stored for 21 days at 1, 4 and 9 °C.

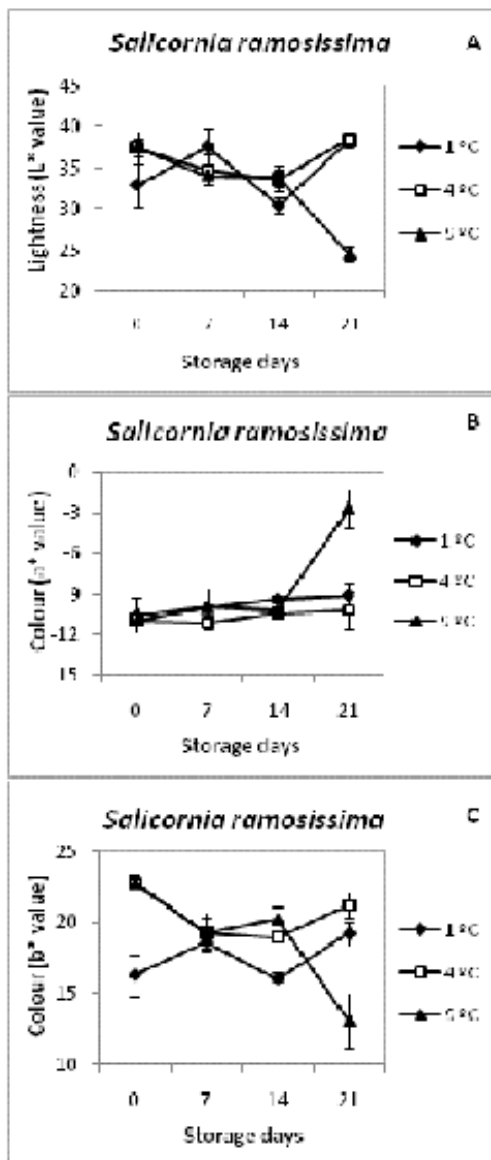


Figure 3. Colour parameters (L\*, a\* and b\*) of fresh branch tips of salicornia stored for 21 days at 1, 4 and 9 °C.

Those technologies as well as good management of energy in refrigeration through good insulation of storage rooms and good management of pre-cooling and cooling systems are of great importance for energy saving and consequently sustainable growth.

Postharvest technologies are of great importance, since some help to keep fruit quality through storage without additional energy consumption [2]. However, they should be applied in such way to avoid negative effects to human health and environment.

Usually, fresh horticultural products are stored at the lowest temperature which keeps them for long period with good quality, and are taken out from cold storage according to the market requirements. However, as it is in the case of the present research, energy saving, and consequently less harm to the environment, can be done by storing fresh horticultural products at higher temperatures in the case they are needed to be put in the market earlier. The products that will be commercialised later, should be the only ones stored at the lower temperatures.

#### Acknowledgments

Acknowledgments are due to Engineer João Pedro Grelha for providing the plants. The authors would like also to thank the support of COST Action FA0901, "Putting Halophytes to Work – From Genes to Ecosystems", Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT) and CIEO, University of Algarve.

#### References

- [1] Antunes, M.D.C. and Sfakiotakis, E.M. The effect of controlled atmosphere and ultra low oxygen on storage ability and quality of 'Hayward' kiwifruit. *Acta Horticulturae*, 444, 1997, 613-618.
- [2] Antunes, M.D.C., Miguel, M.G., Neves, A. Sustainable Postharvest Handling of Horticultural Products. *WSEAS Transactions on Environment and Development*, 3 (6), 2007, 111-116.
- [3] Bachmann J., Earles R.. Postharvest handling of fruits and vegetables. *Appropriate Technology Transfer for Rural Areas*, August 2000, 1-19 <[http://www.ozoneindustries.com.au/images/tech\\_postharvest.pdf](http://www.ozoneindustries.com.au/images/tech_postharvest.pdf)> (accessed on 28/08/2010).
- [4] Ben-Yehoshua, S.. Transpiration, Water Stress, and Gas Exchange. In: *Postharvest Physiology of Vegetables*. J. Weichmann (eds). Marcel Dekker, Inc.. New York and Basel. 1987. pp 113-168.
- [5] Earles, R. Sustainable Agriculture: An Introduction. A publication of ATTRA, the National Sustainable Agriculture Information Service, 2005, 1-8, < <http://attra.ncat.org/attra->

- [pub/PDF/sustagintro.pdf](#)> (accessed on 30/08/2010).
- [6] Garnett T. Food Climate Research Network Centre for Environmental Strategy University of Surrey, A working paper produced as part of the Food Climate Research Network, April 2007, <[http://www.fcrn.org.uk/fcrnPublications/publications/PDFs/Refrigeration\\_paper\\_2007.pdf](http://www.fcrn.org.uk/fcrnPublications/publications/PDFs/Refrigeration_paper_2007.pdf)> (accessed on 28/08/2010).
- [7] Harris, S. and Reid, M.S. Techniques for improving the storage life of kiwifruit (*Actinidia chinensis*). Publication G120, Auckland Industrial Development Division, DSIR, Auckland, New Zealand, 1981.
- [8] Hewett, E.W. Perception of supply chain management for perishable horticultural crops: an introduction. *Acta Horticulturae*, 604, 2003, 37-46.
- [9] McGuire, R. G. Reporting of objective color measurements. *Hortscience*, 27, 1992, 1254-1255.
- [10] Monsalve, G. A., Barbosa, C. G. V., McEvily, A. J., Iyengar, R. Inhibition of enzymatic browning in apple products by 4-hexilresorcinol. American Chemical Society, *Enzymatic Browning and Its Prevention*, 1995, Vol. 600, pp: 240-250.
- [11] Pretel, M.T., Serrano, M., Amoros, A., Romojaro F. Ripening and Ethylene Biosynthesis in Controlled Atmosphere Stored Apricots. *European Food Research Technology*, 209, 1999, 130-134.
- [12] Rocha, A. M. C. N., Morais, A. M. M. B. Shelf-life of minimally processed apple (cv. Jonagored) determined by color changes. *Food Control*, 2003, 14, 13-20.
- [13] Wang, C. Y.. *Chilling Injury of Horticultural Crops*. CRC Press, Florida, 1990.
- [14] WCED. *Our Common Future*. Report of the World Commission on Environment and Development (Brundtland Commission). Oxford University Press, Oxford, 1987.

## Anexo IV

Artigo publicado relacionado com o tema da Dissertação do Mestrado:

Gago, C., Sousa, AR., Juliao, M., Miguel, G., Antunes, D., Panagopoulos, T. (2011) Sustainable use of energy in the storage of halophytes used for food. *International Journal of Energy and Environment*, 5(4): 592-599.

Issue 4, Volume 5, 2011

592

# Sustainable use of energy in the storage of halophytes used for food

Custódia Gago, Ana R. Sousa, Miriam Juliao, Graça Miguel, Dulce C. Antunes and Thomas Panagopoulos

**Abstract**—Soil salinity has become an important issue in agriculture. Water and soil salinity adversely affects the growth and the yield of most crop plants, which are highly salt-sensitive. The idea of grow special crops using saline soil and brackish or saltwater for irrigation can bring high areas into human or animal food production. It has been recognized the potential of some halophytes for desalination of soils or use in salty soils and also its use as food crops. Some of them are consumed today in Europe as fresh or cooked gourmet foods. For consumption as fresh food those plants, which are highly perishable, need refrigeration from harvest till they reach consumers. Refrigeration needs energy consumption with consequent economical cost and damage for the environment. The objective of this work was to use efficiently the energy for preserving the quality of the halophytes *Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis* used for fresh salads. Fresh branch tips were stored at 1, 4 and 9°C for up to 21 days. In both species, fresh tips were of good consumer acceptability for up to 14 days at 9°C. At 1 and 4°C fresh tips could be stored in good conditions up to 21 days. It is concluded from this work that both *Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis* are suitable for consumption as fresh, in salads, replacing the salt. For energy saving, if they are to be in the market for up to 7 days, they can be stored in the higher temperature 9°C with good quality. For longer storage periods temperatures of 4 and 1°C shall be used.

**Keywords**— Energy efficiency, food salads, halophytes, postharvest, refrigeration, sustainability, salty environment.

Manuscript received February 25, 2011; Revised version received March 24, 2011. This work was supported in part by the Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) research project PTDC/AAC-AMB/102173/2008 and from the Centro de Investigação sobre Espaço e Organizações (CIEO).

C. Gago is post-doctoral researcher in the Faculty of Science and Technology, University of Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139, Faro, Portugal.

A.R. Sousa is postgraduate student in the Department of Food Engineering, Superior School of Engineering, University of Algarve, Campus de Penha, 8005-139, Faro, Portugal.

M. Juliao is postgraduate student in the Department of Food Engineering, Superior School of Engineering, University of Algarve, Campus de Penha, 8005-139, Faro, Portugal.

G. Miguel is with Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, IBB, Centro de Biotecnologia Vegetal, Ed. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal; (e-mail: mgmiguel@ualg.pt)

D. Antunes is with the research center IBB-CBV in the Faculty of Science and Technology, University of Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139, Faro, Portugal (e-mail: maantunes@ualg.pt).

T. Panagopoulos is Vice president of the Centre on Spatial Research and Organizations, University of Algarve, 8005-139, Faro, Portugal (corresponding author phone: 351-289800900; e-mail: tpanago@ualg.pt).

## I. INTRODUCTION

SOIL salinity is a serious environmental hazard in land used for agriculture. The long-term conservation and environmental risks of irrigated agriculture should never be neglected in view of the historical associations between irrigation, land degradation, human diseases and other adverse side effects. Salinity is increasingly affecting fresh water and soil, particularly in arid and semi-arid climatic regions. Irrigation has resulted in the accumulation of salt above normal concentrations in the rooting zone of arable land, as high rates of evaporation and transpiration draw soluble salts from deep layers of the soil profile. Also, continuous sea-level rise in a warming world threatens increased salinity in coastal lowlands [1]. Marginal land and saline wasteland are unproductive to be farmed by traditional crops. Some of those areas are naturally saline or have become salinized as a result of bad irrigation practices.

The idea of using halophytes, plants that occur throughout the world, thrive on water with high salt levels, for crop production, have been proposed over the last 30 years [2]. Therefore, different studies and investigations on the selection of halophytic species with economic value and their use on removing nutrients from water effluents of aquaculture and agricultural wastewater and reclaiming salt affected soil in arid-zone irrigation districts, have been conducted [3].

A halophyte is a plant which is capable of surviving in a highly salty environment. An estimated two percent of plant species are halophytic, with the vast majority of plants being glycophytes which will not survive on a salty substrate. Although halophytes make up a very small percentage of the overall plant population, they play a number of important roles in the environment, and they have some potentially useful industrial applications. These plants can survive in a number of environments. Many are designed to grow in salt marshes and estuaries, where there is a high concentration of salty water. Others can live on cliffs and dunes near the ocean, and some are adapted for near-desert environments where water supplies may be limited and highly saline (Figure 1). A halophyte which lives in the desert is typically a succulent, so that it can store water to ensure that it has an ample supply.

Growing special crops using saline soil and brackish or saltwater for irrigation, can bring high areas into human or animal food productions. Halophytes not only offer great

potential as novel crops but are also important models for understanding salt resistance in plants. Recent research has highlighted physiological and molecular aspects of the adaptations of halophytes to salinity and the microbiology and productivity of halophyte-dominated ecosystems.



Fig. 1. Halophytes at their natural habitat in Ria Formosa, Algarve, Portugal

It has been recognized the potential of some halophytes for desalination of soils and also its use as renewable energy crops and as food crops. World reserves of petroleum are being consumed rapidly and expected to exhaust till the end of this century. This scenario has led to the introduction of various renewable energy sources like ethanol supplemented fuel. However, ethanol demands met from sources used for food may cause food shortage.

This necessitates exploiting saline lands to produce non-food ligno-cellulosic biomass which, may be converted into ethanol without compromising human food production. Halophytes which produce plenty of biomass using saline resources (water and soil) may be an important energy supply alternative.

Almost all our modern crops are derived from glycophytes, plants apparently lacking the genetic basis for salt tolerance, and they have received the most research attention. All sides now call for a better understanding of how naturally adapted plants (halophytes) handle salts. Study of halophytes can be instructive from three perspectives. Halophytic plants, including *Salicornia* ssp., *Aster tripolium*, *Atriplex* ssp. and *Inula crithmoides* are consumed today in Europe as fresh or cooked gourmet foods. However, the supply of these plants is limited because there are few cultivated and most of them are harvested from the wild. Their market is presently based mostly on amateur gathering of branches and leaves from wild plants, which limits the market supply because most natural wetlands are protected areas where harvesting is limited or forbidden [4].

Several studies with these species reported their high nutritional content, which includes proteins, carbohydrates,

fiber, calcium, potassium, magnesium, iron, manganese, copper, vitamin C and beta-carotene [5], which made it an ideal nutritional and diet supplement. Also, it has been reported therapeutic applications of *Salicornia* based on scientific research [6] indicating that several types of immunomodulatory polysaccharides originated from were isolated from *Salicornia*, which has been used to treat a variety of diseases including cancers in traditional oriental remedy. Food system in our days is built upon refrigeration. For many foods, refrigeration is a feature of almost every stage in the supply chain [7]. Fresh horticultural products are important components of human food. However, those products are highly perishable and losses can be of great importance if postharvest correct measures are not provided [8].

To ensure the highest and appropriate quality of horticultural products availability for consumers, it is very important that all parts involved in the chain from farm to plate (production, packaging, storage, transport, distribution and marketing) do everything correctly [9].

This means correct production, harvest and postharvest practices, so that we can have a high quality product which needs less energy consumption for keeping quality through the marketing chain.

Temperature is the most important factor in maintaining quality after harvest. Refrigeration is the first approach to increase storage life of fresh fruits and vegetables since it reduces respiration and other metabolic processes. Refrigerated storage retards deterioration in perishable crops such as, aging due to ripening, softening, and textural and colour changes; undesirable metabolic changes and respiratory heat production; moisture loss and the wilting that results; spoilage due to invasion by bacteria, fungi, and yeasts; undesirable growth, such as sprouting of potatoes [10].

However, lower temperature limits depend on product commodities since, for some, chilling injuries that damages product can occur above the freezing point [11].

Sustainable development has been defined as the development which meets the needs of the present without compromising the ability of future generations to gather their own needs [12], and integrates economic, social and environmental factors [8]. Sustainable agriculture is the one that produces enough food without depleting the earth's resources or polluting its environment. It is agriculture that follows the principles of nature to develop systems for raising crops and livestock that are, like nature, self-sustaining [13].

In postharvest, good management of energy saving in refrigeration is also through a good management of pre-cooling and cooling systems and storage chamber insulation. Also, while refrigeration entails the use of energy it can of course also help save energy by reducing food waste [14].

Usually, fresh horticultural products are stored at temperatures as lower as possible without causing chilling or freezing injury, to preserve them for as longer as possible with good acceptable quality. However, some produce is consumed earlier and some later through time after harvest, so

refrigeration needs can be reduced, accordingly. The reduction of energy consumption for refrigeration through the supply chain of fresh horticultural products, gives advantages as reducing costs and protecting the environment.

Halophytes are plants which tolerate or even demand sodium chloride concentrations in the soil water they absorb. Commercial use of halophytes as fresh food is not very common in our days, but due to recent global changes desertification enhances the need of irrigation with sub-saline water, which provokes the increase of soil salinization. At the same time, the need for renewable energy production from agricultural crops will extend this use to low quality soils and furthermore, limited fresh water resources may increase the use of low quality irrigation water. Hence, intensified use of salt tolerant crop plants will be necessary even in Europe. Several halophyte species are nowadays used as special crop plants.

The objective of the present research was to find the suitability for use in salads as substitute of salt and which temperature to apply in storage of two halophytes (*Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis*) which grow naturally in the Ria Formosa salt marsh wetland in Algarve, Portugal, according to the time needed in the chain from harvest to consumption. The knowledge on correct temperature for the appropriate storage period of those halophytes will assist energy efficiency in post-harvest and consequently sustainability as well as, the benefit of using marginal land and saline wasteland, unproductive to be farmed by traditional crops, for halophyte food production.

## II. MATERIALS AND METHODS

### A. Plant material and treatments

The experimental side is located in Ria Formosa wetland. The Ria Formosa extends 60 km along the southern coast of Portugal (the Algarve) covering approximately 18,400 hectares. Consisting of a line of sand dunes, barrier islands and sandy peninsulas, all stretching parallel to the coast, the Ria Formosa is a unique lagoon system in a state of permanent change, due to the continuous movement of winds, currents and tides. Endowed with some exceptional natural and geographical characteristics, this wetland area enjoys a fully justified international reputation as a valuable and privileged habitat for all kinds of fauna and flora. Amongst the vegetation, attention is drawn to the typical marshland plants, adapted here to the excessive salinity of the salt marshes.

*Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis* plants, which grow naturally in the salt marsh wetlands of Algarve were harvested in May-June and immediately transported to the Postharvest lab at the University of Algarve. Tips of 6-8 cm youngest fully expanded branches were separated, washed with tap water and left to dry for about 2 hours at room temperature. Then they were stored in polystyrene expanded trays, adequate for food storage, and covered with a 10  $\mu$ m thick PVC film. After that, trays were stored in cold rooms at

1, 4 and 9 °C for up to 21 days. At 0, 7, 14 and 21 days quality evaluation was performed for each replication (total of 3) and temperature treatment (Fig. 2).

### B. Measurements

Weight loss was calculated by weighting always the same samples and expressed as the percentage of the initial weight.

Colour was measured, over the tips placed in the trays, with a Chroma meter CR-300 series (CE Minolta, Japan) and quantified in the CIE L\*, a\*, and b\* colour space. The L\* value indicates lightness (black=0 and white=100), a\* changes from green (negative values) to red (positive values), and b\* from blue (negative values) to yellow (positive values) [13].

Electrolyte leakage measurements were made as described by [15] with some modifications. Five fresh tips with 5-8 cm, weighing in total 2g, were cut into 3 equal parts and subsequently placed into 20 ml of distilled water. After 6 hours at room temperature the electric conductivity (Ci) of the solution was measured with a conductivity benchtop meter ORION 3 STAR (Thermo electron corporation, USA). After that the solution was frozen and unfrozen twice and measured again the electric conductivity (Ct). Results were expressed as percentage of total conductivity (% electrolyte leakage =  $100 \times Ci/Ct$ ).



Fig. 2. *Salicornia* and *Sarcocornia* tips in polystyrene expanded trays and covered with a 10  $\mu$ m thick polyethylene film.

### C. Statistical analysis

Statistical analyses were carried out with a SPSS 16.0 computer program (SPSS Inc.). Two-way analyses of variance (ANOVA) tests at ( $P < 0.05$ ) for comparisons among treatments over time were conducted.

## III. RESULTS AND DISCUSSION

### A. Weight loss

Weight loss was reduced by temperature decrease in both species (Figs. 3A and B). Till 7 days there were not significant

differences among temperatures. However, after 14 days weight loss was lower at 1 and 4°C than at 9°C in *sarcocornia* (Fig. 3A), while in *salicornia* were higher at 4 and 9°C than at 1°C (Fig. 3B). It is noticeable that at 1°C, *salicornia* maintained lower values of weight loss till 21 days of storage, similar to those of 7 days, in contrast to *sarcocornia* which increased its values from 14 to 21 days at the same temperature.

Weight loss is mostly dependent on the relative humidity surrounding the product, but can be also associated with a slight reduction in firmness [16], [17]. Weight loss is of great importance because is associated with shriveling and advance senescence, making the salad with a not fresh appearance.

In the case of the present work, the weight loss was not of significant importance till 14 days storage at 4 and 9°C for *salicornia* and till 21 days for *sarcocornia* at 4°C, since it did not reach 3%. Usually, horticultural products lose their fresh appearance when they have more than 3% weight loss [18].

The fact that the tips of both species were packed and wrapped with a film that created a modified atmosphere (MAP) helped to decrease the weight loss, since it is known to be efficient in reducing water loss by fresh horticultural products as well as respiration rate [19]. This fact helped to increase storage life capacity at a given temperature and in addition give protection against pathogen spoilage.

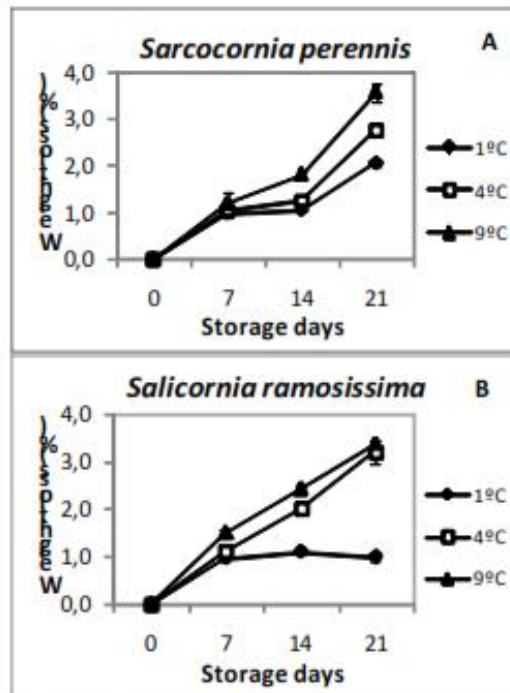


Figure 3. Weight loss of fresh branch tips of *sarcocornia* (A) and *salicornia* (B) stored for 21 days at 1, 4 and 9 °C.

### B. Colour

Colour did not have a significant change through 21 days at 1 and 4 °C for *sarcocornia* (Figs. 3 A, B C). However, at 9 °C, there is an increase in a\* and b\* values becoming slightly higher than at 1 and 4 °C after 21 days storage (Figs. 3 A, B). The decrease in L\* is more pronounced at 9 °C being significantly different from treatments at 1 and 4 °C after 21 days storage, meaning that *sarcocornia* tips become darker (Fig. 4C).

The decrease in L\* and the increase in a\* indicates browning of the tissues [20], [21], as well as b\* increase indicates yellowing [22], indicating loss of freshness. This means that *sarcocornia* at 9 °C lost freshness mainly from 14 to 21 days.

*Salicornia* fresh tips followed the same pattern as *sarcocornia*, but in this case differences in colour parameters after 21 days are higher for a\* and L\* values (Figs. 5 A, B, C). In *salicornia*, from 14 to 21 days storage, the decrease in a\* and the increase in L\* are highly significant, indicating loss of the green colour and darkening of the tips, respectively. This indicates a higher susceptibility of *salicornia* to deterioration than of *sarcocornia* [23].

### C. Electrolyte leakage

*Sarcocornia* fresh tips present an increase in electrolyte leakage from harvest to 21 days of storage for all storage temperatures (Fig. 6A). Electrolyte leakage was significantly higher at 9 and 4°C than at 1°C. However, after 21 days there were significant differences among all temperatures being the higher electrolyte leakage values for the higher temperatures.

*Salicornia* fresh tips behaved quite differently showing no significant changes and differences among temperatures and storage time for up to 14 days (Fig. 6B). However, after 21 days of storage, *salicornia* tips at 1°C had significantly lower electrolyte leakage than the other temperatures.

Electrolyte leakage refers to membrane permeability which, in fruit such as kiwifruit, usually increases as temperature decreases as a response to chilling stress [15]. Also, electrolyte leakage can be considered an indirect measure of symptoms of fruit senescence stage [16]. In leaves of *Egeria densa* Planchon sulfhydryl-binding reagents induce a temporary increase in nonmitochondrial respiration ( $\Delta QO_2$ ) that is inhibited by diphenylene iodonium and quinacrine, two known inhibitors of the plasma membrane NADPH oxidase, and are associated with a relevant increase in electrolyte leakage [24].

In the present work it seems that *sarcocornia* is more susceptible to membrane leakage than *salicornia*. This is visible by higher values of electrolyte leakage at higher temperature and at the end of storage.

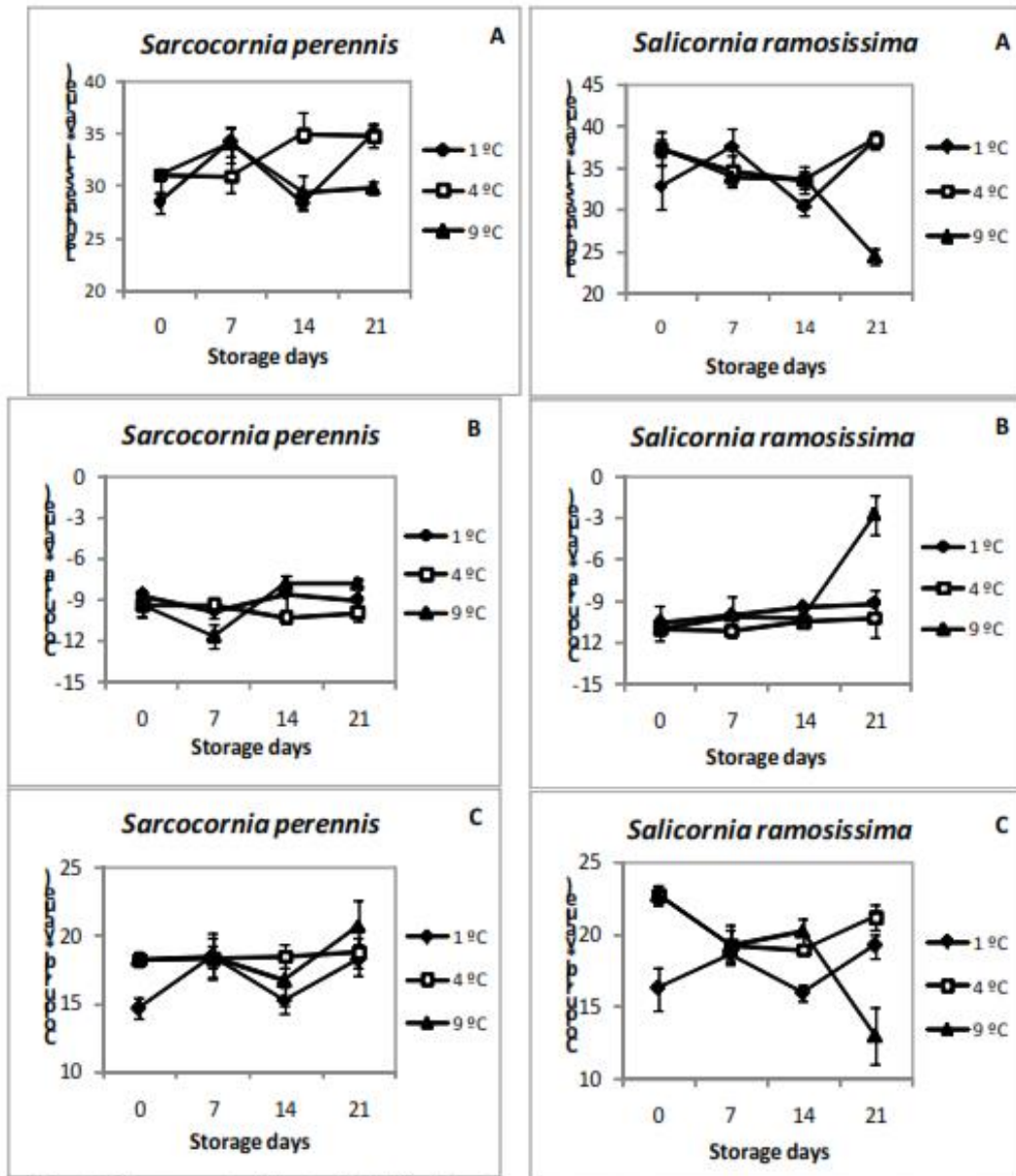


Figure 4. Colour parameters (L\*, a\* and b\*) of fresh branch tips of *sarcocornia* stored for 21 days at 1, 4 and 9 °C.

Figure 5. Colour parameters (L\*, a\* and b\*) of fresh branch tips of *salicornia* stored for 21 days at 1, 4 and 9 °C.

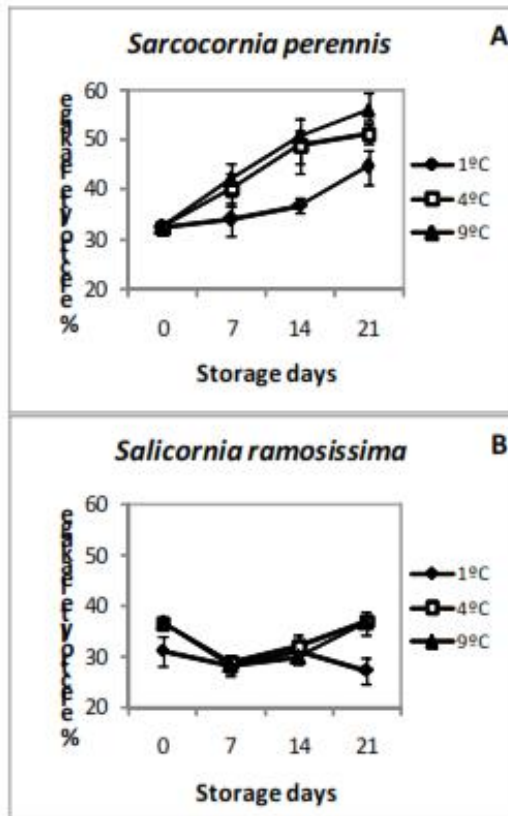


Figure 6. Electrolyte leakage of fresh branch tips of sarcocornia (A) and salicornia (B) stored for 21 days at 1, 4 and 9 °C.

#### IV. CONCLUSIONS

Halophytes grow in saline habitats can be good source of food, fibre and bioenergy. Halophytes help combat salinisation, soil erosion, loss of biodiversity and bioproductivity. With the ever-increasing population and the need for increased crop production, the non-productive salt-affected lands have to be used for producing non-conventional crops of high economic value. Many halophytes combine high biomass and high protein or mineral levels with outstanding ability to a wide range of environmental stresses [25].

Halophytic plants, such as *Salicornia* ssp. and *sarcocornia* are consumed today in Europe as fresh or cooked gourmet foods. Several studies with many halophyte species reported their high nutritional content. However, the supply of these plants is limited because of low knowledge on their cultivation and postharvest handling and storage. As observed visually and from the data presented, either *Salicornia ramosissima* or

*Sarcocornia perennis* showed a good acceptable quality for consumption up to 21 days at 1 and 4°C. At 9°C such quality was achieved only till 14 days (Fig. 7).

*Salicornia* keeps better through storage than *sarcocornia*. Fresh horticultural products are highly perishable. Reduction of energy consumption for refrigeration in the chain from farm to consumption, enclose a good knowledge of the management of horticultural products. Preharvest adequate cultural practices are very important to give a quality product which keeps better in postharvest life. In addition, correct harvest measures provide reduction of postharvest losses.



Fig. 7. *Salicornia ramosissima* and *Sarcocornia perennis* tips after storage.

Those technologies as well as good management of energy in refrigeration through good insulation of storage rooms and good management of pre-cooling and cooling systems are of great importance for energy saving and consequently sustainable growth.

Postharvest technologies are of great importance, since some help to keep fruit quality through storage without additional energy consumption [8]. However, they should be applied in such way to avoid negative effects to human health and environment.

He is a faculty member at the Algarve University, Portugal where he has been Landscape Architecture Degree Director, and presently coordinating research works on landscape management and reclamation. He is Vice-president and co-founder of the Research Centre of Spatial and Organizational Dynamics (CIEO) with 65 PhD members. He is member of the Executive Committee of the CIEO and group leader of the Spatial Organization and Sustainability. He is Invited Academic Lecturer in various Universities and Research Organizations like: Michigan State University USA, Huelva University Spain, Aristotle University Greece. Is Fellow of the International Union of Forest Research Organization (IUFRO), of the World Association of Soil & Water Conservation (WASWC), of the Research Network Minesite Reclamation (ReNet) and the Global Network for Environmental Science and Technology (GlobalNEST), the WSEAS (The World Scientific and Engineering Academy and Society). He is at the editorial board of various national and international scientific journals and member of the UNISCAPE (the European Network of Universities for the implementation of the European Landscape Convention).

## Anexo V

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tempo 1 (0 dias)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	18
Tempo	1	18
Temperatura	1	9
	2	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
	6	3

L		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	34,6967
6	3	34,6967
1	3	37,3800
4	3	37,3800
2	3	38,7000
5	3	38,7000
Sig.		0,332

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 19.409.

a			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
2	3	-13,0867	
5	3	-13,0867	
1	3		-10,9867
4	3		-10,9867
3	3		-10,4333
6	3		-10,4333
Sig.		1,000	0,561

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.103.

b		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	19,0367
6	3	19,0367
1	3	22,7533
4	3	22,7533
2	3	23,7367
5	3	23,7367
Sig.		0,079

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.332.

C		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	21,7187
6	3	21,7187
1	3	25,2675
4	3	25,2675
2	3	27,1067
5	3	27,1067
Sig.		0,059
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.156.		

H			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	115,7589	
4	3	115,7589	
2	3		118,8972
5	3		118,8972
3	3		119,0177
6	3		119,0177
Sig.		1,000	0,924
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.969.			

Perda de Eletrólitos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	37,8057	
4	3	37,8057	
2	3		48,9677
5	3		48,9677
3	3		49,0677
6	3		49,0677
Sig.		1,000	0,981
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .22.279.			

AA TEAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
1	3	1896,1720		
4	3	1896,1720		
2	3		3684,7331	
5	3		3684,7331	
3	3			6195,8437
6	3			6195,8437
Sig.		1,000	1,000	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 29875.519.				

AA ORAC		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	1518,9305
5	3	1518,9305
1	3	1597,6063
4	3	1597,6063
3	3	1739,8729
6	3	1739,8729
Sig.		0,653
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 287190.786.		

Fenóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	24,5708	
4	3	24,5708	
3	3		37,1909
6	3		37,1909
2	3		39,5600
5	3		39,5600
Sig.		1,000	0,644
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 32.296.			

Ácidos Hidroxicinâmicos		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	5,0503
6	3	5,0503
1	3	5,3138
4	3	5,3138
2	3	5,8869
5	3	5,8869
Sig.		0,375

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.024.

Flavonóis		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	4,7923
6	3	4,7923
1	3	5,1363
4	3	5,1363
2	3	5,4077
5	3	5,4077
Sig.		0,345

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .485.

Fenóis Totais		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	19,1466
4	3	19,1466
3	3	19,4283
6	3	19,4283
2	3	20,6049
5	3	20,6049
Sig.		0,308

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.318.

Leveduras			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	0,8844	
6	3	0,8844	
2	3	2,5998	2,5998
5	3	2,5998	2,5998
1	3		2,8220
4	3		2,8220
Sig.		0,055	0,789

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .849.

**Anexo VI**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tempo 2 (7 dias)

<b>Between-Subjects Factors</b>		
		<b>N</b>
Ensaio	1	18
Tempo	2	18
Temperatura	1	9
	2	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
	6	3

<b>L</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
6	3	32,2133
4	3	34,0033
2	3	34,3167
3	3	34,3333
1	3	34,6800
5	3	35,6133
Sig.		0,239

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 9.294.

<b>a</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	-11,2667
1	3	-11,1200
5	3	-10,4200
6	3	-10,3433
4	3	-10,0300
3	3	-9,4667
Sig.		0,059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .914.

<b>b</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	19,2600
1	3	19,3033
6	3	19,3400
3	3	20,8767
2	3	22,3367
5	3	23,6833
Sig.		0,075

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.325.

Perda de Peso				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
3	3	0,9468		
1	3	1,1165		
2	3	1,1528		
4	3		1,5064	
6	3		1,6384	1,6384
5	3			1,7905
Sig.		0,086	0,233	0,173

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .017.

Hue			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
5	3	113,9105	
3	3	114,5409	
2	3	116,9134	116,9134
4	3	117,5991	117,5991
6	3	118,1111	118,1111
1	3		120,0567
Sig.		0,101	0,202

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.010.

AA ORAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
6	3	444,3463	
5	3	496,1875	
1	3	665,5346	
4	3	721,6308	
2	3		1647,1863
3	3		2051,5025
Sig.		0,3	0,114

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 84512.630.

Perda de Eletrólitos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	27,3110	
4	3	28,1159	
3	3	30,7934	30,7934
2	3	34,3599	34,3599
5	3		36,9260
6	3		38,0560
Sig.		0,062	0,056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 15.224.

AA TEAC					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	736,4638			
4	3	1222,2112	1222,2112		
6	3		1640,9585		
5	3		1759,2746		
2	3			2932,1243	
3	3				4102,3963
Sig.		0,156	0,137	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 154818.810.

C		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	21,7233
6	3	21,9328
1	3	22,2835
3	3	22,9665
2	3	25,0450
5	3	25,8903
Sig.		0,085

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.018.

Leveduras				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
1	3	3,1170		
3	3	3,4458		
2	3		3,9154	
4	3		4,2590	
5	3			4,8513
6	3			5,0209
Sig.		0,145	0,13	0,438
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .067.				

Ácidos Hidroxicinâmicos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
6	3	2,6556		
4	3	2,9825		
5	3	3,0948		
1	3		4,6744	
2	3			5,8178
3	3			6,7365
Sig.		0,393	1,000	0,075
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .333.				

Flavonóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
6	3	3,5445		
5	3	4,2714	4,2714	
4	3	4,3780	4,3780	
1	3		4,9352	4,9352
2	3		5,3422	5,3422
3	3			6,0981
Sig.		0,17	0,092	0,064
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .444.				

Fenóis Totais			
Duncan			
tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	8,6102	
4	3	12,8355	12,8355
2	3	14,0585	14,0585
6	3		14,7966
5	3		16,4760
3	3		18,8649
Sig.		0,068	0,055
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 10.114.			

Fenóis					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	20,9042			
6	3	22,4147	22,4147		
4	3	25,1453	25,1453	25,1453	
5	3		27,1852	27,1852	
2	3			28,1341	
3	3				35,3641
Sig.		0,078	0,051	0,201	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.636.					

## Anexo VII

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tempo 3 (14 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Ensaio	1	18
Tempo	3	18
Temperatura	1	9
	2	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
	6	3

L			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
5	3	30,4467	
1	3	33,6033	33,6033
4	3	33,6633	33,6633
6	3		35,2900
2	3		35,6033
3	3		36,1400
Sig.		0,073	0,164
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.667.			

a		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	-10,6533
1	3	-10,4633
4	3	-10,2400
2	3	-9,2167
6	3	-8,9700
5	3	-8,7500
Sig.		0,068
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.104.		

b			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
5	3	17,6733	
1	3	18,9633	18,9633
2	3	19,4067	19,4067
6	3		19,8700
4	3		20,0333
3	3		20,3867
Sig.		0,087	0,168
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.181.			

<b>C</b>			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
5	3	19,7295	
2	3	21,5050	21,5050
1	3	21,6610	21,6610
6	3		21,8382
4	3		22,5189
3	3		23,0160
Sig.		0,057	0,142

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.155.

<b>Perda de Eletrólitos</b>			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	29,8103	
1	3	32,1425	
3	3	37,0820	
2	3	38,7019	
6	3		48,8538
5	3		54,8392
Sig.		0,064	0,165

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 24.629.

<b>Perda de Peso</b>					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	2,0215			
3	3	2,0367			
2	3	2,1637	2,1637		
4	3		2,3517		
6	3			2,7876	
5	3				3,0784
Sig.		0,325	0,179	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .026.

<b>Hue</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
6	3	114,2083
2	3	115,3497
5	3	116,3026
4	3	117,1889
3	3	117,6576
1	3	118,8698
Sig.		0,09

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.815.

<b>AA ORAC</b>			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	891,7530	
2	3	969,6964	
6	3	1022,1417	
3	3	1111,7491	1111,7491
5	3	1129,8866	1129,8866
4	3		1421,6949
Sig.		0,208	0,096

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 40186.384.

<b>AA TEAC</b>			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	868,3302	
5	3	1191,7573	1191,7573
6	3		1579,2378
3	3		1592,7461
4	3		1610,6229
2	3		1689,4030
Sig.		0,16	0,057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 69837.476.

Fenóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	26,3460		
3	3	32,6658	32,6658	
4	3	36,1968	36,1968	
6	3		37,1457	
2	3			47,6292
1	3			50,7406
Sig.		0,064	0,373	0,512

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 31.852.

Ácidos Hidroxicinâmicos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	2,9422		
1	3	3,7298	3,7298	
6	3	4,1834	4,1834	4,1834
3	3		5,0776	5,0776
4	3		5,5730	5,5730
2	3			6,0669
Sig.		0,175	0,058	,054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.007.

Flavonóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	2,9752		
6	3	4,0872	4,0872	
1	3		4,7220	4,7220
3	3		5,0515	5,0515
4	3		5,6427	5,6427
2	3			6,1975
Sig.		0,147	0,067	0,08

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .770.

Fenóis Totais				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	9,4624		
4	3		13,0494	
6	3		13,1350	
1	3		13,4167	
3	3		15,3813	15,3813
2	3			17,6954
Sig.		1,000	0,145	0,121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.888.

Leveduras					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
3	3	3,8191			
1	3	3,9224			
4	3		4,4999		
2	3			5,1141	
6	3				5,9628
5	3				6,1091
Sig.		0,649	1,000	1,000	0,521

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .073.

## Anexo VIII

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tempo 4 (21 dias)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	18
Tempo	4	18
Temperatura	1	9
	2	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
	6	3

L			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
6	3	22,1867	
5	3	22,9700	
4	3	24,5067	
3	3		33,7567
2	3		36,4967
1	3		38,5333
Sig.		0,373	0,08

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.516.

a			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	-10,2067	
2	3	-8,6700	
3	3	-8,6467	
4	3		-2,7200
5	3		-1,4933
6	3		0,1600
Sig.		0,302	0,069

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.844.

b			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
6	3	8,8533	
5	3	9,7033	
4	3	13,0300	
3	3		18,6633
2	3		19,2567
1	3		21,2433
Sig.		0,058	0,221

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.423.

C				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
6	3	8,8560		
5	3	9,8224	9,8224	
4	3		13,4036	
3	3			20,5955
2	3			21,1685
1	3			23,6411
Sig.		0,636	0,097	0,171

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = 5.956.

Perda de Peso			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	3,1386	
1	3	3,2179	
2	3	3,3552	
4	3	3,3675	
5	3		4,4095
6	3		4,4325
Sig.		0,324	0,913

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = .064.

H				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
6	3	88,9404		
5	3		99,2123	
4	3		100,1022	
2	3			114,2843
3	3			114,7898
1	3			115,5460
Sig.		1,000	0,834	0,778

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 26.029.

Perda de Eletrólitos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	0,0000		
6	3	0,0000		
4	3		34,1154	
1	3		39,9364	
2	3			48,6717
3	3			50,7513
Sig.		1,000	0,102	0,538

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 16.164.

AA TEAC					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
5	3	0,0000			
6	3	0,0000			
1	3		715,8316		
4	3		715,8316		
2	3			1084,8257	
3	3				2122,0211
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 29875.519.

AA ORAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	0,0000		
6	3	0,0000		
4	3	237,2489	237,2489	
1	3		433,0886	
2	3		447,7835	
3	3			1178,6541
Sig.		0,066	0,098	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 18759.726.

Fenóis					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
5	3	.0000			
6	3	.0000			
4	3		20,7557		
1	3			27,5919	
2	3			28,6441	
3	3				47,9519
Sig.		1,000	1,000	0,671	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = 8.777.

Ácidos Hidroxicinâmicos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	0,0000		
6	3	0,0000		
4	3		2,7967	
1	3		3,5383	
2	3		3,7313	3,7313
3	3			4,6528
Sig.		1,000	0,085	0,076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .337.

Flavonóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	0,0000		
6	3	0,0000		
1	3		2,6626	
2	3		2,9073	
4	3		3,3483	3,3483
3	3			4,3925
Sig.		1,000	0,2	0,051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .348.

Fenóis Totais					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
5	3	0,0000			
6	3	0,0000			
4	3		8,6637		
1	3			11,5305	
2	3			12,4468	
3	3				16,3975
Sig.		1,000	1,000	0,464	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.202.

Leveduras					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
5	3	0,0000			
6	3	0,0000			
1	3		4,1869		
4	3		4,5804		
3	3			5,4587	
2	3				6,0352
Sig.		1,000	0,138	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .092.

## Anexo IX

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tratamento 1 (4 °C – controlo)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	12
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	1	12
Tratamento	1	12

a		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	-11,1200
1	3	-10,9867
3	3	-10,4633
4	3	-10,2067
Sig.		0,460

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.852.

H		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	115,5460
1	3	115,7589
3	3	118,8698
2	3	120,0567
Sig.		0,118

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.792.

L		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	33,6033
2	3	34,6800
1	3	37,3800
4	3	38,5333
Sig.		0,081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.097.

b			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	18,9633	
2	3	19,3033	
4	3	21,2433	21,2433
1	3		22,7533
Sig.		0,12	0

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.375.

C			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	21,6610	
2	3	22,2835	22,2835
4	3	23,6411	23,6411
1	3		25,2675
Sig.		0,2	0

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.778.

Perda de Peso					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	0,0000			
2	3		1,1165		
3	3			2,0215	
4	3				3,2179
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = .065.

AA TEAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	715,8316	
2	3	736,4638	
3	3	868,3302	
1	3		1896,1720
Sig.		0,282	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 24103.445.

Perda de Eletrólitos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
2	3	27,3110		
3	3	32,1425	32,1425	
1	3		37,8057	37,8057
4	3			39,9364
Sig.		0,138	0	0,488

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = 12.911.

AA ORAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	433,0886	
2	3	665,5346	
3	3	891,7530	
1	3		1597,6063
Sig.		0	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 69881.806.

Fenóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
2	3	20,9042	
1	3	24,5708	
4	3	27,5919	
3	3		50,7406
Sig.		0,127	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 21.263.

Ácidos Hidroxicinâmicos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	3,5383	
3	3	3,7298	3,7298
2	3	4,6744	4,6744
1	3		5,3138
Sig.		0,154	0,059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .719.

Flavonóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	2,6626	
3	3		4,7220
2	3		4,9352
1	3		5,1363
Sig.		1,0000	0,4630

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .398.

Fenóis Totais				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
2	3	8,6102		
4	3		11,5305	
3	3		13,4167	
1	3			19,1466
Sig.		1,0000	0,138	1,0000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.966.

Leveduras			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	2,8220	
2	3	3,1170	
3	3		3,9224
4	3		4,1869
Sig.		0,355	0,404

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .135.

## Anexo X

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tratamento 2 (4 °C – Nature Seal)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	12
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	1	12
Tratamento	2	12

L		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	34,3167
3	3	35,6033
4	3	36,4967
1	3	38,7000
Sig.		0,098

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.235.

a				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
1	3	-13,0867		
2	3	-11,2667	-11,2667	
3	3		-9,2167	-9,2167
4	3			-8,6700
Sig.		0,087	0,060	0,575

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.310.

b			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	19,2567	
3	3	19,4067	
2	3	22,3367	22,3367
1	3		23,7367
Sig.		0,065	0,340

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.860.

c			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	21,1685	
3	3	21,5050	
2	3		25,0450
1	3		27,1067
Sig.		0,800	0,148

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.486.

H		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	114,2843
3	3	115,3497
2	3	116,9134
1	3	118,8972
Sig.		0,148

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 11.002.

Perda de Peso					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	0,0000			
2	3		1,1528		
3	3			2,1637	
4	3				3,3552
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .006.

Perda de Eletrólitos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
2	3	34,3599	
3	3	38,7019	38,7019
4	3		48,6717
1	3		48,9677
Sig.		0,355	0

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 29.310.

AA TEAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	1084,8257		
3	3	1689,4030		
2	3		2932,1243	
1	3			3684,7331
Sig.		0,093	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 151275.424.

Fenóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
2	3	28,1341	
4	3	28,6441	
1	3		39,5600
3	3		47,6292
Sig.		0,909	0,100

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 28.226.

AA ORAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	447,7835		
3	3	969,6964	969,6964	
1	3		1518,9305	1518,9305
2	3			1647,1863
Sig.		0,081	0,069	0,637

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 102743.606.

Ácidos Hidroxicinâmicos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	37,3130	
2	3		5,8178
1	3		5,8869
3	3		6,0669
Sig.		1,000	0,748

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .777.

<b>Flavonóis</b>			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	2,9073	
2	3		5,3422
1	3		5,4077
3	3		6,1975
Sig.		1,000	0,213

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .552.

<b>Fenóis Totais</b>				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	12,4468		
2	3	14,0585	14,0585	
3	3		17,6954	17,6954
1	3			20,6049
Sig.		0	0,087	0

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.220.

<b>Leveduras</b>					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	2,5998			
2	3		3,9154		
3	3			5,1141	
4	3				6,0352
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .083.

## Anexo XI

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tratamento 3 (4 °C – Nature+Citral)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	12
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	1	12
Tratamento	3	12

L		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	33,7567
2	3	34,3333
1	3	34,6967
3	3	36,1400
Sig.		0,480

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 13.816.

a		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	-10,6533
1	3	-10,4333
2	3	-9,4667
4	3	-8,6467
Sig.		0,123

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.789.

b		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	18,6633
1	3	19,0367
3	3	20,3867
2	3	20,8767
Sig.		0,362

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.000.

C		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	20,5955
1	3	21,7187
2	3	22,9665
3	3	23,0160
Sig.		0,329

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.224.

H		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	114,5409
4	3	114,7898
3	3	117,6576
1	3	119,0177
Sig.		0,149

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 10.402.

Perda de Peso					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	0,0000			
2	3		0,9468		
3	3			2,0367	
4	3				3,1386
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .003.

Perda de Eletrólitos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
2	3	30,7934	
3	3	37,0820	
1	3		49,0677
4	3		50,7513
Sig.		0,161	0,690

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 24.796.

AA TEAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
3	3	1592,7461		
4	3	2122,0211		
2	3		4102,3963	
1	3			6195,8437
Sig.		0,208	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 223822.153.

AA ORAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	1111,7491	
4	3	1178,6541	
1	3	1739,8729	1739,8729
2	3		2051,5025
Sig.		0,129	0,407

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 190378.677.

Fenóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	32,6658	
2	3	35,3641	
1	3	37,1909	
4	3		47,9519
Sig.		0,131	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 9.972.

Ácidos Hidroxicinâmicos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	4,6528	
1	3	5,0503	
3	3	5,0776	
2	3		6,7365
Sig.		0,525	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .564.

Flavonóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	4,3925	
1	3	4,7923	4,7923
3	3	5,0515	5,0515
2	3		6,0981
Sig.		0,337	0,078
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .576.			

Fenóis Totais		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	15,3813
4	3	16,3975
2	3	18,8649
1	3	19,4283
Sig.		0,066
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.799.		

Leveduras				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
1	3	0,8844		
2	3		3,4458	
3	3		3,8191	
4	3			5,4587
Sig.		1,000	0,569	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .592.				

## Anexo XII

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tratamento 4 (9 °C – controlo)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	12
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	2	12
Tratamento	4	12

L			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	24,5067	
3	3		33,6633
2	3		34,0033
1	3		37,3800
Sig.		1,000	0,118

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.229.

a			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	-10,9867	
3	3	-10,2400	
2	3	-10,0300	
4	3		-2,7200
Sig.		0,425	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.787.

b			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	13,0300	
2	3		19,2600
3	3		20,0333
1	3		22,7533
Sig.		1,000	0,104

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.019.

C			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	13,4036	
2	3		21,7233
3	3		22,5189
1	3		25,2675
Sig.		1,000	0,111

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.394.

H			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	100,1022	
1	3		115,7589
3	3		117,1889
2	3		117,5991
Sig.		1,000	0,672

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 24.195.

Perda de Peso					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	0,0000			
2	3		1,5064		
3	3			2,3517	
4	3				3,3675
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .011.

AA ORAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	237,2489	
2	3	721,6308	
3	3		1421,6949
1	3		1597,6063
Sig.		0,088	0,500

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 92945.874.

Perda de Eletrólitos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
2	3	28,1159		
3	3	29,8103	29,8103	
4	3		34,1154	34,1154
1	3			37,8057
Sig.		0,506	0,115	0,168

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.871.

Fenóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	20,7557	
1	3	24,5708	
2	3	25,1453	
3	3		36,1968
Sig.		0,252	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 17.417.

AA TEAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	715,8316		
2	3		1222,2112	
3	3		1610,6229	1610,6229
1	3			1896,1720
Sig.		1,000	0,097	0,205

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 64285.749.

Ácidos Hidroxicinâmicos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	2,7967		
2	3	2,9825	2,9825	
1	3		5,3138	5,3138
3	3			5,5730
Sig.		0,859	0,050	0,804
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.539.				

Flavonóis			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	3,3483	
2	3	4,3780	4,3780
1	3	5,1363	5,1363
3	3		5,6427
Sig.		0,083	0,199
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.127.			

Fenóis Totais				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	8,6637		
2	3		12,8355	
3	3		13,0494	
1	3			19,1466
Sig.		1,000	0,848	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.745.				

Leveduras			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	2,8220	
2	3		4,2590
3	3		4,4999
4	3		4,5804
Sig.		1,000	0,401
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .181.			

**Anexo XIII**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tratamento 5 (9 °C – Nature Seal)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	12
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	2	12
Tratamento	5	12

L				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	22,9700		
3	3		30,4467	
2	3		35,6133	35,6133
1	3			38,7000
Sig.		1,000	0,074	0,255

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 9.495.

b				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	9,7033		
3	3		17,6733	
2	3			23,6833
1	3			23,7367
Sig.		1,000	1,000	0,981

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.397.

C				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	9,8224		
3	3		19,7295	
2	3			25,8903
1	3			27,1067
Sig.		1,000	1,000	0,600

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.442.

a					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	-13,0867			
2	3		-10,4200		
3	3			-8,7500	
4	3				-14,9330
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .552.

H				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	99,2123		
2	3		113,9105	
3	3		116,3026	116,3026
1	3			118,8972
Sig.		1,000	0,173	0,143

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.831.

Perda de Peso					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	0,0000			
2	3		1,7905		
3	3			3,0784	
4	3				4,4095
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .004.

Perda de Eletrólitos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
2	3		36,9260	
1	3			48,9677
3	3			54,8392
Sig.		1,000	1,000	0,109

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 15.874.

AA TEAC					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
4	3	0,0000			
3	3		1191,7573		
2	3			1759,2746	
1	3				3684,7331
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 223822.153.

AA ORAC					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
4	3	0,0000			
2	3		496,1875		
3	3			1129,8866	
1	3				1518,9305
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 32796.839.

Fenóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
3	3		26,3460	
2	3		27,1852	
1	3			39,5600
Sig.		1,000	0,802	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 15.799.

Flavonóis					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
4	3	0,0000			
3	3		2,9752		
2	3			4,2714	
1	3				5,4077
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .085.

Ácidos Hidroxicinâmicos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
3	3		2,9422	
2	3		3,0948	
1	3			5,8869
Sig.		1,000	0,702	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .223.

Fenóis Totais					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
4	3	0,0000			
3	3		9,4624		
2	3			16,4760	
1	3				20,6049
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.245.

Leveduras					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
4	3	0,0000			
1	3		2,5998		
2	3			4,8513	
3	3				6,1091
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .034.

**Anexo XIV**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 1 | Tratamento 6 (9 °C – Nature+Citral)

Between-Subjects Factors		
Ensaio	1	12
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	2	12
Tratamento	6	12

L			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	22,1867	
2	3		32,2133
1	3		346,9670
3	3		35,2900
Sig.		1,000	0,399

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 16.457.

a			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	-10,4333	
2	3	-10,3433	
3	3	-8,9700	
4	3		0,1600
Sig.		0,219	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.658.

b			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	8,8533	
1	3		19,0367
2	3		19,3400
3	3		19,8700
Sig.		1,000	0,693

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.742.

C			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	8,8560	
1	3		21,7187
3	3		21,8382
2	3		21,9328
Sig.		1,000	0,924

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.601.

H			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	88,9404	
3	3		114,2083
2	3		118,1111
1	3		119,0177
Sig.		1,000	0,050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.013.

Perda de Peso					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	0,0000			
2	3		1,6384		
3	3			2,7876	
4	3				4,4325
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .071.

Perda de Eletrólitos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	.0000		
2	3		38,0560	
3	3			48,8538
1	3			49,0677
Sig.		1,000	1,000	.960

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 25.684.

AA TEAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
3	3		1579,2378	
2	3		1640,9585	
1	3			6195,8437
Sig.		1,000	0,839	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 129050.742.

AA ORAC				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
2	3	444,3463	444,3463	
3	3		1022,1417	1022,1417
1	3			1739,8729
Sig.		207,000	0,112	0,057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 157227.488.

Fenóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
2	3		22,4147	
3	3			37,1457
1	3			37,1909
Sig.		1,000	1,000	0,992

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 26.664.

Ácidos Hidroxicinâmicos				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
2	3		2,6556	
3	3			4,1834
1	3			5,0503
Sig.		1,000	1,000	0,058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .231.

Flavonóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
2	3		3,5445	
3	3		4,0872	4,0872
1	3			4,7923
Sig.		1,000	0,282	0,172

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .332.

Fenóis Totais				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
4	3	0,0000		
3	3		13,1350	
2	3		14,7966	14,7966
1	3			19,4283
Sig.		1,000	0,500	0,085

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.309.

Leveduras			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	0,0000	
1	3	0,8440	
2	3		5,0209
3	3		5,9628
Sig.		0,198	0,173

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .596.

## Anexo XV

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tempo 1 (0 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	1	18
Temperatura	3	9
	4	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
	6	3

L		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
5	3	32,4433
4	3	32,6500
1	3	32,8800
3	3	36,2633
6	3	36,3933
2	3	37,4067
Sig.		,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 9.157.

a		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	-11,6033
2	3	-11,5367
6	3	-10,6533
1	3	-10,5700
5	3	-9,9067
4	3	-9,9033
Sig.		,127

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.315.

b			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	16,0933	
4	3	17,6067	17,6067
5	3	18,0333	18,0333
3	3	18,6433	18,6433
6	3	19,1467	19,1467
2	3		20,0833
Sig.		,080	,146

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.182.

c		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	19,2601
4	3	20,2027
5	3	20,5793
6	3	21,9179
3	3	21,9610
2	3	23,1700
Sig.		,056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.179.

Hue				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	118,7099		
6	3	119,0986	119,0986	
4	3	119,3533	119,3533	
2	3	119,9899	119,9899	
3	3		121,9303	121,9303
1	3			123,2208
Sig.		,352	,053	,313

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.255.

Perda de Eletrólitos			AA TEAC				
Duncan			Duncan				
Tratamento	N	Subset		Tratament o	N	Subset	
		1				1	2
2	3	26,6698		1	3	346,4529	
5	3	26,6698		4	3	346,4529	
1	3	34,0074		3	3	532,9653	532,9653
4	3	34,0074		6	3	532,9653	532,9653
3	3	34,1687		2	3		603,8298
6	3	34,1687		5	3		603,8298
Sig.		,166		Sig.		,122	,540
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 31.816.			Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 16251.897.				

AA ORAC			Fenóis				
Duncan			Duncan				
Tratamento	N	Subset		Tratament o	N	Subset	
		1				1	2
3	3	130,3486		2	3	26,3912	
6	3	130,3486		5	3	26,3912	
1	3	149,4322		3	3	29,6963	
4	3	149,4322		6	3	29,6963	
2	3	266,8312		1	3		41,0770
5	3	266,8312		4	3		41,0770
Sig.		,208		Sig.		,332	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 12939.727.			Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 13.789.				

Ácidos Hidoxicinâmicos				Flavonóis			
Duncan				Duncan			
Tratament o	N	Subset		Tratament o	N	Subset	
		1	2			1	2
1	3	2,2106		2	3	2,6263	
4	3	2,2106		5	3	2,6263	
3	3	2,3100		3	3	2,9946	
6	3	2,3100		6	3	2,9946	
2	3		3,8205	1	3		8,5839
5	3		3,8205	4	3		8,5839
Sig.		,844	1,000	Sig.		,189	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .315.				Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .090.			

Fenóis Totais			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	9,0417	
4	3	9,0417	
3	3		11,9191
6	3		11,9191
2	3		13,8053
5	3		13,8053
Sig.		1,000	,155
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.999.			

Leveduras		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	3,2108
4	3	3,2108
3	3	3,2165
6	3	3,2165
2	3	3,7178
5	3	3,7178
Sig.		,082
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .087.		

**Anexo XVI**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tempo 2 (7 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	2	18
Temperatura	3	9
	4	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
	5	3
	6	3

L		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
5	3	31,1233
3	3	31,1667
4	3	33,3067
6	3	33,7400
2	3	35,5200
1	3	37,6167
Sig.		,064

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 12.458.

a		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	-11,0133
6	3	-10,4967
3	3	-10,0900
1	3	-10,0333
5	3	-9,2300
4	3	-9,1200
Sig.		,144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.800.

b		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
5	3	16,8533
3	3	17,7467
6	3	17,8167
4	3	18,4300
2	3	18,5767
1	3	18,6533
Sig.		,299

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.391.

c		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
5	3	19,2237
3	3	20,4387
4	3	20,5668
6	3	20,6858
1	3	21,2352
2	3	21,5969
Sig.		,221

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.163.

H		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
4	3	116,2741
1	3	117,9537
5	3	118,6498
3	3	119,9716
6	3	120,5683
2	3	120,6720
Sig.		,112

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.050.

Perda de Peso		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
6	3	,6142
3	3	,7476
5	3	,7508
4	3	,8613
2	3	,8885
1	3	,9727
Sig.		,132

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = .060.

Perda de Eletrólitos			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	26,3949	
1	3	28,1506	28,1506
6	3	28,5524	28,5524
5	3	29,1836	29,1836
3	3		34,1939
2	3		34,6037
Sig.		,404	,072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = 13.400.

AA TEAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
4	3	275,9821	
2	3	320,4693	
6	3	343,6025	
5	3	356,7558	
3	3	362,1151	
1	3		699,7924
Sig.		,529	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = 22242.315.

Fenóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	11,4795		
2	3	15,5011	15,5011	
4	3	16,5017	16,5017	
3	3	17,8896	17,8896	
6	3		19,8455	19,8455
1	3			25,6359
Sig.		,079	,219	,087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = 14.480.

AA ORAC		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	190,9939
5	3	289,3093
6	3	304,2768
1	3	350,1951
2	3	457,5124
4	3	650,3478
Sig.		,068

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = 64498.075.

Ácidos Hidroxicinâmicos					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
5	3	1,4238			
4	3	1,9428	1,9428		
6	3	2,0810	2,0810		
2	3		2,9580	2,9580	
3	3			3,5023	
1	3				4,8818
Sig.		,315	,131	,380	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means.  
 The error term is Mean Square(Error) = .534.

Flavonóis					
Duncan					
Tratamento	N	Subset			
		1	2	3	4
6	3	1,4230			
4	3	1,7460	1,7460		
5	3	2,3244	2,3244	2,3244	
2	3		3,9007	3,9007	3,9007
3	3			4,2060	4,2060
1	3				5,7468
Sig.		,428	,073	,112	,118
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.640.					

Fenóis Totais				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
5	3	8,1182		
6	3	9,4196	9,4196	
4	3	9,4767	9,4767	
2	3	11,4306	11,4306	
3	3		12,5110	12,5110
1	3			15,6309
Sig.		,109	,132	,105
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.735.				

Leveduras		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
6	3	3,6345
1	3	3,6856
4	3	3,7860
2	3	3,8783
3	3	3,9526
5	3	3,9974
Sig.		,187
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .083.		

Bactérias				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
1	3	,0000		
2	3	,0000		
3	3	,0000		
6	3		3,6875	
4	3			4,1361
5	3			4,1631
Sig.		1,000	1,000	,807
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .018.				

**Anexo XVII**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tempo 3 (14 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	3	9
Temperatura	3	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3

L			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	30,4400	
3	3		37,5167
2	3		38,2400
Sig.		1,000	,640

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.234.

b		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	15,9800
3	3	19,5167
2	3	19,7967
Sig.		,062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.877.

a			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
2	3	-11,2067	
3	3	-10,4833	-10,4833
1	3		-9,4233
Sig.		,161	,057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .306.

Hue		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	118,2598
2	3	119,7512
1	3	120,5613
Sig.		,258

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.756.

C			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	18,5554	
3	3	22,1608	22,1608
2	3		22,7687
Sig.		,056	,705

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.504.

Perda de Peso			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	1,7436	
2	3	1,8075	
1	3		2,0775
Sig.		,560	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .016.

Perda de Eletrólitos		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	32,2027
3	3	33,4707
1	3	34,3350
Sig.		,569

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 17.694.

AA TEAC		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	587,7127
1	3	714,8818
3	3	804,3715
Sig.		,173

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 27579.062.

AA ORAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
2	3	236,4738	
1	3	264,6075	
3	3		1032,3196
Sig.		,816	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 20103.657.

Fenóis		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	32,9950
3	3	33,6792
2	3	35,5255
Sig.		,772

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 98.655.

Ácidos Hidroxicinâmicos		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	2,1170
2	3	3,2935
3	3	3,7169
Sig.		,085

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .842.

<b>Flavonóis</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	2,3162
3	3	3,7311
2	3	3,7844
Sig.		,116
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .896.		

<b>Fenóis Totais</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	7,7153
2	3	11,3522
3	3	12,4932
Sig.		,064
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.206.		

<b>Bactérias</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	4,2903
2	3	4,2953
3	3	5,0199
Sig.		,424
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.018.		

<b>Leveduras</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	3,5826
2	3	3,9331
3	3	3,9341
Sig.		,310
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .141.		

**Anexo XVIII**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tempo 4 (21 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	4	9
Temperatura	3	9
Tratamento	1	3
	2	3
	3	3

L		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	34,1300
1	3	38,2000
2	3	39,0533
Sig.		,105

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 9.337.

a		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
2	3	-10,1567
3	3	-10,0700
1	3	-9,1567
Sig.		,436

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.023.

b		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	18,5633
1	3	19,2533
2	3	20,2133
Sig.		,361

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.918.

c		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	21,1224
1	3	21,3411
2	3	22,6314
Sig.		,462

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.189.

Hue		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	115,2574
2	3	116,6480
3	3	118,5859
Sig.		,144

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.502.

Perda de Peso		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	2,6650
2	3	2,7609
1	3	3,0729
Sig.		,116

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .069.

Perda de Eletrólitos		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
3	3	23,4258
1	3	27,3420
2	3	31,1060
Sig.		,063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 15.862.

AA TEAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
1	3	250,5323	
3	3	412,2556	412,2556
2	3		537,1936
Sig.		,133	,228

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 13020.471.

AA ORAC			
Duncan			
Tratamento	N	Subset	
		1	2
3	3	180,8160	
1	3	220,0577	
2	3		508,5464
Sig.		,456	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3645.604.

Fenóis				
Duncan				
Tratamento	N	Subset		
		1	2	3
3	3	14,0680		
1	3		20,7945	
2	3			29,8642
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.539.

Ácidos Hidoxicinâmicos		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	1,4647
3	3	1,7686
2	3	4,0077
Sig.		,051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.521.

<b>Flavonóis</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	1,9552
3	3	2,2580
2	3	3,4382
Sig.		,102
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .826.		

<b>Fenóis Totais</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	6,3889
3	3	8,4391
2	3	10,7318
Sig.		,053
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.583.		

<b>Bactérias</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	4,8798
3	3	5,1250
2	3	5,5597
Sig.		,154
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .244.		

<b>Leveduras</b>		
Duncan		
Tratamento	N	Subset
		1
1	3	4,3180
2	3	4,4581
3	3	4,6846
Sig.		,257
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .120.		

**Anexo XIX**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tratamento 1 (1 °C – controle)

<b>Between-Subjects Factors</b>		
		N
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	3	12
Tratamento	1	12

<b>L</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
3	3	30,4400	
1	3	32,8800	32,8800
2	3		37,6167
4	3		38,2000
Sig.		,375	,085

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 10.132.

<b>a</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	-10,5700
2	3	-10,0333
3	3	-9,4233
4	3	-9,1567
Sig.		,414

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.596.

<b>b</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	15,9800
1	3	16,0933
2	3	18,6533
4	3	19,2533
Sig.		,054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.771.

<b>c</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	18,5554
1	3	19,2601
2	3	21,2352
4	3	21,3411
Sig.		,190

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 5.017.

<b>Hue</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	115,2574	
2	3	117,9537	117,9537
3	3	120,5613	120,5613
1	3		123,2208
Sig.		,092	,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 10.633.

Perda de Peso					
Duncan					
Tempo	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	,0000			
2	3		,9727		
3	3			2,0775	
4	3				3,0729
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .030.

Perda de Eletrólitos		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
4	3	27,3420
2	3	28,1506
1	3	34,0074
3	3	34,3350
Sig.		,129

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 22.650.

AA TEAC			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	250,5323	
1	3	346,4529	
2	3		699,7924
3	3		714,8818
Sig.		,401	,892

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 17530.199.

AA ORAC			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	149,4322	
4	3	220,0577	
3	3	264,6075	264,6075
2	3		350,1951
Sig.		,054	,119

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3613.334.

Fenóis				
Duncan				
Tempo	N	Subset		
		1	2	3
4	3	20,7945		
2	3	25,6359	25,6359	
3	3		32,9950	32,9950
1	3			41,0770
Sig.		,323	,148	,117

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 31.715.

Ácidos Hidroxicinâmicos			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	1,4647	
3	3	2,1170	
1	3	2,2106	
2	3		4,8818
Sig.		,178	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .353.

<b>Flavonóis</b>				
Duncan				
Tempo	N	Subset		
		1	2	3
4	3	1,9552		
3	3	2,3162		
2	3		5,7468	
1	3			8,5839
Sig.		,543	1,000	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .484.				

<b>Fenóis Totais</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	6,3889	
3	3	7,7153	
1	3	9,0417	
2	3		15,6309
Sig.		,122	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.248.			

<b>Bactérias</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	,0000	
2	3	,0000	
3	3		4,2903
4	3		4,8798
Sig.		1,000	,071
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .121.			

<b>Leveduras</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	3,2108	
3	3	3,5826	
2	3	3,6856	
4	3		4,3180
Sig.		,056	1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .062.			

**Anexo XX**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tratamento 2 (1 °C – Eugenol)

<b>Between-Subjects Factors</b>		
		N
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	3	12
Tratamento	2	12

<b>L</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	35,5200
1	3	37,4067
3	3	38,2400
4	3	39,0533
Sig.		,099

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.731.

<b>a</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	-11,5367
3	3	-11,2067
2	3	-11,0133
4	3	-10,1567
Sig.		,067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .561.

<b>b</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	18,5767
3	3	19,7967
1	3	20,0833
4	3	20,2133
Sig.		,392

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.359.

<b>c</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	21,5969
4	3	22,6314
3	3	22,7687
1	3	23,1700
Sig.		,403

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.240.

<b>Hue</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
4	3	116,6480
3	3	119,7512
1	3	119,9899
2	3	120,6720
Sig.		,058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.372.

Perda de Peso					
Duncan					
Tempo	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	,0000			
2	3		,8885		
3	3			1,8075	
4	3				2,7609
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .037.

Perda de Eletrólitos		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	26,6698
4	3	31,1060
3	3	32,2027
2	3	34,6037
Sig.		,053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 16.243.

Fenóis			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	15,5011	
1	3	26,3912	26,3912
4	3		29,8642
3	3		35,5255
Sig.		,105	,180

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 53.429.

AA TEAC		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	320,4693
4	3	537,1936
3	3	587,7127
1	3	603,8298
Sig.		,076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 25473.405.

AA ORAC		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	236,4738
1	3	266,8312
2	3	457,5124
4	3	508,5464
Sig.		,207

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 52268.333.

<b>Ácidos Hidroxicinâmicos</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	2,9580
3	3	3,2935
1	3	3,8205
4	3	4,0077
Sig.		,400

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.858.

<b>Flavonóis</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	2,6263
4	3	3,4382
3	3	3,7844
2	3	3,9007
Sig.		,254

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.431.

<b>Fenóis Totais</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
4	3	10,7318
3	3	11,3522
2	3	11,4306
1	3	13,8053
Sig.		,257

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 8.418.

<b>Bactérias</b>				
Duncan				
Tempo	N	Subset		
		1	2	3
1	3	,0000		
2	3	,0000		
3	3		4,2953	
4	3			5,5597
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .187.

<b>Leveduras</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	3,7178	
2	3	3,8783	3,8783
3	3	3,9331	3,9331
4	3		4,4581
Sig.		,501	,094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .129.

**Anexo XXI**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tratamento 3 (1 °C – Citral)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
	4	3
Temperatura	3	12
Tratamento	3	12

L		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	31,1667
4	3	34,1300
1	3	36,2633
3	3	37,5167
Sig.		,103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 15.711.

a		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	-11,6033
3	3	-10,4833
2	3	-10,0900
4	3	-10,0700
Sig.		,134

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.117.

b		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	17,7467
4	3	18,5633
1	3	18,6433
3	3	19,5167
Sig.		,459

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 6.921.

c		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	20,4387
4	3	21,1224
1	3	21,9610
3	3	22,1608
Sig.		,487

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.468.

Hue		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	118,2598
4	3	118,5859
2	3	119,9716
1	3	121,9303
Sig.		,077

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.329.

Perda de Peso					
Duncan					
Tempo	N	Subset			
		1	2	3	4
1	3	,0000			
2	3		,7476		
3	3			1,7436	
4	3				2,6650
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .001.

Perda de Eletrólitos			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	23,4258	
3	3		33,4707
1	3		34,1687
2	3		34,1939
Sig.		1,000	,863

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 22.729.

AA TEAC			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	362,1151	
4	3	412,2556	
1	3	532,9653	532,9653
3	3		804,3715
Sig.		,257	,078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 26990.886.

AA ORAC			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	130,3486	
4	3	180,8160	
2	3	190,9939	
3	3		1032,3196
Sig.		,572	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 14630.004.

Fenóis			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	14,0680	
2	3	17,8896	
1	3		29,6963
3	3		33,6792
Sig.		,292	,274

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 17.242.

Ácidos Hidroxicinâmicos			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	1,7686	
1	3	2,3100	2,3100
2	3		3,5023
3	3		3,7169
Sig.		,383	,050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .516.

<b>Flavonóis</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	2,2580	
1	3	2,9946	2,9946
3	3		3,7311
2	3		4,2060
Sig.		,232	,076
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .487.			

<b>Fenóis Totais</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
4	3	8,4391	
1	3	11,9191	11,9191
3	3		12,4932
2	3		12,5110
Sig.		,063	,734
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3.895.			

<b>Bactérias</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	,0000	
2	3	,0000	
3	3		5,0199
4	3		5,1250
Sig.		1,000	,876
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .638.			

<b>Leveduras</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	3,2165	
3	3	3,9341	3,9341
2	3	3,9526	3,9526
4	3		4,6846
Sig.		,075	,071
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .179.			

**Anexo XXII**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tratamento 4 (6 °C – controle)

<b>Between-Subjects Factors</b>		
		N
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
Temperatura	4	9
Tratamento	4	9

<b>L</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	32,6500
2	3	33,3067
3	3	35,6967
Sig.		,146

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.661.

<b>a</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
3	3	-10,5800	
1	3	-9,9033	-9,9033
2	3		-9,1200
Sig.		,254	,194

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .431.

<b>b</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	17,6067
3	3	18,0900
2	3	18,4300
Sig.		,229

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .529.

<b>Hue</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	116,2741	
1	3		119,3533
3	3		120,3226
Sig.		1,000	,269

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .952.

<b>C</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	20,2027
2	3	20,5668
3	3	20,9568
Sig.		,367

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .841.

<b>Fenóis</b>				
Duncan				
Tempo	N	Subset		
		1	2	3
2	3	16,5017		
3	3		26,0103	
1	3			41,0770
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.025.

<b>AA TEAC</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	275,9821	
1	3	346,4529	346,4529
3	3		458,4937
Sig.		,198	,061

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3547.915.

<b>Ácidos Hidroxicinâmicos</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
3	3	1,2847	
2	3		1,9428
1	3		2,2106
Sig.		1,000	,225

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .059.

<b>AA ORAC</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	149,4322	
3	3	159,1879	
2	3		650,3478
Sig.		,960	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 52412.605.

<b>Perda de Eletrólitos</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	26,3949	
1	3		34,0074
3	3		37,0022
Sig.		1,000	,342

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 12.659.

<b>Flavonóis</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	1,7460	
3	3	2,0097	
1	3		8,5839
Sig.		,589	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .321.

<b>Fenóis Totais</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	7,7563
1	3	9,0417
2	3	9,4767
Sig.		,172

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.730.

**Anexo XXI**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tratamento 5 (6 °C – Eugenol)

<b>Between-Subjects Factors</b>		
		N
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
Temperatura	4	9
Tratamento	5	9

<b>L</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	31,1233	
1	3	32,4433	32,4433
3	3		36,7833
Sig.		,576	,100

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 7.460.

<b>a</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	-10,3800
1	3	-9,9067
2	3	-9,2300
Sig.		,231

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.046.

<b>b</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	16,8533
3	3	17,8267
1	3	18,0333
Sig.		,322

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.683.

<b>c</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	19,2237
1	3	20,5793
3	3	20,6302
Sig.		,328

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.450.

<b>Hue</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	118,6498
1	3	118,7099
3	3	120,2554
Sig.		,257

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.303.

<b>Perda de Eletrólitos</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	26,6698	
2	3	29,1836	
3	3		36,5180
Sig.		,350	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 9.225.

<b>AA TEAC</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	356,7558
3	3	530,4781
1	3	603,8298
Sig.		,076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 18683.267.

<b>AA ORAC</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	266,8312
2	3	289,3093
3	3	324,5418
Sig.		,645

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 20036.603.

<b>Fenóis</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	11,4795	
3	3		24,7322
1	3		26,3912
Sig.		1,000	,583

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 12.289.

<b>Ácidos Hidroxicinâmicos</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	1,4238	
3	3	1,9608	
1	3		3,8205
Sig.		,310	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .351.

<b>Flavonóis</b>		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	2,3244
1	3	2,6263
3	3	2,8419
Sig.		,658

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1.739.

<b>Fenóis Totais</b>			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	8,1182	
3	3	9,1736	
1	3		13,8053
Sig.		,462	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.707.

**Anexo XXIV**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio 2 | Tratamento 6 (6 °C – Citral)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	1	3
	2	3
	3	3
Temperatura	4	9
Tratamento	6	9

L		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
2	3	33,7400
3	3	35,2367
1	3	36,3933
Sig.		0,187

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4.454.

a			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	-10,6533	
2	3	-10,4967	-10,4967
3	3		-9,5267
Sig.		0,729	0,066

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .280.

b			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
3	3	16,9167	
2	3	17,8167	17,8167
1	3		19,1467
Sig.		0,29	0,137

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .902.

C			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
3	3	19,4166	
2	3	20,6858	20,6858
1	3		21,9179
Sig.		0,143	0,153

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .850.

H		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	119,0986
3	3	119,3680
2	3	120,5683
Sig.		0,308

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 2.451.

Perda de Eletrólitos			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	28,5524	
1	3	34,1687	34,1687
3	3		44,3031
Sig.		0,241	0,057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 27.929.

AA TEAC			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	343,6025	
3	3	399,8410	399,8410
1	3		532,9653
Sig.		0,357	0,056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4777.541.

AA ORAC		
Duncan		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	130,3486
2	3	304,2768
3	3	325,3436
Sig.		0,082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 12189.233.

Flavonóis				
Duncan				
Tempo	N	Subset		
		1	2	3
2	3	1,4230		
3	3		1,9843	
1	3			2,9946
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .44.

Ácidos Hidroxicinâmicos			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
3	3	1,3733	
2	3		2,0810
1	3		2,3100
Sig.		1,000	0,410

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .100.

Fenóis			
Duncan			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	19,8455	
3	3	23,0570	
1	3		29,6963
Sig.		0,267	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 10.315.

Fenóis Totais				
Duncan				
Tempo	N	Subset		
		1	2	3
3	3	7,4247		
2	3		9,4196	
1	3			11,9191
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = .389.

**Anexo XXV**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio Sal Verde | Geral

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	1	6
	2	6
	3	6
Temperatura	1	9
	2	9

Tests of Between-Subjects Effects						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	L	14,567a	5	2,913	1,369	0,302
	a	,803b	5	0,161	1,945	0,16
	b	1,861c	5	0,372	1,445	0,278
	C	1,985d	5	0,397	1,474	0,269
	H	5,479e	5	1,096	1,862	0,175
	AATEAC	108917,391f	5	21783,48	1,038	0,439
	AAORAC	1425714,891g	5	285143	114,207	0
	FenóisTotais	,000h	5	8,58E-05	0,63	0,681
Intercept	L	44501,389	1	44501,39	20912,03	0
	a	116,994	1	116,994	1416,964	0
	b	7130,966	1	7130,966	27679,94	0
	C	7249,491	1	7249,491	26920,8	0
	H	123128,363	1	123128,4	209233,6	0
	AATEAC	4405511,589	1	4405512	209,875	0
	AAORAC	2337525,296	1	2337525	936,241	0
	FenóisTotais	0,173	1	0,173	1272,778	0
Tempo	L	3,45	2	1,725	0,811	0,468
	a	0,538	2	0,269	3,26	0,074
	b	1,435	2	0,718	2,786	0,101
	C	1,625	2	0,813	3,018	0,087
	H	2,717	2	1,359	2,309	0,142
	AATEAC	63500,591	2	31750,3	1,513	0,26
	AAORAC	1332342,876	2	666171,4	266,819	0
	FenóisTotais	1,08E-05	2	5,41E-06	0,04	0,961
Temperatura	L	10,765	1	10,765	5,059	0,044
	a	0,084	1	0,084	1,018	0,333
	b	0,367	1	0,367	1,424	0,256
	C	0,32	1	0,32	1,187	0,297
	H	1,083	1	1,083	1,84	0,2
	AATEAC	23133,931	1	23133,93	1,102	0,314
	AAORAC	51938,119	1	51938,12	20,803	0,001
	FenóisTotais	0	1	0	1,133	0,308

Tests of Between-Subjects Effects (cont)						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tempo * Temperatura	L	0,352	2	0,176	0,083	0,921
	a	0,181	2	0,09	1,094	0,366
	b	0,059	2	0,03	0,115	0,893
	C	0,04	2	0,02	0,074	0,929
	H	1,68	2	0,84	1,427	0,278
	AATEAC	22282,869	2	11141,43	0,531	0,601
	AAORAC	41433,896	2	20716,95	8,298	0,005
	FenóisTotais	0	2	0	0,969	0,407
Error	L	25,536	12	2,128		
	a	0,991	12	0,083		
	b	3,091	12	0,258		
	C	3,231	12	0,269		
	H	7,062	12	0,588		
	AATEAC	251893,07	12	20991,09		
	AAORAC	29960,554	12	2496,713		
	FenóisTotais	0,002	12	0		
Total	L	44541,492	18			
	a	118,788	18			
	b	7135,919	18			
	C	7254,707	18			
	H	123140,9	18			
	AATEAC	4766322	18			
	AAORAC	3793200,7	18			
	FenóisTotais	0,175	18			
Corrected Total	L	40,103	17			
	a	1,794	17			
	b	4,953	17			
	C	5,216	17			
	H	12,541	17			
	AATEAC	360810,46	17			
	AAORAC	1455675,4	17			
	FenóisTotais	0,002	17			
a R Squared = ,363 (Adjusted R Squared = ,098)						
b R Squared = ,448 (Adjusted R Squared = ,218)						
c R Squared = ,376 (Adjusted R Squared = ,116)						
d R Squared = ,381 (Adjusted R Squared = ,122)						
e R Squared = ,437 (Adjusted R Squared = ,202)						
f R Squared = ,302 (Adjusted R Squared = ,011)						
g R Squared = ,979 (Adjusted R Squared = ,971)						
h R Squared = ,208 (Adjusted R Squared = -,122)						

**Anexo XXVI**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio Sal Verde | Tempo 1 (0 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	1	6
Temperatura	1	3
	2	3

Tests of Between-Subjects Effects						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	L	5,645a	1	5,645	5,853	0,073
	a	1,000E-013b	1	1,00E-13	0	1
	b	,132c	1	0,132	0,342	0,59
	C	,130d	1	0,13	0,329	0,597
	H	,016e	1	0,016	0,066	0,81
	AATEAC	1,465E-011b	1	1,47E-11	0	1
	AAORAC	,000f	1	0	0	1
	FenóisTotais	,000f	1	0	0	1
Intercept	L	15194,627	1	15194,63	15753,35	0
	a	45,595	1	45,595	1197,25	0
	b	2468,887	1	2468,887	6392,217	0
	C	2514,607	1	2514,607	6387,004	0
	H	40601,2	1	40601,2	168332,3	0
	AATEAC	1942652,035	1	1942652	112,74	0
	AAORAC	153360,883	1	153360,9	56,9	0,002
	FenóisTotais	0,059	1	0,059	3147,313	0
Tempo	L	0	0	.	.	.
	a	0	0	.	.	.
	b	0	0	.	.	.
	C	0	0	.	.	.
	H	0	0	.	.	.
	AATEAC	0	0	.	.	.
	AAORAC	0	0	.	.	.
	FenóisTotais	0	0	.	.	.
Temperatura	L	5,645	1	5,645	5,853	0,073
	a	0	1	0	0	1
	b	0,132	1	0,132	0,342	0,59
	C	0,13	1	0,13	0,329	0,597
	H	0,016	1	0,016	0,066	0,81
	AATEAC	0	1	0	0	1
	AAORAC	0	1	0	0	1
	FenóisTotais	0	1	0	0	1

Tests of Between-Subjects Effects (cont)						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tempo * Temperatura	L	0	0	.	.	.
	a	0	0	.	.	.
	b	0	0	.	.	.
	C	0	0	.	.	.
	H	0	0	.	.	.
	AATEAC	0	0	.	.	.
	AAORAC	0	0	.	.	.
	FenóisTotais	0	0	.	.	.
Error	L	3,858	4	0,965		
	a	0,152	4	0,038		
	b	1,545	4	0,386		
	C	1,575	4	0,394		
	H	0,965	4	0,241		
	AATEAC	68925,195	4	17231,3		
	AAORAC	10781,147	4	2695,287		
	FenóisTotais	7,45E-05	4	1,86E-05		
Total	L	15204,131	6			
	a	45,748	6			
	b	2470,564	6			
	C	2516,312	6			
	H	40602,18	6			
	AATEAC	2011577,23	6			
	AAORAC	164142,03	6			
	FenóisTotais	0,059	6			
Corrected Total	L	9,504	5			
	a	0,152	5			
	b	1,677	5			
	C	1,705	5			
	H	0,981	5			
	AATEAC	68925,195	5			
	AAORAC	10781,147	5			
	FenóisTotais	7,45E-05	5			
a R Squared = ,594 (Adjusted R Squared = ,493)						
b R Squared = ,000 (Adjusted R Squared = -,250)						
c R Squared = ,079 (Adjusted R Squared = -,152)						
d R Squared = ,076 (Adjusted R Squared = -,155)						
e R Squared = ,016 (Adjusted R Squared = -,230)						
f R Squared = ,000 (Adjusted R Squared = -,250)						

**Anexo XXVII**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio Sal Verde | Tempo 2 (90 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	2	6
Temperatura	1	3
	2	3

Tests of Between-Subjects Effects						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	L	2,884a	1	2,884	1,964	0,234
	a	,000b	1	0	0,001	0,975
	b	,029c	1	0,029	0,083	0,788
	C	,030d	1	0,03	0,077	0,795
	H	,000e	1	0	0	0,985
	AATEAC	41991,850f	1	41991,85	2,113	0,22
	AAORAC	11975,465g	1	11975,47	8,172	0,046
	FenóisTotais	1,187E-006h	1	1,19E-06	0,04	0,851
Intercept	L	14731,215	1	14731,22	10030,22	0
	a	39,27	1	39,27	294,307	0
	b	2356,202	1	2356,202	6632,828	0
	C	2395,892	1	2395,892	6243,155	0
	H	40988,539	1	40988,54	47430,16	0
	AATEAC	1449587,77	1	1449588	72,937	0,001
	AAORAC	186303,723	1	186303,7	127,134	0
	FenóisTotais	0,058	1	0,058	1972,588	0
Tempo	L	0	0	.	.	.
	a	0	0	.	.	.
	b	0	0	.	.	.
	C	0	0	.	.	.
	H	0	0	.	.	.
	AATEAC	0	0	.	.	.
	AAORAC	0	0	.	.	.
	FenóisTotais	0	0	.	.	.
Temperatura	L	2,884	1	2,884	1,964	0,234
	a	0	1	0	0,001	0,975
	b	0,029	1	0,029	0,083	0,788
	C	0,03	1	0,03	0,077	0,795
	H	0	1	0	0	0,985
	AATEAC	41991,85	1	41991,85	2,113	0,22
	AAORAC	11975,465	1	11975,47	8,172	0,046
	FenóisTotais	1,19E-06	1	1,19E-06	0,04	0,851

Tests of Between-Subjects Effects (cont)						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tempo * Temperatura	L	0	0	.	.	.
	a	0	0	.	.	.
	b	0	0	.	.	.
	C	0	0	.	.	.
	H	0	0	.	.	.
	AATEAC	0	0	.	.	.
	AAORAC	0	0	.	.	.
	FenóisTotais	0	0	.	.	.
Error	L	5,875	4	1,469		
	a	0,534	4	0,133		
	b	1,421	4	0,355		
	C	1,535	4	0,384		
	H	3,457	4	0,864		
	AATEAC	79497,548	4	19874,39		
	AAORAC	5861,634	4	1465,408		
	FenóisTotais	0	4	2,95E-05		
Total	L	14739,974	6			
	a	39,804	6			
	b	2357,652	6			
	C	2397,456	6			
	H	40991,996	6			
	AATEAC	1571077,164	6			
	AAORAC	204140,821	6			
	FenóisTotais	0,058	6			
Corrected Total	L	8,759	5			
	a	0,534	5			
	b	1,45	5			
	C	1,565	5			
	H	3,457	5			
	AATEAC	121489,398	5			
	AAORAC	17837,099	5			
	FenóisTotais	0	5			
a R Squared = ,329 (Adjusted R Squared = ,162)						
b R Squared = ,000 (Adjusted R Squared = -,250)						
c R Squared = ,020 (Adjusted R Squared = -,225)						
d R Squared = ,019 (Adjusted R Squared = -,226)						
e R Squared = ,000 (Adjusted R Squared = -,250)						
f R Squared = ,346 (Adjusted R Squared = ,182)						
g R Squared = ,671 (Adjusted R Squared = ,589)						

**Anexo XXVIII**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio Sal Verde | Tempo 3 (180 dias)

Between-Subjects Factors		
		N
Tempo	3	6
Temperatura	1	3
	2	3

Tests of Between-Subjects Effects						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	L	2,587a	1	2,587	0,655	0,464
	a	,265b	1	0,265	3,473	0,136
	b	,265c	1	0,265	8,427	0,044
	C	,200d	1	0,2	6,583	0,062
	H	2,746e	1	2,746	4,161	0,111
	AATEAC	3424,950f	1	3424,95	0,132	0,734
	AAORAC	81396,550g	1	81396,55	24,447	0,008
	FenóisTotais	,000h	1	0	1,157	0,343
Intercept	L	14578,996	1	14579	3690,075	0
	a	32,667	1	32,667	428,79	0
	b	2307,313	1	2307,313	73481,29	0
	C	2340,617	1	2340,617	76996,84	0
	H	41541,342	1	41541,34	62938,05	0
	AATEAC	1076772,379	1	1076772	41,626	0,003
	AAORAC	3330203,567	1	3330204	1000,228	0
	FenóisTotais	0,056	1	0,056	156,833	0
Tempo	L	0	0	.	.	.
	a	0	0	.	.	.
	b	0	0	.	.	.
	C	0	0	.	.	.
	H	0	0	.	.	.
	AATEAC	0	0	.	.	.
	AAORAC	0	0	.	.	.
	FenóisTotais	0	0	.	.	.
Temperatura	L	2,587	1	2,587	0,655	0,464
	a	0,265	1	0,265	3,473	0,136
	b	0,265	1	0,265	8,427	0,044
	C	0,2	1	0,2	6,583	0,062
	H	2,746	1	2,746	4,161	0,111
	AATEAC	3424,95	1	3424,95	0,132	0,734
	AAORAC	81396,55	1	81396,55	24,447	0,008
	FenóisTotais	0	1	0	1,157	0,343

Tests of Between-Subjects Effects (cont)						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tempo * Temperatura	L	0	0	.	.	.
	a	0	0	.	.	.
	b	0	0	.	.	.
	C	0	0	.	.	.
	H	0	0	.	.	.
	AATEAC	0	0	.	.	.
	AAORAC	0	0	.	.	.
	FenóisTotais	0	0	.	.	.
Error	L	15,803	4	3,951		
	a	0,305	4	0,076		
	b	0,126	4	0,031		
	C	0,122	4	0,03		
	H	2,64	4	0,66		
	AATEAC	103470,327	4	25867,58		
	AAORAC	13317,773	4	3329,443		
	FenóisTotais	0,001	4	0		
Total	L	14597,387	6			
	a	33,236	6			
	b	2307,703	6			
	C	2340,939	6			
	H	41546,728	6			
	AATEAC	1183667,655	6			
	AAORAC	3424917,89	6			
	FenóisTotais	0,058	6			
Corrected Total	L	18,391	5			
	a	0,569	5			
	b	0,39	5			
	C	0,322	5			
	H	5,386	5			
	AATEAC	106895,276	5			
	AAORAC	94714,323	5			
	FenóisTotais	0,002	5			
a R Squared = ,141 (Adjusted R Squared = -,074)						
b R Squared = ,465 (Adjusted R Squared = ,331)						
c R Squared = ,678 (Adjusted R Squared = ,598)						
d R Squared = ,622 (Adjusted R Squared = ,528)						
e R Squared = ,510 (Adjusted R Squared = ,387)						
f R Squared = ,032 (Adjusted R Squared = -,210)						
g R Squared = ,859 (Adjusted R Squared = ,824)						
h R Squared = ,224 (Adjusted R Squared = ,030)						

**Anexo XXIX**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio Sal Verde | Temperatura 1 (T ambiente)

Between-Subjects Factors		
		N
Temperatura	1	9
Tempo	1	3
	2	3
	3	3

a			
Duncan a,b,c			
Tempo	N	Subset	
		1	2
3	3	2,1233	
2	3	2,5633	2,5633
1	3		2,7567
Sig.		0,068	0,366
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,059. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.			

H			
Duncan a,b,c			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	82,3126	
2	3	82,66	82,66
3	3		83,8844
Sig.		0,542	0,063
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,434. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.			

L		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	49,95
2	3	50,2433
1	3	51,2933
Sig.		0,063
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,488. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.		

b		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	19,82
2	3	19,8867
1	3	20,4333
Sig.		0,285
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,383. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.		

C		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	19,9337
2	3	20,053
1	3	20,619
Sig.		0,24
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,389. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.		

FenóisTotais		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	0,0887
2	3	0,098
1	3	0,0988
Sig.		0,45
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,000. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.		

AAORAC			
Duncan a,b,c			
Tempo	N	Subset	
		1	2
2	3	131,5362	
1	3	159,8754	
3	3		628,5324
Sig.		0,39	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 1401,745. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.			

AATEAC		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	399,7377
2	3	407,8683
1	3	569,0126
Sig.		0,129
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 12951,564. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.		

Mesófilas				
Duncan a,b,c				
Tempo	N	Subset		
		1	2	3
1	3	7,9636		
2	3		10,154	
3	3			11,307
Sig.		1	1	1
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,003. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.				

**Anexo XXX**

Análise Estatística | Statistical Package for Social Sciences (SPSS v. 16.0)

Ensaio Sal Verde | Temperatura 2 (6 °C)

Between-Subjects Factors		
		N
Temperatura	2	9
Tempo	1	3
	2	3
	3	3

a		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	2,5433
2	3	2,5533
1	3	2,7567
Sig.		0,467

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,106. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.

c		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	19,5684
2	3	19,9127
1	3	20,3249
Sig.		0,06

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,150. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.

L		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	48,6367
2	3	48,8567
1	3	49,3533
Sig.		0,676

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3,768. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.

b		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	19,4
2	3	19,7467
1	3	20,1367
Sig.		0,054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,132. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.

H		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	82,2093
3	3	82,5314
2	3	82,6449
Sig.		0,571

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = ,743. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.

AATEAC		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
3	3	447,5216
1	3	569,0126
2	3	575,184
Sig.		0,408

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 29030,614. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.

AAORAC			
Duncan a,b,c			
Tempo	N	Subset	
		1	2
1	3	159,8754	
2	3	220,8875	
3	3		861,4796
Sig.		0,259	1

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 3591,680. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.

FenóisTotais		
Duncan a,b,c		
Tempo	N	Subset
		1
1	3	0,0988
2	3	0,0988
3	3	0,1054
Sig.		0,313

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 Based on observed means. The error term is Mean Square(Error) = 4,917E-005. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000. b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed. c. Alpha = ,05.