



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária

Desenvolvimento de pastas de azeitona e tremçoço

Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar

Joana Lopes Domingues

Orientadores

Prof. Adjunto Maria de Fátima Pratas Peres
Doutora Cristina José Miguel Pintado

Junho de 2014



Desenvolvimento de pastas de azeitona e tremçoço

Joana Lopes Domingues

Orientadores

Prof. Adjunto Maria de Fátima Pratas Peres

Doutora Cristina José Miguel Pintado

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, realizada sob a orientação científica da Mestre Maria de Fátima Pratas Peres, Professor Adjunto da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco e da Doutora Cristina José Miguel Pintado, Técnico Superior Especialista na Associação do Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco.

Junho de 2014

Agradecimentos

Com a entrega deste trabalho é com enorme gosto e satisfação que agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a sua realização e conclusão.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer às minhas orientadoras, à professora Fátima Peres, da Escola Superior Agrária de Castelo Branco e à Dra. Cristina Pintado, Técnica Superior Especialista na Associação Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco, pelos ensinamentos transmitidos, conselhos fornecidos, pela exigência e rigor, pela disponibilidade, ajuda e paciência que demonstraram. E acima de tudo pela amizade e confiança demonstradas.

Aos técnicos superiores da Escola Superior Agrária, à engenheira Cecília Gouveia, à engenheira Conceição Vitorino, pela amizade, orientação e ajuda na realização das análises físico-químicas. Ao Sr. José Manuel e ao Sr. Paulo, do Laboratório de Nutrição e Tecnologia e Segurança Alimentar da Escola Superior Agrária de Castelo Branco.

Aos colegas, professores e restantes pessoas que participaram nas provas de análise sensorial, sem eles este trabalho não seria possível realizar-se.

Ao Sr. Luís Tomé da empresa Farinha e Tomé, Lda pela receptividade que demonstrou para o desenvolvimento deste trabalho, disponibilizando a matéria-prima, conhecimentos transmitidos e confiança depositada em mim para a realização deste trabalho.

Ao Sr. Paulo Cardona da empresa Paulo Cardona, Comércio e Representações, Lda pelos conhecimentos transmitidos, pela amizade e confiança neste trabalho. Assim como o fornecimento dos aromas cedidos gentilmente pelo Sr. Paulo Cardona através da empresa Especialidades Aromáticas, S.L.

Por fim, mas nunca em último, aos meus pais por todo o esforço que fizeram para que eu hoje pudesse entregar este trabalho, por todo o apoio, incentivo e pelo seu amor. A toda a minha família e amigos que de certa forma me ajudam a tornar uma pessoa melhor. Ao meu namorado pelo forte apoio, incentivo, ajuda e carinho transmitidos.

“Cada um que passa na nossa vida passa sozinho... Porque cada pessoa é única para nós, e nenhuma substitui a outra. Cada um que passa na nossa vida passa sozinho, mas não vai só...Levam um pouco de nós mesmos e deixam-nos um pouco de si mesmos. Há os que levam muito, mas não há os que não levam nada. Há os que deixam muito, mas não há os que não deixam nada. Esta é a mais bela realidade da vida... A prova tremenda de que cada um é importante e que ninguém se aproxima do outro por acaso...”

Antoine de Saint-Exupery

Resumo

Este trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de pastas de azeitona e tremoço, criando um alimento inovador, com uma melhor composição nutricional relativamente às pastas comumente comercializadas, sem aumentar o custo do produto. O desenvolvimento baseou-se em estudos de preferência, utilizando painéis de consumidores e painéis semi-treinados. Aplicaram-se diversas metodologias de avaliação sensorial recorrendo a testes de ordenação e a testes descritivos. A formulação final selecionada foi submetida a caracterização sensorial (análise descritiva), físico-química (teor de sal, humidade, cinzas, gordura, proteína, fibra, a_w) e microbiológica (contagem de bactérias lácticas, microrganismos a 30 °C, leveduras e bolores, Enterobactérias e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*). A azeitona em salmoura e o tremoço também foram caracterizados.

Numa primeira etapa, um painel de 60 consumidores avaliou pastas de azeitona e tremoço e pastas só de tremoço, constatando-se uma preferência pela pasta com os dois ingredientes. Seguidamente, prepararam-se formulações com diferentes proporções de tremoço que foram objeto de geração de descritores por um painel de provadores semi-treinados; este painel também preferiu a formulação inicialmente selecionada pelos consumidores. Eleita a formulação base, adicionaram-se oito aromas (alho, caranguejo, cebola, limão, louro, orégão, pimento vermelho e tomilho) e foram realizadas duas sessões de análise descritiva utilizando a folha de perfil construída com os descritores selecionados anteriormente.

A formulação final, a pasta de azeitona e tremoço com aroma a alho, foi a preferida por um painel de 104 consumidores. A caracterização físico-química desta pasta mostra um produto com boas características nutricionais relativamente aos teores de fibra, proteína e de sal, o que pode representar uma vantagem relativamente a outros existentes no mercado. As matérias-primas e as pastas revelaram qualidade microbiológica satisfatória, refletindo a qualidade da matéria-prima e as boas práticas de produção.

Palavras-chave: Análise sensorial, pastas, *Olea europaea*, *Lupinus*, desenvolvimento de novos produtos.

Abstract

This work had as main objective the development of olive and lupine pastes, producing an innovative food, with better nutritional composition over traditional pastes, without increasing the cost of the product. Product development was based on hedonic studies using consumer and semi-trained panels. Several sensory evaluation methods were used, mainly ranking and descriptive tests. The final formulation was subjected to sensory descriptive analysis, physico-chemical (salt, moisture, ash, fat, protein and fiber contents and aw) and microbiological characterization (count of lactic acid bacteria, total microorganisms at 30 °C, yeasts and molds, *Enterobacteriaceae* and detection of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*). The table olive and lupine were also characterized.

In a first step, a panel of 60 consumers evaluated olive and lupine pastes and lupine pastes only, showing a preference for the paste with the two ingredients. Subsequently, several formulations were prepared with different combinations of lupins that were submitted to identification and selection of descriptors by semi-trained panelists; this panel also preferred the formulation initially selected by consumers. After the choice of the base formulation, eight flavors were added (garlic, crab, onion, lemon, bay leaf, oregano, red pepper and thyme) and two sessions of descriptive analysis were performed using the profile sheet built with descriptors previously obtained.

The final formulation, the olive and lupine paste with aroma of garlic, was selected by a panel of 104 consumers. The physico-chemical characterization of this paste shows a product with good nutritional characteristics in relation to fiber, protein and salt contents, which may represent an advantage over others products on the market. The raw materials and pastes revealed satisfactory microbiological quality, reflecting the quality of the raw material and good production practices.

Keywords: Sensory analysis, pastes, *Olea europaea*, *Lupinus*, new product development.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vii
Índice	ix
Índice de figuras	xi
Índice de tabelas.....	xiii
Lista de abreviaturas	xv
1. Introdução.....	1
2. Azeitona	3
2.1. Composição da azeitona de mesa	4
2.2. Processamento.....	6
2.2.1. Azeitona de fermentação natural.....	6
2.2.2. Azeitona verde ou estilo Sevilhano	11
2.2.3. Azeitona preta oxidada ou estilo Californiano.....	12
2.3. Produtos do olival e inovação	13
3. Tremoço	15
3.1. Composição do tremoço	16
3.2. Processamento.....	17
3.3. Produtos derivados do tremoço e inovação	18
4. Material e métodos	20
4.1. Descrição das etapas de desenvolvimento das pastas.....	20
4.2. Preparação das pastas.....	21
4.3. Avaliação sensorial.....	24
4.3.1. Provas de aceitação e preferência	24
4.3.2. Análise descritiva	25
4.4. Análises físico-químicas	26

4.5. Análises microbiológicas	29
4.6. Análise estatística	30
5. Resultados e discussão.....	32
5.1. Seleção da formulação base.....	32
5.2. Desenvolvimento de novas formulações.....	33
5.3. Geração e seleção de descritores.....	34
5.4. Análise quantitativa descritiva.....	36
5.5. Seleção da formulação final.....	38
5.6. Caracterização físico-química.....	39
5.7. Caracterização microbiológica	41
6. Conclusões	44
7. Referências bibliográficas.....	45
ANEXOS	51
ANEXO A.....	53
ANEXO B.....	57
ANEXO C	61
ANEXO D.....	65

Índice de figuras

Figura 1 - Evolução da produção e consumo de azeitona de mesa em Portugal.....	3
Figura 2 - Morfologia da azeitona.....	4
Figura 3 - Azeitona com “Alambrado”	8
Figura 4 - Principais tipos de processamento de azeitona de mesa	13
Figura 5 - Composição nutricional do tremço <i>versus</i> ervilha, soja e trigo.....	15
Figura 6 - Componentes maioritários do tremço.....	16
Figura 7 - Desenvolvimento das pastas de azeitona e tremço	20
Figura 8 - Salas e provas de análise sensorial.....	25
Figura 9 - Percentagem de provadores que gostaram das pastas para a seleção da formulação base.....	32
Figura 10 - Ordem de preferência das pastas para seleção da formulação base ...	33
Figura 11 - Percentagem de provadores que gostaram das novas formulações ...	34
Figura 12 - Ordem de preferência das novas formulações de pastas.....	34
Figura 13 - Intensidade média dos descritores nas oito pastas avaliadas	37
Figura 14 - Intensidade média dos descritores nas cinco pastas avaliadas.....	38
Figura 15 - Ordem de preferência das pastas para seleção da formulação final ...	39

Índice de tabelas

Tabela 1 - Composição nutricional de azeitona de mesa	5
Tabela 2 - Microflora predominante nas diferentes fases de fermentação de azeitona de mesa	7
Tabela 3 - Microflora em azeitona de mesa e em salmoura	9
Tabela 4 - Principais alterações microbianas em azeitona de mesa.....	10
Tabela 5 - Composição nutricional de pastas de azeitona de mesa	14
Tabela 6 - Composição nutricional de várias espécies de tremço, após fermentação, sem colocação em salmoura.....	17
Tabela 7 - Formulações das pastas para seleção da formulação base	21
Tabela 8 - Formulações de novas pastas desenvolvidas	22
Tabela 9 - Aromas adicionados à pasta de azeitona e tremço.....	23
Tabela 10 - Formulações das pastas para seleção da formulação final.....	23
Tabela 11 - Condições de incubação relativas aos indicadores de higiene e qualidade.....	29
Tabela 12 - Comentários dos consumidores em relação à formulação base.....	33
Tabela 13 - Descritores gerados pelo painel semi-treinado	35
Tabela 15 - Caracterização físico-química de matérias-primas e da pasta AT _{alho}	39
Tabela 16 - Teor de cloretos em azeitona de mesa, tremço e pasta AT _{alho}	41
Tabela 17 - Indicadores microbiológicos de higiene e qualidade em azeitona de mesa, tremço e respectivas salmouras.....	42
Tabela 18 - Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. e de <i>Listeria monocytogenes</i> em pastas de azeitona.....	43

Lista de abreviaturas

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*

AQD - Análise Quantitativa Descritiva

ANOVA - *Analysis of Variance*

a_w - Atividade de água

CATAA - Associação Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco

CE - Conformidade Europeia

COI - Conselho Oleícola Internacional

ELFA - *Enzyme Linked Fluorescent Assay*

ELISA - *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

ESACB - Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco

UE - União Europeia

FAO - *Food and Agriculture Organization*

FAOSTAT - *Food and Agricultural Organization Statistical*

ISO - *International Organization for Standardization*

NP - Norma Portuguesa

OMS - Organização Mundial de Saúde

UFC - Unidades Formadoras de Colónias

1. Introdução

A olivicultura em Portugal é uma atividade de grande influência económica e cultural, sendo uma tradição de longos anos. Em 2012, a produção de azeitona foi de 416.599 toneladas, sendo que cerca de 97 % destina-se à extração de azeite e 3 % à produção de azeitona de mesa (INE, 2012). Pode dizer-se que a produção de azeitona destinada à azeitona de mesa tem vindo a aumentar. As áreas de maior expressão na produção de azeitona de mesa são Trás-os-Montes, Beira Interior e Alentejo.

A azeitona tem grande importância nos países mediterrânicos. O fruto não pode ser consumido naturalmente devido ao seu amargor, pelo que tem de ser sujeito a diversos tratamentos/operações para que fique palatável. Segundo a NP 3034:2012 e o Conselho Oleícola Internacional (COI), define-se azeitona de mesa como o “preparado a partir de frutos sãos, das variedades cultivadas da oliveira (*Olea europaea* L.), cujo volume, a forma, a relação polpa/caroço, o gosto, a firmeza e a facilidade de desprendimento do caroço que os torna adequados para processamento, de forma a remover o seu amargor e torná-los edíveis”. A oleuropeína é o principal composto fenólico responsável pelo amargor da azeitona. Os processos tecnológicos mais comuns para a remoção do seu amargor são os seguintes: azeitonas de fermentação natural, azeitonas verdes ou estilo Sevilhano e azeitonas pretas oxidadas ou estilo Californiano (Cabezas, 2011).

O tremço é uma leguminosa com elevado teor em proteína (30-40 %) e fibra (30 %), baixo teor em gordura (6 %) e um teor mínimo de amido, o que lhe confere um baixo índice glicémico (Sipsas, 2008a). O tremço é naturalmente amargo e contém alcalóides tóxicos, pelo que deve sofrer um tratamento tecnológico para remoção destes componentes. O interesse por esta leguminosa tem vindo a aumentar nos últimos anos, não só por parte da indústria alimentar mas também por outras áreas.

Segundo os últimos dados da FAOSTAT, entre 2001 a 2005 a produção de tremço em Portugal foi de 10.000 toneladas. Portugal ainda não é autossuficiente na cultura do tremço, pelo que a maioria das empresas portuguesas que comercializam tremço, importam o produto de outros países como o Chile, a Austrália e a Argentina.

A procura de novos produtos por parte dos consumidores proporciona um novo segmento/setor nas empresas, que tentam encontrar soluções e respostas nos seus processos de fabrico. Por outro lado, a necessidade que existe no escoamento do produto é um fator decisivo, pelo que a procura de produtos inovadores por parte dos consumidores, pode à partida garantir a sua comercialização.

A inovação nas empresas deve ser um conceito obrigatório e inato, não só ao nível do produto final, mas também em termos de processos tecnológicos, processos de gestão e de organização de trabalho. Não tem de ser obrigatoriamente algo de “novo”, mas sim uma melhoria contínua num determinado processo/etapa. Na maior parte das vezes a inovação não é espontânea, e de facto, é necessário dedicação nesta área.

No setor da azeitona de mesa por vezes há dificuldade em escoar frutos de baixo calibre e com defeitos, sendo por isso essencial encontrar alternativas para evitar ou minimizar as perdas a nível económico. Uma das alternativas que se tem vindo a assumir é a produção de pasta de azeitona, e o mercado nacional tem acompanhado esta tendência, existindo já várias formulações. Na sua grande maioria as pastas são constituídas por azeitona, ervas aromáticas, especiarias e azeite. Relativamente ao tremoço é um recurso relativamente acessível economicamente e possui características nutricionais bastante interessantes que têm vindo a ser demonstradas em vários estudos.

O desenvolvimento deste trabalho teve como principal objetivo dar resposta a uma solicitação por parte de uma unidade industrial – a empresa Farinha e Tomé Lda – para o desenvolvimento de uma pasta de azeitona. Esta empresa tem fábrica no distrito de Castelo Branco, foi fundada em 1990 e desde então dedica-se à produção e comercialização de azeitona de mesa, tremoços, pickles e azeite, sendo a sua marca própria “Olibeiras”. A maior quota de vendas corresponde à comercialização de azeitona de mesa. Em termos de mercado, a empresa tem um considerável número de clientes em Portugal, mas também exporta para países como Angola, Moçambique, França e Brasil.

Dado que a unidade industrial não produz só azeitona de mesa, optou-se por conjugar uma pasta de azeitona com outro produto aí produzido, como é o caso do tremoço.

Tendo em conta o objetivo principal deste trabalho, estabeleceram-se alguns objetivos específicos:

- Desenvolver formulações de pastas de azeitona e tremoço, utilizando matéria-prima da unidade industrial por forma a obter uma pasta com características diferenciadoras;
- Avaliar junto dos consumidores, através de provas hedónicas a aceitação de pastas de azeitona e de tremoço;
- Caracterizar sensorialmente as pastas desenvolvidas;
- Caracterizar sob o ponto de vista físico-químico, microbiológico e sensorial as matérias-primas e a pasta selecionada.

2. Azeitona

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma árvore típica da bacia mediterrânea, que produz um fruto - a azeitona - que é uma drupa com forma elipsoidal ou globulosa e que, dependendo da variedade, apresenta um tamanho médio de 1 a 6 cm de longitude e 0,6 a 2 cm de diâmetro. A massa de uma azeitona varia entre 1,5 e 12 g. Para a produção de azeitona de mesa, o fruto pode apresentar coloração de verde-amarelo a negro, dependendo do tratamento que se pretende efetuar e do tipo de produto final, haverá interesse numa cor em detrimento de outra (Cabezas, 2011). O consumo de azeitona de mesa é um hábito muito antigo nos países do Mediterrâneo e tem vindo a aumentar nos últimos anos, associado a estudos que demonstram diversos benefícios para a saúde.

A produção de azeite encontra-se em plena expansão mundial, devido às propriedades saudáveis que lhe são atribuídas e crescente valorização como produto *gourmet*. A produção de azeitona de mesa em Portugal tem vindo a conseguir colmatar a procura, contudo dependendo do ano e das condições climatéricas houve campanhas, no período 2002-2012, em que foi necessário importar azeitona (Figura 1).

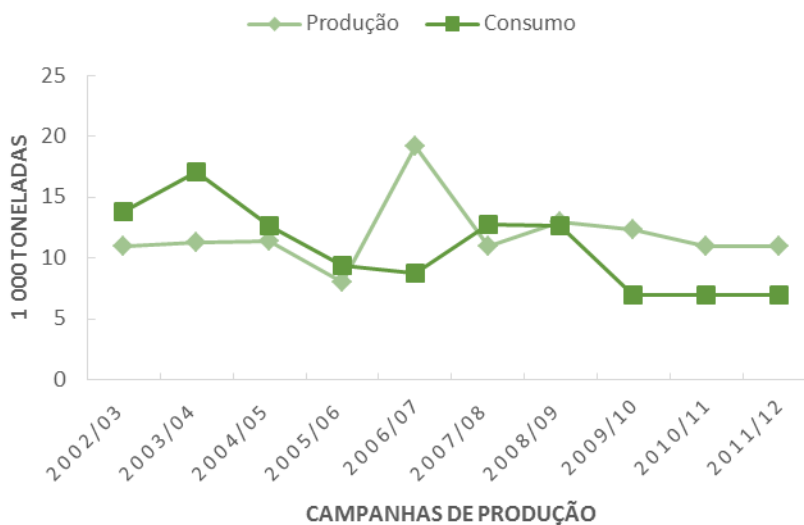


Figura 1 - Evolução da produção e consumo de azeitona de mesa em Portugal.

(Fonte: Adaptado de COI, 2012).

A produção de azeitona em Portugal tem vindo a aumentar, quer se destine à produção de azeite ou de azeitona de mesa; no entanto, os valores são bem diferentes, para o ano 2013 os dados previsionais apontam para cerca de 97 % de azeitona para azeite e apenas 3 % para a produção de azeitona de mesa (INE, 2014).

De entre os países da União Europeia, Espanha é o maior produtor de azeitona de mesa com cerca de 513.100 toneladas, de seguida a Grécia com cerca de 94.000 toneladas e a Itália com 74.000 toneladas. Portugal situa-se no quarto lugar do

ranking de produtores da União Europeia com uma produção de azeitona de mesa de cerca de 11.900 toneladas. A nível mundial, a Espanha mantém o primeiro lugar, o Egipto destaca-se em segundo lugar com cerca de 400.000 toneladas, no continente asiático, a Turquia ocupa a terceira posição mundial, no continente americano a Argentina lidera com 140.000 toneladas (COI, 2013).

2.1. Composição da azeitona de mesa

As cultivares portuguesas com aptidão para conserva são Azeiteira, Negrinha de Freixo, Santulhana e Conserva de Elvas; as de dupla aptidão Galega, Cordovil, Carrasquenha, Bical, Redondal, Redondil e Verdeal (Peres, 2013). A cultivar Galega é a maioritariamente utilizada na preparação de azeitona de mesa para exportação. A azeitona é morfologicamente distinguida em endocarpo, mesocarpo e epicarpo (Figura 2). O endocarpo ou caroço contém no seu interior a semente, o mesocarpo é a polpa ou tecido carnoso e o epicarpo é a película exterior do fruto.

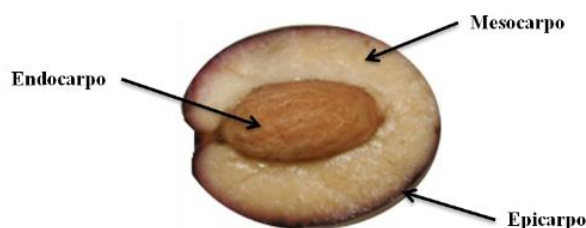


Figura 2 - Morfologia da azeitona.

(Fonte: Nogueira, 2012).

Segundo a NP-3034:2012, define-se azeitona de mesa como o “preparado de frutos sãos, das variedades cultivadas da oliveira (*Olea europaea* L.) que são escolhidas para a produção de azeitonas cujo volume, forma, relação polpa/caroço, características da polpa, gosto, firmeza e facilidade de desprendimento do caroço as tornam particularmente adequadas para processamento”. Pode dizer-se que não é qualquer azeitona que poderá destinar-se à produção de azeitona de mesa, pois para este fim é necessário cumprir todas as características mencionadas na norma. Mais ainda, deve apresentar-se sã, limpa, isenta de odor e sabor anormal, com maturação adequada, isenta de matérias estranhas e calibrada (Cabezas, 2011).

A qualidade da azeitona de mesa resulta da conjugação de uma série de fatores que influenciam as características organolépticas. Fatores como as condições climáticas, a cultivar, o estado de maturação (Conde et al., 2008), as condições à receção na fábrica, a higienização dos equipamentos, o controlo da fermentação são fundamentais para a obtenção de um produto final de qualidade.

A textura da polpa de azeitona é diretamente influenciada pelo conteúdo em polissacáridos e substâncias pécicas. Durante o processamento e armazenamento as

substâncias pécticas são hidrolisadas por ação enzimática, ocorrendo uma diminuição da firmeza do fruto (Bianchi, 2003).

Em relação à composição química da azeitona, podemos verificar na Tabela 1 as grandes variações encontradas na literatura, função das diversas cultivares existentes e de diversos fatores que influenciam o desenvolvimento dos frutos.

Tabela 1 - Composição nutricional de azeitona de mesa.

Parâmetro	Teor (%, m/m)	Fonte
Humidade	46,7 - 73,5	FAO, 1991 Guillen et al., 1991 Cardoso et al., 2010 Malheiro, 2010 Nogueira, 2012
Cinzas	0,8 - 7,1	FAO, 1991 Malheiro, 2010 Nogueira, 2012
Gordura (mo)	13,3 - 26,0	FAO, 1991 Guillen et al., 1991 Malheiro, 2010 Nogueira, 2012
Proteína	1,0 - 4,6	FAO, 1991 Conde et al., 2008 Malheiro, 2010 Nogueira, 2012
Fibra	3,3 - 7,3	FAO, 1991 Guillen et al., 1991
Cloretos	2,6 - 4,1	Ünal e Nergiz, 2003

Relativamente à composição lipídica, a maioria dos ácidos gordos presentes nas azeitonas são monoinsaturados, sendo a sua proporção regulada por fatores genéticos, pedológicos, bem como pelas condições ambientais. O ácido oleico (C18:1) é o ácido gordo mais abundante nas azeitonas de mesa, seguindo-se o ácido palmítico (C16:0) e o ácido linoleico (C18:2), sendo o teor em ácidos gordos saturados inferior a 15 % do total de lípidos (Conde et al., 2008). Ainda na fração lipídica é possível encontrar compostos com atividade antioxidante e vitamínica, que conferem proteção contra a peroxidação lipídica, como os tocoferóis, sendo o α -tocoferol o que se apresenta em maior quantidade (2,26-5,66 mg/kg) e a sua ação vitamínica está particularmente associada à proteção do organismo contra os radicais livres (Sousa et al., 2011).

O conteúdo em proteína é baixo, mas a qualidade nutricional é elevada devido à presença de aminoácidos essenciais; por seu turno, os ácidos aspártico e glutâmico

são os mais representativos (Lanza, 2012). A azeitona é considerada uma fonte de fibra de elevada digestibilidade. Dado que segundo o Regulamento CE 1924/2006 e o Regulamento UE 116/2010 é permitido introduzir nos rótulos dos alimentos que contêm pelo menos 3 g/100 g de produto, a mensagem “fonte de fibra”, na rotulagem de azeitona de mesa tal pode ser mencionado.

Em relação ao conteúdo em minerais, podem-se destacar o teor em cálcio (21,9-168,1 mg/100 g) e o teor em sódio (0,9-1,8 g/100 g) (Lanza, 2012). A presença de cloreto de sódio ocorre nas azeitonas após a sua imersão em salmoura e é essencial no processo de fermentação, no armazenamento e na embalagem, de forma a garantir a segurança alimentar e o sabor. Na salmoura de azeitona o teor de sal é um pouco mais elevado relativamente ao da polpa, função do tipo de processamento, podendo variar entre 3 e 12 % de NaCl (FAO, 1991; Ünal e Nergiz, 2003).

Outros compostos importantes da azeitona são os compostos fenólicos responsáveis pelo sabor amargo e pela atividade antioxidante. A maioria dos antioxidantes naturais são compostos de natureza fenólica. Os compostos fenólicos do tipo secoiridóide têm influência nas características sensoriais da azeitona, enquanto fruto fresco, mas também apresentam grande importância nas propriedades químicas, organolépticas e nutricionais da azeitona de mesa e do azeite (Rodríguez et al., 2009).

Também os ácidos orgânicos apresentam atividade metabólica e resultam da formação e transformação de outros compostos. No entanto, o teor em ácidos orgânicos, nomeadamente em ácidos oxálico, sucínico, málico e cítrico, pode variar entre 1,2 e 2,1 % do peso da polpa em matéria seca, e a sua concentração aumenta até à maturação, estabilizando quando esta é atingida. É de salientar que os ácidos láctico, acético e propiónico são os que predominam na salmoura de fermentação (Bianchi, 2003).

2.2. Processamento

Existem vários tipos de processamentos para a produção de azeitona de mesa; alguns são transversais em todos os países, mas existem outros processos característicos de uma dada região/país. Os tipos de processamento mais usuais em termos industriais são: a fermentação natural, o estilo Sevilhano (azeitona verde) e o estilo Californiano (azeitona oxidada).

2.2.1. Azeitona de fermentação natural

Para qualquer tipo de tratamento o processo de elaboração de azeitonas inicia-se sempre com a colheita dos frutos. Após esta etapa, e tendo como destino azeitona de mesa, os frutos devem ser transportados até à unidade fabril em caixas abertas, classificados e calibrados.

No processamento de fermentação natural as azeitonas devem ser colhidas a partir do início da maturação; frutos com um grau de maturação avançado perdem

características de textura (Gómez et al., 2006). A coloração das azeitonas pode variar desde o verde-escuro, ao avermelhado, violáceo e negro. As azeitonas são colocadas em salmoura (6-10 % NaCl, m/v), iniciando-se a fermentação natural, que é realizada por uma microflora composta essencialmente por bactérias e leveduras (Fernández et al., 1997). Em fermentações espontâneas, a microflora natural presente na cutícula do fruto é frequentemente imprevisível e incontrolável (Lanza, 2013).

Segundo Gómez et al. (2006), a concentração de NaCl condiciona a fermentação; se optarmos por uma fermentação realizada maioritariamente por leveduras, utiliza-se uma concentração de NaCl de 8-10 %, se pretendermos uma fermentação onde a microflora dominante seja lactobacilos a concentração de sal inicial deve ser 3-6 %.

Em conjunto com o pH, a concentração de NaCl influencia fortemente a qualidade das azeitonas de mesa, na medida em que controla o desenvolvimento de microrganismos. No entanto, nestes últimos anos os consumidores têm vindo a demonstrar preocupação com o consumo de alimentos com elevado teor de NaCl (Romeo, 2012). A possibilidade de substituição do NaCl por outros compostos como o CaCl₂ e KCl tem vindo a ser estudada, não alterando a fermentação e contribuindo beneficemente para as características organolépticas das azeitonas (Arroyo-López et al., 2008a; Romeo et al., 2009; Bautista-Gallego et al., 2010, 2011; Panagou et al., 2011).

A fermentação natural é um processo demorado, devido à lenta difusão dos compostos fermentescíveis como os açúcares, bem como à presença de oleuropeína e de outros compostos fenólicos (Sousa et al., 2006).

Durante a fermentação devem ser controlados alguns parâmetros como o pH, a concentração de sal, o arejamento e a quantidade e tipo de microrganismos. Em termos gerais (Tabela 2), os microrganismos predominantes são bacilos Gram-negativos, a maioria pertencente à família das Enterobactérias apenas no início da fermentação, e posteriormente leveduras e bactérias lácticas (FAO, 1991).

Tabela 2 - Microflora predominante nas diferentes fases de fermentação de azeitona de mesa.

Microrganismos	Fases da fermentação		Tipo de fermentação	Fonte
	Início	Final		
Enterobactérias	██████████		Natural Sevilhano	Gómez et al., 2008 Aponte et al., 2012 Randazzo et al., 2012 Romeo, 2012 Lanza, 2013
Bactérias lácticas		██████████	Natural Sevilhano	
Leveduras		██████████	Natural Sevilhano	
Microrganismos totais a 30°C	██████████		Natural Sevilhano Californiano	
<i>Staphylococcus</i> spp.	██████████		Sevilhano	

De facto os microrganismos têm um papel fundamental na produção de azeitonas de mesa, existem alguns grupos dominantes na fermentação e que contribuem para a segurança e *flavour* do produto final. Enterobactérias, *Propionibacteriaceae*, bactérias lácticas e leveduras são os mais relevantes, no entanto o desenvolvimento excessivo dos dois primeiros grupos é indesejável, pois a sua predominância pode promover a deterioração dos frutos e comprometer a segurança alimentar (Fernández et al., 1997). Se a diminuição do pH durante os primeiros dias de fermentação não for suficientemente rápida, as azeitonas podem sofrer deterioração, as Enterobactérias podem atingir densidades celulares elevadas e produzir dióxido de carbono e assim deteriorar as azeitonas que ficam com bolsas de ar na cutícula e/ou polpa da azeitona, fenómeno que é conhecido como “Alambrado” (Figura 3). Para reduzir este efeito é necessário que o depósito fermentador possua orifícios de injeção de ar, para que a fermentação não ocorra em meio anaeróbio e o pH baixo (<4,5) (Gómez et al., 2006; Kailis e Harris, 2007; Lanza, 2013).



Figura 3 - Azeitona com “Alambrado”.

(Fonte: Lanza, 2013).

As bactérias lácticas são essenciais devido à produção de ácido láctico e de compostos antimicrobianos (bacteriocinas). Sabe-se também que estas bactérias degradam a oleuropeína, contribuindo para o processo biológico de adoçamento dos frutos (Arroyo-López et al., 2012).

Relativamente às leveduras, a sua presença na salmoura pode ser desejável ou indesejável. Normalmente as bactérias lácticas predominam sobre as leveduras, contudo em alguns casos as leveduras podem dominar e dar origem a um produto final com um sabor mais suave; estas modificações estão associadas à produção de ácidos orgânicos e de compostos voláteis e à degradação de compostos fenólicos (Hurtado et al., 2012).

Existem estudos que demonstram os benefícios sensoriais da presença de leveduras, devido à produção de ácidos orgânicos e compostos voláteis; auxiliam na degradação de compostos fenólicos; atuam como agentes de biocontrolo devido à possível produção de etanol e glicoproteínas capazes de inibir o crescimento de bolores e outras espécies de leveduras não desejáveis; têm ação antioxidante devido à catalase que contribui para preservar as azeitonas contra a oxidação dos ácidos gordos insaturados e contra a formação de peróxidos (Arroyo-López et al., 2008b).

Foi demonstrado que as leveduras cooperam para o desenvolvimento de bactérias lácticas, segundo Segovia Bravo et al. (2007) uma co-cultura de *Saccharomyces cerevisiae* contribuiu para o crescimento de *Lactobacillus pentosus*.

Arroyo-López et al. (2008b) referem que relativamente à ação benéfica das leveduras no organismo humano têm atividade probiótica, conseguem biodegradar o ácido fólico, contribuem para a biofortificação com folatos e vitaminas, produzem compostos bioativos e são capazes de degradar micotoxinas.

Dada esta diversidade de microrganismos que se podem desenvolver durante o processamento e fermentação de azeitonas de mesa, a Tabela 3 resume a microflora desenvolvida em frutos e salmoura de azeitona de mesa.

Tabela 3 - Microflora em azeitona de mesa e em salmoura.

Microrganismos	log ₁₀ UFC/ (g ou ml)		Fonte
	Parte edível	Salmoura	
Bactérias lácticas	2,0 - 6,0	-	Pereira et al., 2008 Hurtado et al., 2012 Randazzo et al., 2012 Heperkan, 2013
Enterobactérias	2,6 - 3,4	2,0 - 4,0	
Leveduras	4,8 - 6,0	2,0 - 6,0	
Microrganismos totais a 30 °C	3,0 - 5,0	2,0 - 6,0	

Contudo, para todos os tipos de processamento de azeitona em que existe fermentação, esta é das etapas mais importantes, pois caso não exista controlo da fermentação podem ocorrer alterações indesejáveis nas características físicas e organolépticas.

As alterações mais frequentes nas salmouras de fermentação são as pútridas, butíricas e sapateira (Tabela 4). Estas alterações ou fermentações anormais reflectem-se na azeitona e devem-se à ausência do controlo das condições físico-químicas da salmoura de fermentação, que ocorrem em salmouras com pH superior a 4,5 e concentração de sal inferior a 8 %. Estas condições promovem o desenvolvimento de Enterobactérias, responsáveis pelo amolecimento da polpa (FAO, 1991). Algumas estirpes de leveduras, devido às suas enzimas com atividade pectolítica, vão degradar as substâncias pécticas do fruto e causar amolecimento. Por outro lado, um pH elevado também pode contribuir para o desenvolvimento de *Clostridium*, o que pode resultar uma fermentação anormal como a alteração pútrida (cheiro de matéria orgânica em decomposição) ou butírica (lembra o cheiro do óleo de rícino) (Lanza, 2013).

Tabela 4 - Principais alterações microbianas em azeitona de mesa.

Fermentação anormal	Microrganismos		Fonte
Alambrado	<i>Aeromonas</i> sp. <i>Citrobacter</i> sp. <i>Clostridium butyricum</i> <i>Enterobacter</i> sp. <i>Escherichia</i> sp.	<i>Klebsiella</i> sp. <i>Pichia anomala</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces kluyveri</i> <i>Saccharomyces oleaginosus</i>	FAO, 1991 Arroyo-López et al., 2012 Lanza, 2013
Amolecimento	<i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp.	<i>Candida boidinii</i> <i>Pichia anomala</i> <i>Pichia kudriavzevii</i> <i>Pichia manshurica</i> <i>Rhodotorula minuta</i> <i>Rhodotorula rubra</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
Avinhado-avinagrado	Bactérias acéticas Leveduras de fermentação alcoólica		
Bolor	<i>Alternaria alternata</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium aurantiogriseum</i> <i>Penicillium crustosum</i> <i>Penicillium digitatum</i>	<i>Penicillium viridicatum</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium herquei</i> <i>Penicillium roquefortii</i> <i>Penicillium simplicissimum</i>	
Butírica	<i>Clostridium acetobutylicum</i> <i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Clostridium butyricum</i> <i>Clostridium fallax</i>	
Pútrida	<i>Clostridium butyricum</i> <i>Desulfovibrio aestuarii</i>		
Sapateira	<i>Clostridium sporogenes</i> <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Propionibacterium pentosaceum</i> <i>Propionibacterium zeae</i>		

Segundo Fernández et al. (1997) as alterações butíricas normalmente surgem no início da fermentação e são detetadas pelo mau cheiro e odor a ranço. No caso da sapateira o cheiro é mais suave mas muito penetrante. É relatado que alguns consumidores consideram o odor a sapateira como um atributo de qualidade. Microrganismos dos géneros *Clostridium* e *Propionibacterium* e microrganismos sulfito redutores são os principais responsáveis pelo aparecimento de sapateira.

Estas alterações que ocorrem durante a fermentação devem ser identificadas na prova organolética de azeitona de mesa, de acordo com a folha de perfil desenvolvida pelo Conselho Oleícola Internacional (COI/OT/MO/Doc.No1).

Outro aspeto que se deve ter em conta no processamento de azeitona de mesa é a salmoura de acondicionamento. Entenda-se por salmoura de acondicionamento o líquido de cobertura das azeitonas, que consiste numa solução de sal de grau alimentar dissolvido em água potável, podendo ser adicionadas outras substâncias autorizadas como o caso de açúcares, vinagre, azeite, especiarias, ingredientes comestíveis, aditivos autorizados, incluindo aromatizantes. A salmoura deve estar limpa, isenta de odores ou matérias estranhas não autorizadas (NP 3034:2012).

2.2.2. Azeitona verde ou estilo Sevilhano

As azeitonas que se destinam ao estilo Sevilhano devem ser colhidas com uma coloração verde a verde-palha. São tratadas com solução de hidróxido de sódio (1,2-2,6 % NaOH, m/v) (FAO, 1991). Esta etapa tem como principais objetivos aumentar a permeabilidade da parede celular e hidrolisar a oleuropeína. Este tratamento prolonga-se até que o NaOH penetre cerca de dois terços da polpa, e a sua duração depende da temperatura, da maturação dos frutos e da cultivar. Após este tratamento as azeitonas são lavadas várias vezes para remover o excesso de NaOH. Posteriormente são colocadas em salmoura (6-12 % de NaCl), onde ocorrerá fermentação láctica (Gómez et al., 2006; Arroyo-López et al., 2008b; Cabezas, 2011; Lanza, 2013).

A fermentação pode ser dividida em quatro fases caracterizadas pelo desenvolvimento de diferentes populações microbianas (Montaño et al., 2003). Na primeira fase as principais espécies presentes são bactérias Gram-negativas, na sua maioria pertencentes à família das Enterobactérias. A segunda fase começa normalmente quando o pH baixa para 6 e dura cerca de duas semanas, havendo um crescimento progressivo de bactérias lácticas e de leveduras e uma diminuição gradual de bactérias Gram-negativas (Lanza, 2013). Na terceira fase ocorre um abundante crescimento de lactobacilos, principalmente *Lactobacillus plantarum* tornando-se a espécie dominante na fermentação (Fernández et al., 1997). A quarta fase começa quando maioria dos substratos fermentescíveis se esgota, ocorrendo diminuição do ácido láctico e um ligeiro aumento do pH (Lanza, 2013).

A população microbiana existente na salmoura também é influenciada pela microflora natural presente nas azeitonas, por fatores intrínsecos do fruto como o pH, a atividade da água e substâncias com atividade antimicrobiana, como a oleuropeína, e por fatores extrínsecos ao fruto, como a temperatura, a disponibilidade de oxigénio e a concentração de sal na salmoura (Hurtado et al., 2008).

Uma vez concluída a fermentação, as azeitonas são novamente selecionadas e acondicionadas em embalagem adequada. A sua preservação em embalagem pode consistir num tratamento térmico (Fernández et al., 1997; Lanza, 2013).

2.2.3. Azeitona preta oxidada ou estilo Californiano

No que diz respeito ao estilo Californiano as azeitonas a processar podem apresentar coloração de verde a negro. Antes do processamento propriamente dito, as azeitonas podem ser conservadas em meio ácido, com adição de ácido acético (0,5-3 %) ou em salmoura (5-7 % de NaCl) onde se deve controlar o pH em torno de 4,3 em condições anaeróbias (FAO, 1991).

Na etapa de oxidação os frutos são imersos em sucessivas soluções alcalinas (1-4 % de NaOH), com arejamento do meio por um período que depende de vários fatores como o calibre do fruto, a cultivar, a maturação e a temperatura. A penetração de NaOH na polpa do fruto deve ser controlada de forma a atingir a região do caroço. Após esta operação as azeitonas são lavadas em várias águas para remover o excesso de NaOH e baixar o pH da polpa para cerca de 8, são adicionados sais de ferro como o gluconato ferroso ou o lactato ferroso, cujo objetivo é manter uma cor brilhante e negra do fruto (Cabezas, 2011). As azeitonas são acondicionadas em embalagens; o produto final normalmente apresenta uma baixa acidez, pelo que também pode ser conservado através de um tratamento térmico.

Os diferentes tipos de tratamento têm por objetivo produzir no fruto uma série de transformações, consequência de processos físico-químicos e microbiológicos, que o fazem adquirir as características organolépticas, cor, sabor e textura tão peculiares, permitindo simultaneamente a sua conservação por um período prolongado, em condições ótimas para posterior comercialização (Bianchi, 2003). Independentemente do tipo de processamento adotado, este deve ser realizado respeitando o código de boas práticas sanitárias, de modo a garantir características químicas e microbiológicas adequadas (Dabbou et al., 2012). De forma resumida, na Figura 4 apresentam-se os três tipos de processamento mais utilizados.



Figura 4 - Principais tipos de processamento de azeitona de mesa.

2.3. Produtos do olival e inovação

A indústria alimentar é um sistema dinâmico que necessita de inovar nos produtos que apresenta no mercado, tendo em conta sempre as exigências dos consumidores.

A inovação pode estar em qualquer etapa de processamento da azeitona, pode ir desde a inovação em processos de colheita do fruto até à sua apresentação ao consumidor, pode ser um novo produto, uma nova embalagem e alteração de um ingrediente. É importante que o consumidor se aperceba que o produto é novo ou que foi alterado algum componente.

O desenvolvimento de novos produtos a partir, maioritariamente, de polpa de azeitona fermentada com adição de aromatizantes naturais ou outros ingredientes, já é uma realidade concretizada na produção de pastas de azeitona. A diversificação de produtos tendo como base a azeitona de mesa é infindável e vai até onde a imaginação nos pode transportar, no entanto já existem no mercado produtos de azeitona como pastas, molhos, compotas, doces, bombons, aperitivos, licores, massas

alimentícias que transmitem uma forma inovadora da possível utilização das azeitonas. Relativamente às pastas de azeitona apresentam-se na Tabela 5 as características físico-químicas de algumas formulações de pastas de azeitona, já existentes no mercado e outras desenvolvidas academicamente. Podemos verificar que nestas pastas os componentes maioritários são a humidade, a gordura e o sal. Para este último componente torna-se pertinente desenvolver pastas com teores de sal menores, de acordo com as recomendações da OMS, a ingestão diária de sal não deve ser superior a 5 g (WHO/FAO, 2003).

Tabela 5 - Composição nutricional de pastas de azeitona de mesa.

Parâmetro	Teor (% m/m)		Fonte
	Pastas desenvolvidas	Pastas comerciais	
Humidade	66,7 - 72,3	Nd	Freire, 2008 Rodrigues, 2012
Cinzas	2,4 - 4,0	2,2 - 6,6	
Gordura (m.o.)	13,5 - 21,0	10,6 - 26,7	
Proteína	2,4 - 3,8	Nd	
Cloretos	1,5 - 2,5	2,0 - 5,8	

Nd- Dados não disponíveis.

Relativamente a outros novos produtos, como o caso de alimentos probióticos funcionais, o consumo tem aumentado nas últimas décadas, assim como a consciência dos consumidores sobre os seus efeitos sobre a saúde. Vários estudos foram realizados com o objetivo de obter um produto probiótico com azeitonas de mesa, mais concretamente “azeitonas de mesa probióticas”, de que se destacam os resultados do projeto *Probiolives* (Probiolives, 2014). De Bellis et al. (2010) demonstraram que a inoculação de *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 na salmoura de fermentação de azeitonas (8 % de NaCl) foi bem-sucedida pois a estirpe colonizou a superfície das azeitonas, mantendo-se nelas durante vários meses.

3. Tremçoço

O género *Lupinus* pertence à sub-família da *Papilionaceae* também conhecida como *Faboideae*, que por sua vez deriva da família *Leguminosae*, à semelhança da soja e do amendoim. Existem mais de 450 espécies de tremçoço, tendo sido cultivadas desde há cerca de 4000 anos. A espécie mais cultivada na zona do Mediterrâneo é o *Lupinus albus* (Jappe e Vieths, 2010). No entanto, existem outras espécies de tremçoço cultivadas noutros pontos do mundo como *Lupinus luteus* na Europa Central, *Lupinus angustifolius* na Austrália e *Lupinus mutabilis* na América do Sul.

Segundo os dados apresentados pela FAO (2011), a produção de tremçoço a nível mundial em 2011 foi de 994.000 toneladas, sendo os maiores produtores a Alemanha, a Polónia, a Austrália, a África do Sul, a América do Sul e os países do Mediterrâneo.

O tremçoço do ponto de vista agrícola e em termos económicos apresenta um grande valor. É uma planta que cresce em diferentes solos e climas, não sendo considerada uma planta exigente em termos de cultivo (Sujak et al., 2005). A produção de tremçoço tem vindo a aumentar, devido não só à facilidade de cultivo, mas também ao seu valor nutricional. Comparativamente com outras leguminosas (Figura 5), como a soja, o tremçoço apresenta um teor de fibra mais elevado e um teor lipídico mais baixo (18 %, m/m) (Carvajal-Larenas et al., 2013).

O interesse por este vegetal prende-se também com benefícios para a saúde, designadamente na prevenção da obesidade, da diabetes e das doenças cardiovasculares (Magni et al., 2004; Duranti, 2006; Sipsas, 2008a).

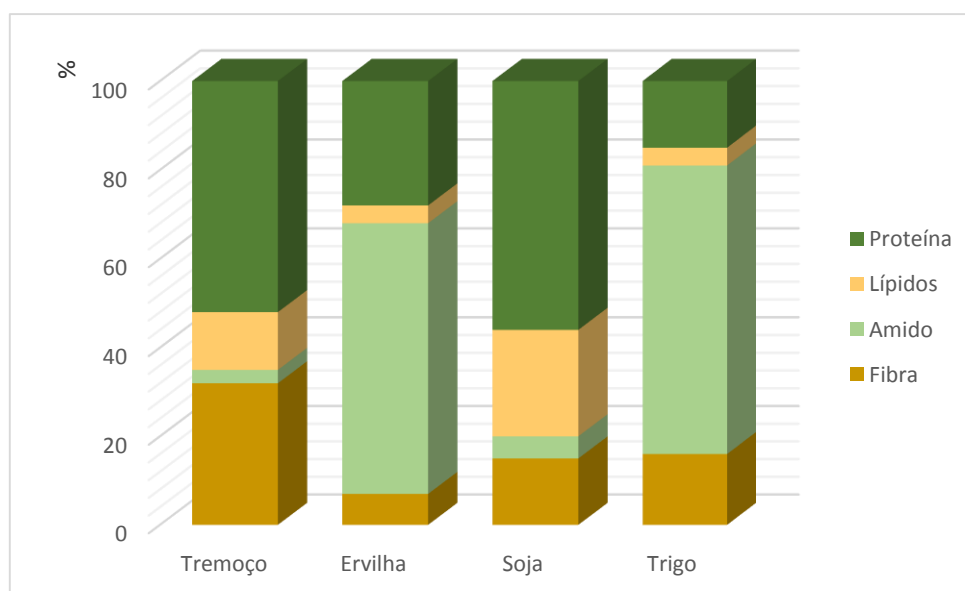


Figura 5 - Composição nutricional do tremçoço versus ervilha, soja e trigo.

(Fonte: Adaptado de Sipsas, 2014).

Dependendo da espécie, o tremço contém alcalóides do grupo quinolizidina em maior ou menor quantidade, conferindo amargor e toxicidade. O consumo de tremços contendo níveis elevados de alcalóides pode originar espasmos, falta de ar, sonolência e eventualmente a morte devido a paragem respiratória (Jappe e Vieths, 2010).

Por outro lado, a presença de alcalóides constitui uma vantagem na produção de pesticidas (Sujak et al., 2005). Outra vertente do uso do tremço está relacionada com a cosmética devido aos seus compostos bioativos, a α -lupalina e o colagénio, com efeitos antirrugas, de proteção solar e de reestruturação da pele (Sipsas, 2008b).

Para além das possíveis utilizações do tremço já referidas, acrescentar que esta leguminosa é utilizada para a alimentação animal.

3.1. Composição do tremço

A Figura 6 resume a composição do tremço da espécie *Lupinus angustifolius*.

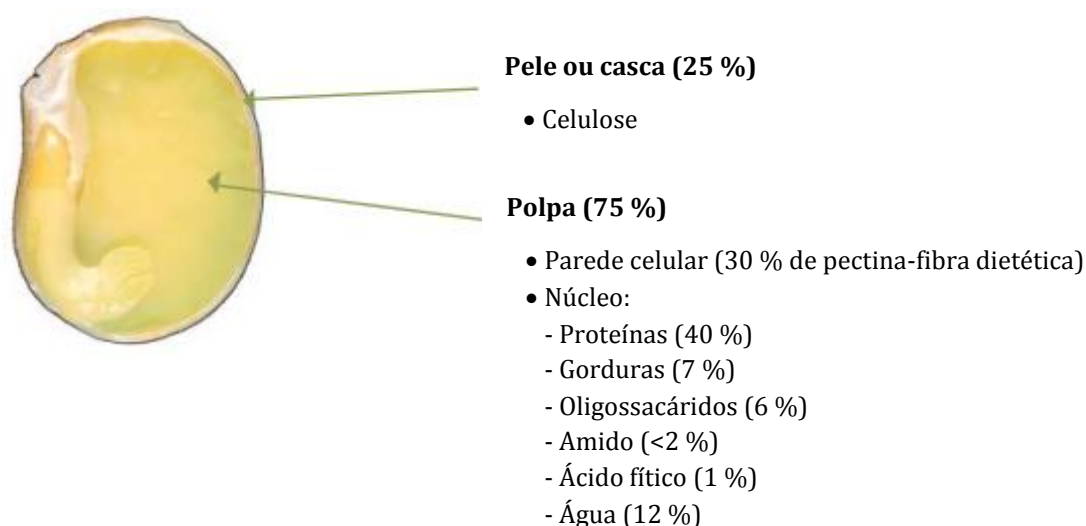


Figura 6 - Componentes maioritários do tremço.

(Fonte: Adaptado de Sipsas, 2008a).

O tremço também contém carotenóides (beta caroteno, luteína e zeaxantina), tocoferóis, baixo teor de lupeol, alto teor em ácido oleico, álcoois triterpénicos, que melhora a reconstituição dos tecidos e inibe células de melanoma (Sipsas, 2008a). Não contém lactose nem glúten, sendo aconselhado para substituir outros cereais, como o trigo, na dieta de indivíduos intolerantes a esses componentes (Jappe e Vieths, 2010). Em termos químicos o tremço pode apresentar pequenas variações, de espécie para espécie (Tabela 6).

Tabela 6 - Composição nutricional de várias espécies de tremoço, após fermentação, sem colocação em salmoura.

Espécie	Cinzas (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Fibra (%)	Matéria seca (%)	Fontes
<i>Lupinus albus</i>	3,9	11,5	33,6-36,4	14,4	90,4	Schoeneberger et al., 1982 Sujak et al., 2005 Szczapa et al., 2006 Jiménez-Martínez et al., 2009
<i>Lupinus angustifolius</i>	3,7	7,1	29,1-34	12,6	90,7	
<i>Lupinus luteus</i>	4,5	5,8	39,0-46,0	12,5	91,5	
<i>Lupinus mutabilis</i>	2,5	-	55,9	7,1	93,6	
<i>Lupinus campestris</i>	2,4	13,2	50,5	10,2	92,4	

Apesar do tremoço ser considerado um bom substituto de outros vegetais, também foram reportados casos de alergenicidade (Quaresma et al., 2007; Jappe e Vieths, 2010). A questão da rotulagem tem vindo a ganhar elevada importância na indústria alimentar não só por questões legais, como também para evitar situações graves na saúde do consumidor. Como iremos ver no subcapítulo 3.3. surgem cada vez mais novos produtos e muitos deles apenas sofrem alterações nos ingredientes. Essas alterações devem ser sempre comunicadas ao consumidor, quer através da rotulagem ou através de publicidade alertando para o facto de que essa substituição pode levar a que o consumidor habitual não possa ingerir tal alimento, por ser alérgico a esse substituto.

Dadas estas preocupações é importante que se definam princípios e que estes sejam cumpridos pelos produtores. O Regulamento (UE) N.º1169/2011, de 25 de Outubro de 2011 veio, entre outros aspetos, definir a obrigatoriedade da menção de componentes alergénicos nos alimentos e também a apresentação da informação nutricional no rótulo.

3.2. Processamento

O tremoço é consumido após remoção do amargor resultante da diminuição dos alcalóides. Cada indústria tem os seus processos definidos em termos de duração e tipo de tratamento, que também variam consoante a espécie de tremoço e a temperatura ambiente. Depois da imersão em água e cozimento das sementes de tremoço, os alcalóides podem ser removidos usando tratamento aquoso, biológico ou químico.

A imersão das sementes em água tem como objetivo incrementar o conteúdo de água na semente e assegurar uma maior facilidade na remoção do amargor em fases

posteriores; o cozimento é uma etapa fundamental pois inativa a germinação das sementes e as enzimas, reduz a carga microbiana e aumenta a permeabilidade celular.

O tratamento aquoso, possivelmente o mais utilizado em termos industriais, consiste na lavagem com várias mudanças de água por dia até se atingir as características organolépticas pretendidas, isto é, a remoção total do amargor do tremoço. Este tratamento, tal como o tratamento químico, é aconselhado para sementes de tremoço com um conteúdo de alcalóides até 4,2 % (m/m), embora este processo ainda não seja totalmente eficiente devido ao elevado consumo de água. O tratamento aquoso é considerado mais vantajoso em detrimento dos tratamentos biológico e químico, por não ser tão dispendioso e por não ter resíduos químicos, respetivamente (Carvajal-Larenas et al., 2013).

Experiências realizadas por Carvajal-Larenas et al. (2013) demonstram que a otimização do tratamento aquoso do tremoço pode levar a uma maior eficiência na utilização de água e na duração do tratamento, sendo as condições ótimas 18 horas de imersão em água, 1 hora de cozimento, 3 mudanças de água por dia e 22 horas de agitação por dia.

O tratamento biológico pode basear-se na digestão biológica e/ou a fermentação, restringindo-o a tremoços que contêm um teor de alcalóides até 1,1 % (m/m). Tem um consumo de energia considerável e uma duração de 5 dias. Neste tipo de tratamento pode incluir-se ainda a germinação das sementes de tremoço, normalmente sem luz e a uma temperatura de 28 °C durante 48 horas (Turgo et al., 2000).

O tratamento químico é adequado para sementes de tremoço com um conteúdo em alcalóides até 4,2 % (m/m), mas acarreta maiores perdas nutricionais comparando com os outros tipos de tratamento. Este tratamento pode ser de natureza ácida, com a utilização de ácido cítrico, ou alcalina, com o uso de bicarbonato de sódio (Jiménez-Martínez et al., 2009).

Após um destes tratamentos os tremoços são acondicionados na embalagem com salmoura (8-12 % de NaCl), podendo ser adicionados alguns conservantes e reguladores de acidez e/ou ser aplicado um tratamento térmico.

3.3. Produtos derivados do tremoço e inovação

A utilização do tremoço em formulações de produtos, aos quais não estamos familiarizados, é uma inovação recente no nosso país. No caso de países que têm o cultivo e o consumo de tremoço enraizado durante anos, como sucede na Austrália, a utilização em pratos gastronómicos e em outras formulações de alimentos já é considerada vulgar desde 2001 (Sipsas, 2008a).

Anteriormente foram referidas as propriedades nutricionais que o tremoço contém, mas esta leguminosa não é só apreciada por esses motivos mas também pelas

características de textura que confere a produtos de padaria e a produtos cárneos (Jappe e Vieths, 2010).

Existem várias empresas que produzem ingredientes naturais para alimentos, os quais farinha de tremoço destinada principalmente para incorporação em alimentos cárneos como salsichas, produtos de padaria, doces, gelados e molhos. A farinha de tremoço não confere cor nem cheiro e tem uma elevada capacidade de retenção de água. A farinha de tremoço pode ser utilizada como um hidrocolóide, aportando propriedades idênticas às da pectina. Os hidrocolóides podem ser usados como substituintes de gordura numa ampla gama de produtos alimentares, reproduzindo na boca uma textura cremosa, sem adição de calorias. Nos produtos congelados têm uma função adicional, pois reduzem a velocidade de formação de cristais (Sipsas, 2008b).

Jimenez-Martínez et al. (2003) prepararam iogurte utilizando “leite” de tremoço e este produto foi aceite por um painel de consumidores, apresentando resultados de aceitação similares a um iogurte de leite de vaca. Foi também utilizada farinha de tremoço em salsichas tipo *Frankfurt* com resultados aceitáveis em termos de processamento e sensoriais (Alamanou et al., 1996).

Devido ao elevado teor em fibra, o tremoço contribui para uma melhoria da composição nutricional do produto ao qual é adicionado (Sipsas, 2008b); no caso de ser adicionado a pastas de barrar acarreta um aumento significativo do teor de fibra e de proteína.

4. Material e métodos

4.1. Descrição das etapas de desenvolvimento das pastas

O desenvolvimento de pastas de azeitona e tremço baseou-se em diversas metodologias de análise sensorial. Numa primeira fase recorreu-se a painéis de consumidores com o objetivo de identificar qual a preferência do consumidor e consequentemente fornecer a indicação da pasta a desenvolver. Posteriormente recorreu-se a painéis de provadores semi-treinados com o objetivo de identificar quais as melhorias a efetuar na pasta através de análise descritiva e finalmente verificar a aceitação da pasta pelos consumidores. O delineamento pode-se dividir em 7 etapas, tendo sempre em conta os resultados obtidos na anterior. Na Figura 7 descrevem-se as diferentes etapas de formulação das pastas.

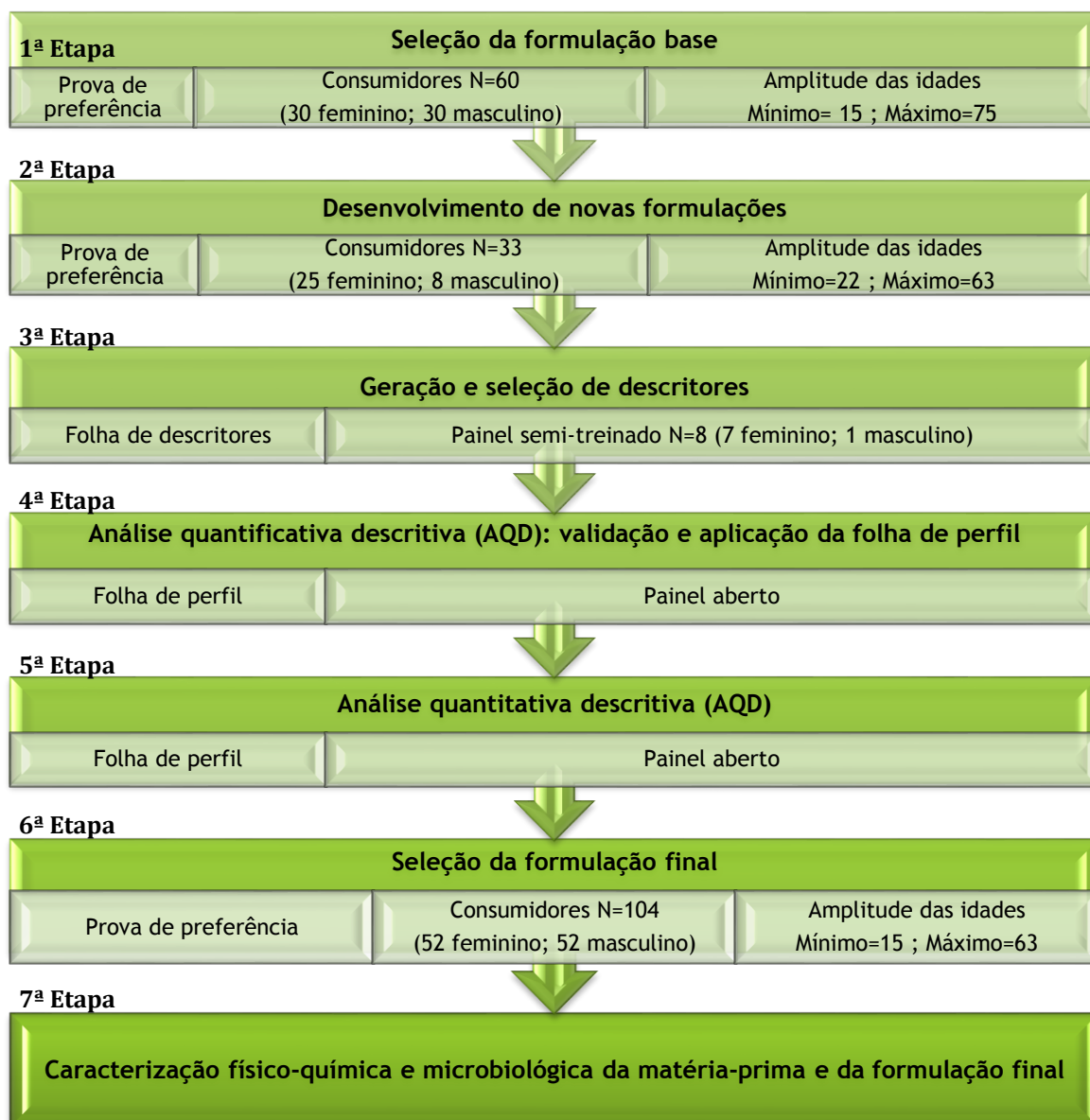


Figura 7 - Desenvolvimento das pastas de azeitona e tremço.

4.2. Preparação das pastas

A matéria-prima utilizada para a preparação das pastas foi azeitona de mesa de fermentação natural *Galega Vulgar* e tremoço *Lupinus albus*, ambos os produtos foram utilizados após permanecerem em salmoura. A salmoura da azeitona é basicamente composta por água e sal (6 % de NaCl), com pH de 4. A salmoura do tremoço é composta por água, sal (11 % de NaCl), ácido láctico (4,5 g/L), benzoato de sódio (2,7 g/L), sorbato de potássio (0,9 g/L) e ácido cítrico (1,3 g/L), com pH de 3. As matérias-primas foram produzidas e embaladas na unidade industrial.

Na **Seleção da formulação base** foram preparadas pastas de azeitona de mesa e tremoço, e pastas apenas com tremoço. Nestas primeiras formulações as azeitonas de mesa foram descaroadas e trituradas até se obter uma consistência homogênea, assim como aos tremoços foi-lhes retirada a casca e foram triturados com adição da salmoura de tremoço. A utilização da salmoura facilitou a trituração do tremoço e contribuiu para a conservação da pasta.

Na Tabela 7 estão apresentadas as formulações iniciais das pastas da primeira etapa.

Tabela 7 - Formulações das pastas para seleção da formulação base.

Formulação	Ingredientes (% m/m)				
	Azeitona	Tremoço	Salmoura de tremoço	Outros	
T _{orégão}	-	60,5	30,3	Azeite	9,1
				Orégãos	0,1
T _{tomilho}	-	67,0	32,9	Tomilho	0,1
T _{limão}	-	62,5	31,2	Limão	6,3
AT _(68/23)	68,0	23,0	9,0	-	-

As pastas foram submetidas a tratamento térmico numa panela com água a ferver durante 10 minutos.

No **Desenvolvimento de novas formulações** a elaboração das pastas de azeitona de mesa e tremoço foi realizada de modo semelhante à primeira etapa. No entanto, para reduzir o teor de sal das azeitonas, a salmoura inicial foi substituída por água, cerca de 24 horas antes da elaboração das pastas. De seguida, foram descaroadas e trituradas até se obter uma consistência homogênea. Nesta etapa os tremoços foram triturados com casca pois para além de enriquecer nutricionalmente a pasta, a sua remoção dispndia bastante tempo na preparação, o que em termos industriais

aumentaria o custo do produto. Considerando ainda, que o custo do tremoço é mais baixo do que o da azeitona de mesa, tentou-se nesta fase adicionar maior quantidade de tremoço.

Na Tabela 8 estão apresentadas as pastas elaboradas na segunda etapa, sendo que a pasta AT_(68/23) manteve-se por seleção da etapa anterior.

Tabela 8 - Formulações de novas pastas desenvolvidas.

Formulação	Ingredientes (% m/m)				
	Azeitona	Tremoço	Salmoura de tremoço	Outros	
AT _(68/23)	68,0	23,0	9,0	-	-
AT _(45/45)	45,5	45,5	9,0	-	-
AT _(23/68)	23,0	68,0	9,0	-	-
T _{limão}	-	79,0	20,0	Limão+raspa	1,0

O tratamento térmico das pastas foi efetuado segundo a técnica referida anteriormente.

A terceira etapa - **Geração e seleção de descritores** - irá ser abordada no subcapítulo Avaliação sensorial.

Na quarta etapa - **Análise quantitativa descritiva: validação e aplicação da folha de perfil** - adicionaram-se aromas à formulação base selecionada (AT_{68/23}), fornecidos pela empresa *Especialidades Aromáticas S.L.* identificados na Tabela 9.

A preparação das pastas foi semelhante ao método da segunda fase. Após a obtenção da pasta de azeitona de mesa e de tremoço, procedeu-se à homogeneização com a adição do aroma pretendido (1 %). Nesta etapa, para além das formulações com adição de aroma, foi apresentada a formulação AT_(68/23) sem adição de aroma.

Tabela 9 - Aromas adicionados à pasta de azeitona e tremçoço.

Aroma adicionado à formulação AT _{68/23}		Formulação
Designação	Referência (Especialidades Aromáticas S.L.)	
Alho	Ajo Especiroma 436/1	AT _{alho}
Caranguejo	Cangrejo Especiroma 436/2	AT _{caranguejo}
Cebola	Cebolla Especiroma 364/2	AT _{cebola}
Limão	Limon Especiroma 272/2	AT _{limão}
Louro	Laurel Especiroma 272/1	AT _{louro}
Orégão	Oregano Especiroma 227/1	AT _{orégão}
Pimento vermelho	Pimiento rojo Especiroma 436/2	AT _{pimento}
Tomilho	Tomillo Especiroma 227/2	AT _{tomilho}

Na quinta etapa para avaliação sensorial para a análise quantitativa descritiva - **Análise quantitativa descritiva** - as pastas elaboradas (Tabela 10) são semelhantes às pastas apresentadas na fase anterior e de acordo com os resultados obtidos houve necessidade de reduzir a quantidade de aroma adicionado (de 1 % para 0,5 %). A formulação da amostra AT_{agridoce} é uma exceção e surgiu por debate aberto do grupo de provadores.

Tabela 10 - Formulações das pastas para seleção da formulação final.

Formulação	Ingredientes (% m/m)			
	Azeitona	Tremçoço	Salmoura de tremçoço	Aroma
AT _{alho}	68,0	23,0	8,5	0,5
AT _{louro}	68,0	23,0	8,5	0,5
AT _{pimento}	68,0	23,0	8,5	0,5
AT _{limão}	68,0	23,0	8,5	0,5
AT _{agridoce*}	68,0	23,0	8,0	-

*Adição de molho agridoce (1 %)

Na sexta etapa - **Seleção da formulação final** - foram elaboradas as pastas selecionadas na etapa anterior, nomeadamente AT_{alho}, AT_{louro}, AT_{pimento} e AT_{limão}.

A sétima etapa - **Caracterização físico-química e microbiológica da matéria-prima e da formulação final** - irá ser abordada nos subcapítulos Análises físico-químicas e Análises microbiológicas.

4.3. Avaliação sensorial

A avaliação sensorial das diferentes pastas de azeitona e tremço decorreram de acordo com as etapas já identificadas. Todas as sessões de análise sensorial decorreram tentando cumprir os requisitos da NP 4258:1993 referentes às condições da sala de prova (Figura 8).

Segundo a NP 4258:1993, a sala de prova deve ser um local agradável e de fácil acesso, com temperatura ambiente de 20 ± 2 °C, iluminação adequada, disponibilidade de material e de equipamento necessário para as provas. As cabines dos provadores, individualizadas, devem ser uniformes e com espaço suficiente (para amostras, folha de prova), construídas com materiais laváveis em cores claras e equipadas com cadeiras confortáveis e água potável corrente.

Cada etapa referida anteriormente teve como base a realização de provas de análise sensorial, que auxiliaram no delineamento do trabalho. Como tal podemos dividir a avaliação sensorial em provas de aceitação e de preferência por painel de consumidores e em provas de análise quantitativa descritiva por painel semi-treinado (painel com conhecimentos de análise sensorial em produtos de azeitona).

4.3.1. Provas de aceitação e preferência

As provas de aceitação e preferência realizadas pelos consumidores ocorreram na **seleção da formulação base**, no **desenvolvimento de novas formulações** e na **seleção da formulação final**.

Para a **seleção da formulação base** foi realizada uma prova de aceitação e de preferência global para consumidores. A prova decorreu na Feira dos Sabores em Castelo Branco em Junho de 2013, solicitando a 60 consumidores, 50 % de cada sexo, com idades compreendidas entre 15 e 75 anos, que provassem 4 formulações (Tabela 7) e que preenchessem a folha de prova apresentada no Anexo A. As amostras foram fornecidas em pequenas torradas num prato, o qual continha a codificação das amostras, um copo de água, um guardanapo e a folha de prova. A primeira questão interrogava o consumidor se gostou ou não da amostra, e de seguida foi solicitado que ordenasse as amostras segundo a sua preferência global. Por fim, questionou-se ao consumidor o que é que gostou mais e menos na amostra que elegera como preferida, por forma a obter informação para melhorar as formulações. Antes dos consumidores realizarem a prova, foi-lhes explicado o método correto de proceder.

O **desenvolvimento de novas formulações** decorreu na sala de análise sensorial da ESACB, as pastas foram avaliadas por um painel de 33 consumidores, 76 % do sexo

feminino e 24 % do sexo masculino, com idades compreendidas entre 22 e 63 anos. As formulações provadas encontram-se na Tabela 8. Foi distribuído aos consumidores a folha de prova, um copo de água, um guardanapo, uma pequena colher e as amostras colocaram-se dentro de um pequeno copo de plástico codificado.

A **seleção da formulação final** foi efetuada por um painel de consumidores. As provas decorreram em dois dias, o primeiro dia na sala de análise sensorial da ESACB e o segundo dia no laboratório de análise sensorial da associação CATAA, recorrendo a 104 consumidores, 50 % do sexo feminino e 50 % do sexo masculino, com idades compreendidas entre 15 e 63 anos. Para as provas, foram dados ao provador a folha de prova, um copo de água, um guardanapo e as amostras barradas em pequenas torradas num prato codificado com as diferentes amostras. A codificação das amostras foi baseada aleatoriamente numa letra maiúscula e três números, tal como nas restantes provas.



Figura 8 - Salas e provas de análise sensorial.

4.3.2. Análise descritiva

A análise descritiva utilizada neste trabalho consistiu na realização de uma sessão de geração de descritores por oito provadores das pastas avaliadas, utilizando uma folha geração de descritores (Anexo B), onde foi solicitado aos provadores o registo de descritores relativamente à textura, gosto, sensações trigeminais e odor retronasal. De seguida, procedeu-se à elaboração de uma lista de descritores. De acordo com a norma ISO 11035:1994, após a identificação do maior número de descritores, efetuou-se uma redução preliminar qualitativa, eliminando descritores hedónicos, quantitativos, redundantes, plural/singular, feminino/masculino e irrelevantes (referidos por um só provador). Os descritores foram selecionados eliminando os termos hedónicos como “agradável”, “bom”; termos quantitativos como “muito bom”, “forte”, “fraco”; termos alusivos ao próprio produto e termos irrelevantes como por exemplo “ácido” ao descrever um odor.

Os descritores selecionados permitiram a elaboração da folha de perfil (Anexo C), utilizada na Análise Quantitativa Descritiva (AQD). Nesta folha foi apresentada uma escala não estruturada de 9 cm ancorada nos pontos extremos, à esquerda pelo termo “baixa” e à direita pelo termo “elevada”. Na quarta e quinta etapa as pastas foram provadas por 6 provadores semi-treinados em painel aberto, na sala de análise sensorial da ESACB, e foram apresentadas dentro de um copo de plástico codificado com o código da amostra, acompanhadas por um copo de água, guardanapo, torradas para barrar, colheres e folhas de perfil.

4.4. Análises físico-químicas

No desenvolvimento de um produto é importante não só caracterizar o produto em si, como também caracterizar a matéria-prima de que lhe deu origem. Neste subcapítulo descrevem-se os métodos utilizados nas determinações físico-químicas que se efetuaram à matéria-prima utilizada para a formulação das pastas e à pasta final. Realizaram-se também análises físico-químicas a azeitonas *Galega Vulgar* e *Cobrançosa* frescas, isto é, sem colocação em salmoura. Escolheram-se amostras aleatórias de azeitonas em estados de maturação diferente de forma a avaliar diferentes matérias-primas que cheguem à fábrica. A escolha da cultivar *Galega Vulgar* prende-se com a sua utilização para a formulação das pastas; a da cultivar *Cobrançosa* por indicação fabril, já que atualmente é considerada como tendo boas características para a produção de azeitona de mesa.

Para as determinações físico-químicas as azeitonas (sem caroço) e tremoços foram previamente triturados até se obter uma pasta homogénea. As amostras referentes à matéria-prima foram 15, sendo que 2 amostras eram de tremoço, 2 de azeitona de mesa e as restantes 11 amostras de azeitona fresca. Das 11 amostras de azeitona fresca, 5 correspondiam à cultivar *Galega Vulgar* e 6 à cultivar *Cobrançosa*. Todas as amostras foram avaliadas em duplicado.

As determinações físico-químicas foram efetuadas nos laboratórios de Química, Nutrição e Tecnologia e Segurança Alimentar da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, sendo realizadas as seguintes determinações:

a) Teor de humidade

O teor de humidade foi determinado por perda de peso em estufa a 102 ± 3 °C seguindo a metodologia da *AOAC 925.40* (1995). O teor de humidade foi expresso em percentagem e calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{\text{massa da amostra} - \text{massa da amostra seca}}{\text{massa da amostra}}$$

b) Teor de cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada segundo o método *AOAC 940.26* (2000), após incineração da amostra a cerca de 550 °C, até se obter cinzas brancas. O teor de cinzas foi expresso em percentagem, de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Teor de cinzas (\%)} = \frac{\text{massa final do cadinho com cinzas} - \text{massa do cadinho}}{\text{massa da amostra}} \times 100$$

c) Teor de gordura

O teor de gordura foi determinado utilizando a unidade de extração *Soxtec System HT 1043 (Tecator)*. Pesaram-se cerca de 5 g da amostra para um cartucho de extração; foi utilizado como solvente éter de petróleo (p.e. 40-60 °C) com cerca de 90 minutos de tempo de extração e 30 minutos de tempo de lavagem. O copo com o solvente e gordura foi levado à estufa a 102±2 °C para completa evaporação dos restos do solvente.

Os resultados foram apresentados em percentagem de gordura, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Teor de gordura (\%)} = \frac{(\text{massa do copo} + \text{gordura}) - \text{massa do copo}}{\text{massa da amostra}} \times 100$$

d) Teor de proteína

O teor de azoto foi determinado através do método *Kjeldahl* de acordo com o procedimento *AOAC 920.152* (2000). A digestão das amostras foi efetuada num sistema digestor *20 1015 Digester* da *Tecator*. A destilação e titulação do azoto total foram efetuadas no equipamento *2300 Kjeltex Analyser* da *Tecator*.

O resultado foi expresso em percentagem de proteína utilizando o fator de conversão 6,25.

$$\text{Teor de proteína (\%)} = \% \text{ de azoto total} \times 6,25$$

e) Teor de fibra

O teor de fibra foi determinado segundo a NP2029:1983 no *Fibertec System M 1020 Hot Extrator (Tecator)*. Resumidamente, o método baseia-se na pesagem da amostra (cerca de 1 g) previamente desengordurada para o cadinho de vidro de fundo filtrante contendo celite. Segue-se uma etapa de hidrólise da amostra, sucessivamente com uma solução ácida e alcalina que têm como finalidade retirar da amostra todos os constituintes que não façam parte da fibra bruta. A amostra digerida é lavada com água destilada e acetona, é levada à estufa para evaporação de humidade e os cadinhos são pesados. Posteriormente, os cadinhos com a amostra

submetem-se a uma incineração a cerca de 550 °C até obtenção de cinzas e voltam a ser pesados.

Os resultados foram apresentados em percentagem, segundo a equação:

$$\text{Teor de fibra (\%)} = \frac{\text{massa da amostra digerida} - \text{massa da amostra cinzas}}{\text{massa da amostra}} \times 100$$

f) Teor em cloretos

Realizaram-se determinações ao teor em cloretos na salmoura e na parte edível da matéria-prima (azeitona e tremoço) e também na pasta final.

Para a determinação do teor em cloretos nas salmouras de azeitona e de tremoço utilizou-se o método de *Mhor*. Resumidamente, efetua-se uma titulação da amostra (salmoura) com uma solução 0,1 N de nitrato de prata (AgNO_3), em presença de solução de cromato de potássio de 5 % (m/v). No final, quando a precipitação dos cloretos for completa, o excesso de iões prata combinam-se com os iões cromato (indicador) formando um precipitado de cromato de prata vermelho tijolo.

Os resultados apresentam-se em percentagem utilizando a seguinte equação:

$$\text{Teor de cloretos (\%)} = 1,17 \times V$$

Sendo:

V - volume em ml da solução de nitrato de prata (0,1 N) gasto na titulação da salmoura

A determinação do teor em cloretos nas azeitona, tremoço e na pasta foi efetuada pelo método *Charpentier Volhard*. Os cloretos dissolvidos em água são precipitados em meio ácido por uma solução titulada de nitrato de prata em excesso. O excesso é titulado por uma solução de tiocianato de amónio em presença de sulfato de amónio férrico (alúmen férrico) até surgir uma cor castanho avermelhado que persista após agitação.

$$\text{Teor de cloretos (\%)} = \frac{[(20 - V) \times 0,1] \times 5,845}{\text{massa da amostra}}$$

Sendo:

V- volume em ml da solução de tiocianato de amónio gasto na titulação da salmoura.

g) Atividade da água (a_w)

A determinação da atividade da água foi efetuada no equipamento *Rotronic Hygroscop DT* com sonda *WA-14TH* termostaticável a 25 °C. O resultado do aparelho é dado em humidade relativa de equilíbrio (HRE), pelo que é necessário dividir o valor

obtido por 100 para obter o valor da atividade da água. Esta determinação foi apenas efetuada na pasta selecionada e em duplicado.

4.5. Análises microbiológicas

Para a caracterização da matéria-prima utilizada nas formulações das pastas efetuaram-se análises de contagem de indicadores de higiene e de qualidade e pesquisa de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes* às pastas submetidas a exame organolético. Estas determinações foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Associação Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco (CATAA).

Relativamente aos **indicadores de higiene e qualidade**, foram realizadas análises à azeitona de mesa e ao tremoço, assim como às respetivas salmouras, num total de 5 amostras de cada uma. Efetuaram-se contagens de bactérias lácticas, de bolores e leveduras, de enterobactérias e de microrganismos a 30 °C, utilizando o sistema *TEMPO* (*bioMérieux*). O sistema *TEMPO* é constituído por três componentes: o *TEMPO Prep*, *TEMPO Filler* e *TEMPO Reader*.

Para cada determinação utilizou-se o meio de cultura específico e uma carta constituída por 48 poços, 3 séries de 16 poços (pequenos, médios e grandes) com uma diferença de volume de 1 log entre cada série de poços. Os microrganismos presentes na amostra degradam os substratos do meio de cultura, o que provoca uma acidificação do meio e conseqüente extinção da fluorescência nos tubos de reação positiva, detetado pelo *TEMPO Reader* que é constituído por lâmpada UV. Em função do número e do tipo de poços positivos, o sistema *TEMPO* deduz o número de microrganismos presentes na amostra, segundo o *Número Mais Que Provável* (*bioMérieux*, 2014a).

Primeiramente hidrata-se o respetivo meio de cultura *TEMPO* (*bioMérieux*) com 3 ml de água destilada e esterilizada, inocula-se 1 ml da amostra, da suspensão inicial ou das diluições sucessivas. Depois através do *TEMPO Filler* o meio de cultura com a amostra é introduzido na carta. Esta é incubada à temperatura e período indicados na Tabela 11.

Tabela 11 - Condições de incubação relativas aos indicadores de higiene e qualidade.

Parâmetro	Temperatura (°C)	Período (horas)
Bactérias lácticas	30±1	40-48
Enterobactérias	35±1	22-27
Leveduras e bolores	25±1	72-76
Microrganismos a 30 °C	30±1	40-48

No que concerne à segurança alimentar, realizou-se a pesquisa de *Salmonella* spp. e a pesquisa de *Listeria monocytogenes* utilizando o *miniVIDAS*, nas pastas que foram analisadas sensorialmente.

O *miniVIDAS* baseia-se num teste imunoenzimático do tipo *ELISA* (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) que combina o princípio deste teste com a leitura de um sinal final de fluorescência pela técnica *ELFA* (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*). Resumidamente, são utilizados cones que funcionam como fase sólida, encontrando-se revestidos internamente por anticorpos monoclonais específicos para o agente em pesquisa, e funcionam como suporte de pipetagem para o teste. Se o microrganismo alvo estiver presente na amostra, ocorrerá a reação antígeno-anticorpo, e posteriormente, pela adição de um conjugado (anti-imunoglobulina humana ligada a fosfatase alcalina) e de um substrato, ocorrerá a emissão de fluorescência, que é detetada pelo sistema *miniVIDAS* (bioMérieux, 2014b).

Os resultados foram apresentados como ausência ou presença do microrganismo em 25 g da amostra.

Na **pesquisa de *Salmonella* spp.** em 25 g de amostra, primeiramente efetuou-se o pré-enriquecimento com água peptonada tamponada (*bioMérieux*). Procedeu-se à homogeneização no *Stomacher 400 Circulator* (*Seward*) a 320 rpm durante 1 minuto. Incubou-se a 37 ± 1 °C durante 16-22 horas. Após esta incubação, pipetou-se 0,1 ml do caldo pré-enriquecido para um tubo com 10 ml de *SX2-T broth* (*bioMérieux*), que foi incubado a $41,5\pm 1$ °C durante 22-26 horas.

Após esta última incubação pipetou-se 0,5 ml para o primeiro poço da barrete com 10 poços, sendo aquecida no *Heat&Go* a uma temperatura de 131 °C durante 15 ± 1 minutos e depois arrefecida durante 10 ± 1 minutos. Posteriormente, as barretes introduziram-se no sistema *miniVIDAS*, assim como os respetivos cones. Os resultados foram apresentados após 45 minutos (bioMérieux, 2014c).

Para a **pesquisa de *Listeria monocytogenes*** em 25 g de amostra efetuou-se o pré-enriquecimento adicionando 225 ml de caldo *Fraser* (*bioMérieux*), homogeneizando no *Stomacher 400 Circulator* (*Seward*) a 320 rpm durante 1 minuto e incubado a 30 ± 1 °C durante 24-26 horas. Após incubação foi pipetado 0,1 ml da solução para 10 ml de caldo *Fraser* (*bioMérieux*) incubou-se a 37 ± 1 °C durante 24-26 horas. Posteriormente, pipetou-se 0,5 ml para o primeiro poço da barrete com 10 poços, que foi colocada no *miniVIDAS* assim como os respetivos cones. Os resultados foram apresentados após 70 minutos (bioMérieux, 2014d).

4.6. Análise estatística

As metodologias estatísticas utilizadas para a apresentação dos resultados foram executadas no *software* SPSS 20.0 (*IBM, SPSS Statistics*) e consideraram-se estatisticamente significativos os valores de *p* inferiores ou iguais a 0,05.

Para avaliar a aceitação das pastas provadas pelos consumidores utilizou-se o teste Z.

Relativamente à prova de ordenação das pastas pela preferência global, atribuiu-se a pontuação das pastas provadas numa escala de 1 a 4, sendo 1 “gostou menos” e 4 “gostou mais”. As pontuações obtidas para as formulações foram ordenadas utilizando o teste de *Friedman*.

Para analisar os dados da Análise Quantitativa Descritiva (AQD) realizou-se a ANOVA (*Analysis of Variance*) seguida do teste *post-hoc* HSD de *Tukey* para comparação dos valores médios.

5. Resultados e discussão

5.1. Seleção da formulação base

A **Seleção da formulação base** foi realizada na Feira dos Sabores, em Castelo Branco, recorrendo a um painel de consumidores. Numa primeira pergunta foi-lhes solicitado que indicassem se gostaram ou não da pasta que provaram. De uma forma geral os consumidores gostaram das formulações apresentadas (Figura 9); 65 % dos consumidores gostaram de T_{limão}, 68 % gostaram de T_{orégão}, 73 % gostaram de T_{tomilho} e 82 % dos consumidores gostaram de AT_(68/23). A percentagem de consumidores que gostaram da pasta AT_(68/23) é superior à percentagem de consumidores que gostaram de T_{limão}.

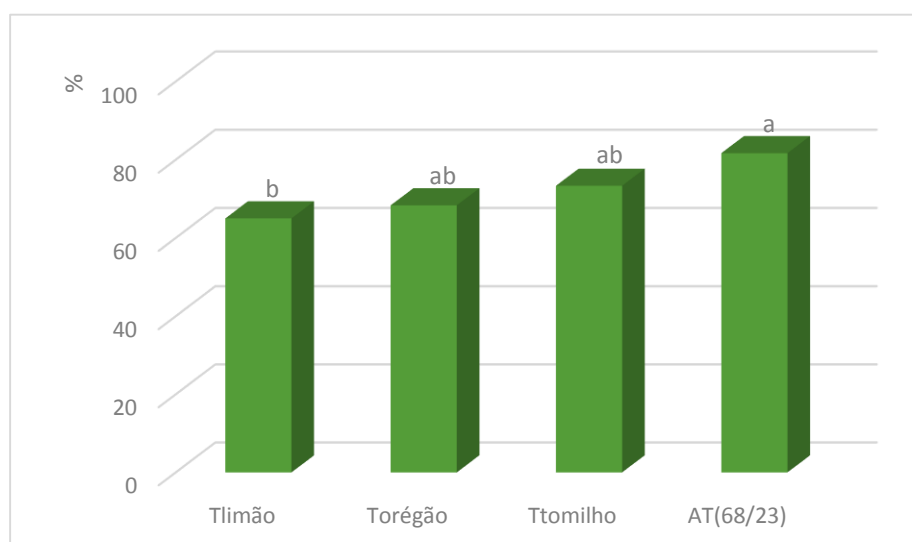


Figura 9 - Percentagem de provadores que gostaram das pastas para a seleção da formulação base.

As colunas do gráfico com letras diferentes indicadas no topo diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

Solicitou-se ainda aos provadores que ordenassem as pastas consoante a sua preferência global (Figura 10) e os cálculos auxiliares encontram-se no Anexo D. É possível afirmar que os consumidores preferiram a formulação AT_(68/23) em relação às restantes formulações. Assim sendo, a formulação base selecionada foi a AT_(68/23).

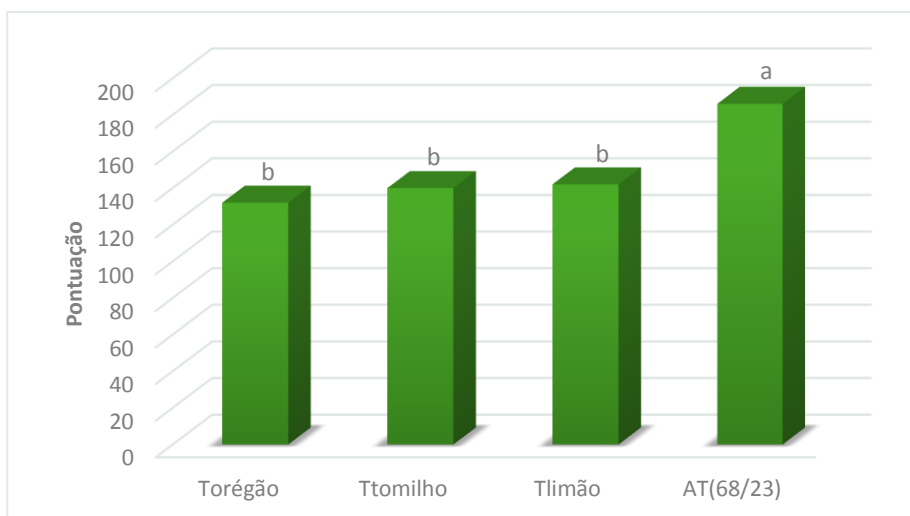


Figura 10 - Ordem de preferência das pastas para seleção da formulação base.

As colunas do gráfico com letras diferentes indicadas no topo diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

Os consumidores identificaram o que gostaram mais e menos na pasta preferida ($AT_{(68/23)}$); os comentários apresentam-se na Tabela 12. Seguindo estas indicações, nas etapas seguintes, prepararam-se formulações de forma a ir ao encontro das preferências dos consumidores. Referiram que as pastas apresentavam uma granulidade grosseira, isto é, o tamanho das partículas de tremoço se salientavam do resto da pasta, o que fez com que na etapa seguinte o tempo de trituração do tremoço aumentasse, para que a textura da pasta ficasse homogênea.

Tabela 12 - Comentários dos consumidores em relação à formulação base.

Gostou mais	Gostou menos
Alteração do sabor ao longo da degustação	Pedaços demasiado grossos
Persistência do sabor no palato	Casca da azeitona
Sabor	Muito sabor a azeitona
Sabor a azeitona	Granulidade, insipidez, pouco sabor
Sabor intenso	Aspetto e Textura
Sabor muito agradável	Consistência
Ser mais salgado	Salgado e granuloso
Textura	Menos triturado

5.2. Desenvolvimento de novas formulações

No desenvolvimento de novas formulações introduziu-se ainda uma pasta só de tremoço ($T_{limão}$), no entanto a percentagem de consumidores que gostaram da formulação $AT_{(68/23)}$ foi superior. A Figura 11 apresenta a percentagem de aceitação das formulações, sendo que 52 % dos consumidores gostaram de $T_{limão}$, 64 %

gostaram de AT_(45/45), 70 % gostaram de AT_(23/68) e 73 % dos consumidores gostaram de AT_(68/23).

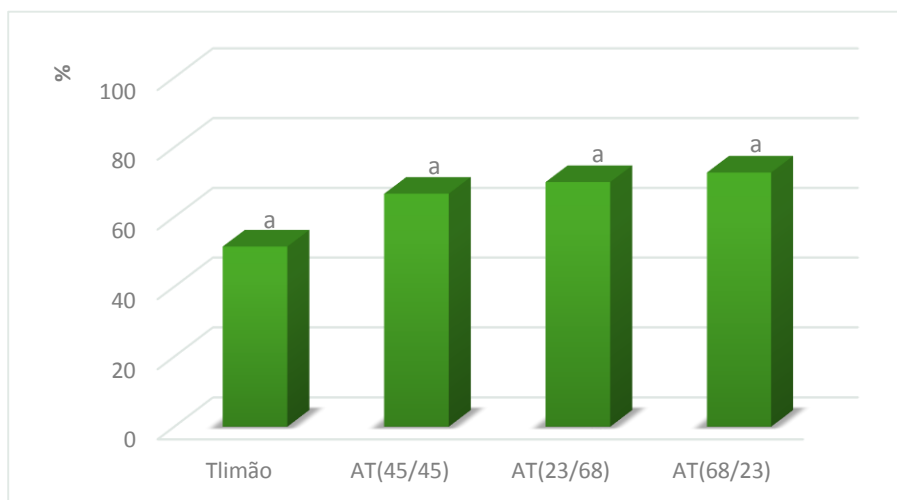


Figura 11 - Percentagem de provadores que gostaram das novas formulações. As colunas do gráfico com letras diferentes indicadas no topo diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

Os consumidores preferiram globalmente as formulações AT_(68/23), AT_(45/45) e AT_(23/68), com um tendência positiva pela AT_(68/23) (Figura 12). A formulação Tlimão, sendo constituída exclusivamente por tremçoço, foi a menos preferida pelos consumidores.

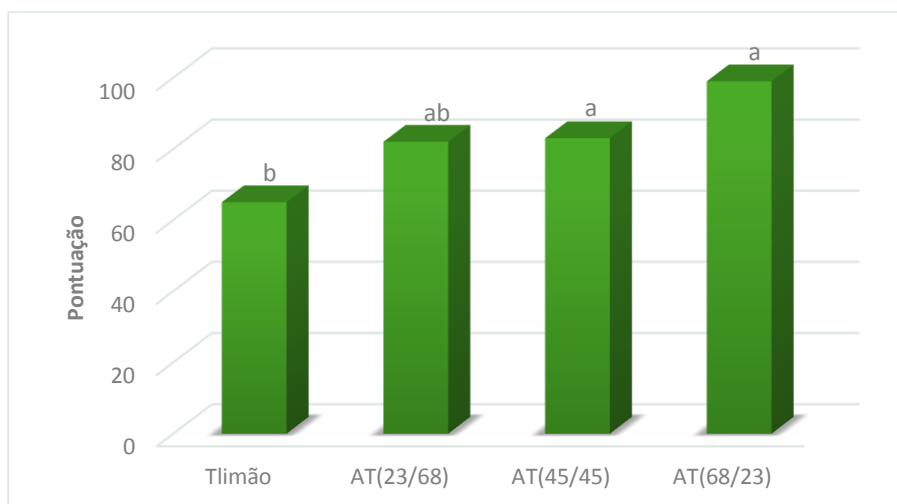


Figura 12 - Ordem de preferência das novas formulações de pastas. As colunas do gráfico com letras diferentes indicadas no topo diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

5.3. Geração e seleção de descritores

Na terceira etapa foram gerados descritores pelo painel semi-treinado, os quais são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Descritores gerados pelo painel semi-treinado.

Característica sensorial	Descritores		
Aspeto	Adesividade Espesso Espanjoso Humidade Molhado Pegajoso Viscosidade	Coeso/coesividade Duro Granuloso Pedacos de azeitona Pouco atrativo	Amarelo palha Brilhante/ brilho Cor vinho tinto Cor violeta Rosa violáceo Roxo Uniformidade da cor
Odor	Avinhado Azeitado Azeitona Lagar Salgado Tremoço Tulha Vinagre	Floral Fresco Agradável Herbáceo	Citrino Limão Laranja Caramelo Manteiga
Sabor	Adstringente Amanteigado Áspero Azeite Enlatado Fermentado Untuoso	Ácido Amargo Insosso Intenso Salgado	Azeitona Citrinos Frutado Limão Picante Tremoço
Textura (boca)	Casca de azeitona Granuloso/granulosidade Pedacos de azeitona Resíduos Untuoso	Branda Duro/dureza Espesso Viscosidade	Adesividade Áspero Derrete-se na boca Folhoso Humidade
Textura (colher)	Casca e sementes Granulado Granuloso Uniformidade	Coeso/coesividade Consistência média Duro Espesso	Humidade Pastoso

Após identificação dos termos mais adequados a uma pasta de barrar, e segundo a ISO 11035:1994, foram selecionados os descritores que se apresentam na Tabela 14. Estes descritores foram utilizados para desenhar a folha de perfil, que foi validada pelo painel de provadores e posteriormente utilizada para a caracterização sensorial.

Tabela 14 - Descritores selecionados.

Característica sensorial	Descritores
Aspetto	Espalhabilidade
	Uniformidade
Sabor	Salgado
	Ácido
	Amargo
Textura (boca)	Granulosidade
	Adesividade

Para além dos descritores referidos, foram também adicionados à folha de perfil os descritores “fermentação anormal” e “outros defeitos”.

5.4. Análise quantitativa descritiva

Após a obtenção dos descritores foram selecionados em painel aberto, por consenso, os mais adequados e assim se construiu a folha de perfil, que foi utilizada para a análise quantitativa descritiva, caracterizando assim as formulações elaboradas nas etapas de AQD.

Nestas etapas foram adicionados diversos aromas que poderiam trazer conjugações e sabores interessantes para a pasta. Em painel aberto, assinalaram-se na escala não estruturada da folha de perfil a intensidade do atributo em questão. Nesta fase foram provadas oito formulações (quatro de manhã e as outras quatro de tarde). Na Figura 13 apresenta-se o perfil de intensidade média dos atributos para cada formulação.

Como referido atrás, na folha de perfil constavam também os atributos fermentação anormal e outros defeitos, no entanto estes defeitos não foram detetados pelo painel em nenhuma das pastas provadas, correspondendo na folha de perfil uma intensidade de 0.

De salientar que relativamente aos atributos granulosidade e espalhabilidade, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as formulações. Na adesividade e uniformidade, houve diferenças significativas. Pode-se destacar que em termos de uniformidade a pasta que apresentou maior intensidade média foi AT_{alho} (7,7) e as formulações AT_{orégão} (4,8) e AT_{pimento} (4,7) apresentaram menor uniformidade. As formulações AT_{louro} e AT_{orégão} foram as que obtiveram maiores pontuações no atributo salgado, o que pode resultar da interação sensorial entre gosto e odor retronasal que pode ter um efeito aditivo (Lawless e Heyman, 2010). Relativamente ao sabor ácido as pastas AT_{alho} (2,8) e AT_{pimento} (3,1) obtiveram menor intensidade média, sendo a AT_(68/23) a que obteve maior pontuação neste atributo (6,2).

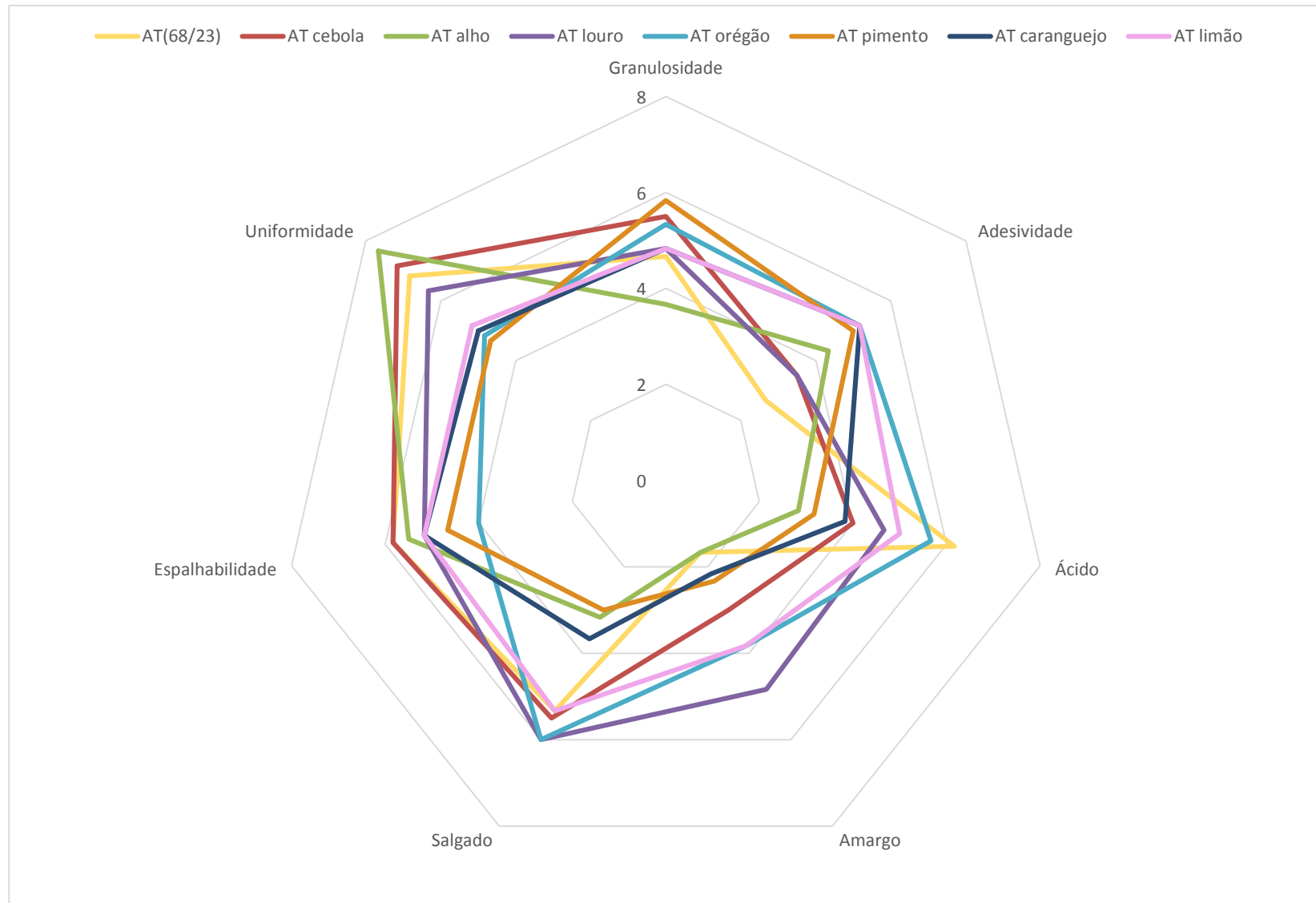


Figura 13 - Intensidade média dos descritores nas oito pastas avaliadas.

Por decisão do painel semi-treinado, e tendo em conta a combinação com o aroma utilizado em cada pasta, nesta etapa foram selecionadas para a etapa seguinte (Seleção da formulação final) as formulações AT_{alho} , AT_{louro} , AT_{pimento} e $AT_{\text{limão}}$. Foi ainda elaborada uma formulação AT_{agridoce} por sugestão do painel. Os resultados da AQD destas formulações apresentam-se na Figura 14.

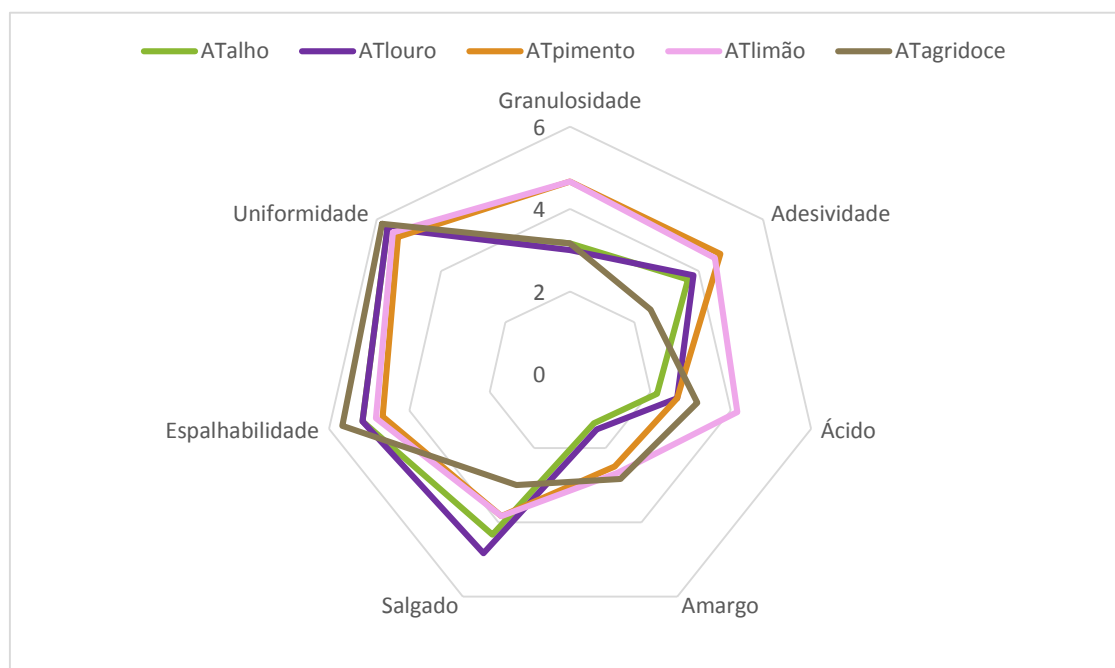


Figura 14 - Intensidade média dos descritores nas cinco pastas avaliadas.

De acordo com os resultados apresentados, nesta etapa verificaram-se diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as pastas nos atributos granulosidade e adesividade; a pasta AT_{agridoce} foi a que apresentou menor adesividade (2,5) na boca e por isso foi excluída. De acordo com os comentários dos provadores (Tabela 14) a maioria comentou que o que mais gostou na pasta da formulação base foi a sua persistência de sabor da pasta na boca, onde a adesividade contribui para esse efeito. Pelo contrário, a pasta que obteve maior intensidade média para o atributo adesividade foi AT_{pimento} (4,7). A formulação AT_{louro} continuou a apresentar maior intensidade média para o atributo salgado (4,8). No atributo ácido a formulação $AT_{\text{limão}}$ apresentou maior intensidade (4,2) e a formulação que apresentou menor intensidade a ácido foi a formulação AT_{alho} (2,2), esta última apresentou também menor intensidade a amargo (1,3).

5.5. Seleção da formulação final

Na sexta etapa, como já foi referido, o objetivo foi a seleção da formulação final pelos consumidores. Na Figura 15, observa-se que as formulações preferidas pelos consumidores foram AT_{alho} e AT_{pimento} .

Analisando os resultados da prova de ordenação desta etapa podemos verificar que os consumidores detetaram diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$),

exceto na formulação AT_{pimento} onde não houve diferenças relativamente à AT_{alho} e AT_{louro}.

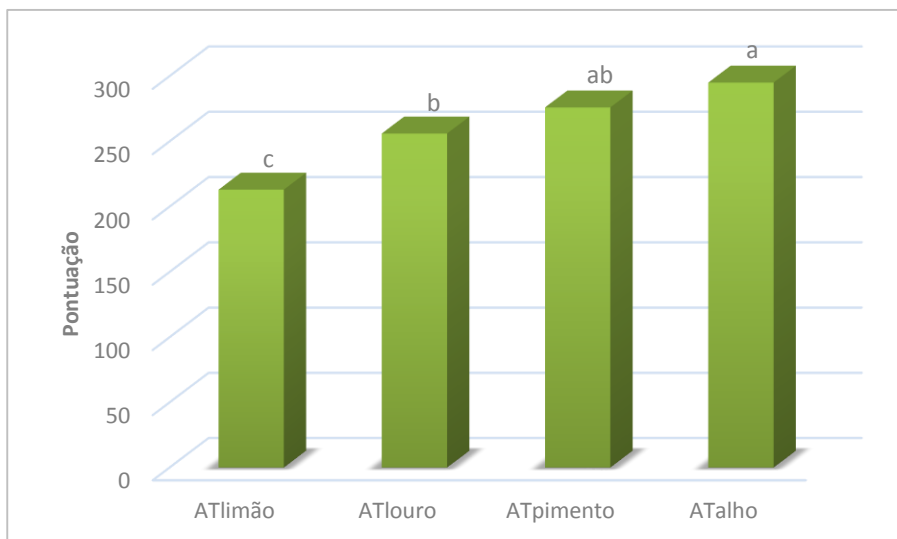


Figura 15 - Ordem de preferência das pastas para seleção da formulação final.

As colunas do gráfico com letras diferentes indicadas no topo diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

Nesta prova de ordenação, segundo a preferência global, o que podemos concluir é que a pasta preferida é AT_{alho}, de igual forma a AT_{pimento}, de seguida a AT_{louro} e por fim a pasta AT_{limão}. De acordo com a Figura 15 podemos verificar que não existem diferenças entre a pasta AT_{alho} e AT_{pimento}, contudo devido à conjuntura económica da unidade industrial, optou-se por seleccionar apenas uma pasta. A pasta considerada como a formulação final foi a AT_{alho}.

5.6. Caracterização físico-química

De modo a caracterizar quimicamente as amostras em estudo, foram determinados os teores de humidade, cinzas, gordura, proteína e fibra. Relativamente aos resultados destas determinações foram expressos em percentagem e estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Caracterização físico-química de matérias-primas e da pasta AT_{alho} (média±desvio padrão).

Amostra	Humidade (%)	Cinzas (%)	Gordura _{mo} (%)	Proteína (%)	Fibra (%)
Azeitona fresca	63,9±0,08	5,2±0,43	21,2±2,31	3,3±0,15	8,2±0,88
Azeitona em salmoura	65,0±0,01	15,1±0,30	23,0±1,16	3,7±0,15	7,1±0,54
Tremoço em salmoura	70,0±0,02	19,4±0,20	2,6±0,07	33,6±0,09	14,3±0,28
Pasta AT _{alho}	69,9±0,04	10,8±0,04	18,1±0,66	10,5±0,09	10,9±0,29

A água é um dos componentes maioritários nos vegetais e frutos, a sua percentagem pode traduzir-se em humidade. No caso da azeitona os valores médios rondam os 65 %, enquanto o tremço apresenta valores médios ligeiramente superiores (70 %). Os resultados obtidos no presente trabalho para as azeitonas encontram-se dentro dos intervalos referenciados por outros autores (FAO, 1991; Guillen et al., 1991; Cardoso et al., 2010; Malheiro, 2010; Nogueira, 2012). Na pasta o teor de humidade encontra-se entre os valores da azeitona e do tremço, assim como os valores referenciados por Freire (2008) e Rodrigues (2012).

A atividade de água (a_w), como já referido, foi determinada apenas na pasta obtendo-se um resultado de 0,93. Este valor pode ser considerado como um fator de risco em termos de segurança alimentar, nomeadamente pode permitir o desenvolvimento de bolores e bactérias, e consequentemente a deterioração do alimento. Posteriormente seria pertinente elaborar estudos de tempo de vida útil e, caso fosse necessário, tentar controlar e prolongar esse tempo através da implementação do conceito “efeito barreira”, que consiste na conjugação de diversos fatores, como o pH, a_w , temperatura, humidade relativa, composição gasosa, que influenciam o desenvolvimento de microrganismos no alimento (Leistner, 2000).

Relativamente aos resultados para o teor de cinzas era esperado um aumento em relação aos frutos sem salmoura, devido à penetração do sal da salmoura para a azeitona. No tremço o teor de cinzas, como seria de esperar, é elevado relativamente aos encontrados por diversos autores (Schoeneberger et al., 1982; Sujak et al., 2005; Szczapa et al., 2006) que referem valores entre 2,5 a 4,5. Os valores citados são referentes ao tremço antes de ser colocado em salmoura. E acredita-se que utilizando uma salmoura de valores até 12 % de NaCl possa contribuir para valores elevados de cinzas.

Por conseguinte, a pasta também apresenta teores de cinza elevados relativamente a outros encontrados por Freire (2008) e Rodrigues (2012), sendo o teor de cinzas na pasta superior ao teor em azeitonas e inferior ao teor em tremços.

O teor de gordura nas azeitonas em salmoura ronda 23 %, ligeiramente superior às azeitonas frescas, verificando-se uma pequena variação nas cultivares analisadas (19,2 % para a cultivar *Cobrançosa* e 23,5 % para a cultivar *Galega Vulgar*). No tremço o teor de gordura (2,6 %) encontra-se ligeiramente abaixo dos valores referenciados por Schoeneberger et al. (1982), Sujak et al. (2005), Szczapa et al. (2006), Jiménez-Martínez et al. (2009). Relativamente à pasta, como esta tem 68 % de azeitona na sua constituição é de esperar que tenha valores próximos dos valores da azeitona (18,1 %) encontrando-se dentro dos valores referidos por Freire (2008) e Rodrigues (2012).

Um dos objetivos da adição de tremço nas formulações era conseguir obter uma pasta com melhores propriedades nutricionais; os resultados permitem confirmar que os valores de proteína obtidos na pasta AT_{alho} foram superiores ao teor de proteína nas azeitonas e superiores aos valores em pastas referenciados por outros

autores (Freire, 2008; Rodrigues, 2012). O mesmo acontece com o teor de fibra, que é ligeiramente superior ao teor nas azeitonas e inferior ao teor no tremço, no entanto continua a ser superior aos encontrados em pastas por Freire (2008) e Rodrigues (2012).

Relativamente aos cloretos (Tabela 16), estes foram determinados em salmoura de azeitona de mesa e tremços, assim como a parte edível, respetivamente e na pasta AT_{alho}.

Tabela 16 - Teor de cloretos em azeitona de mesa, tremço e pasta AT_{alho} (média±desvio padrão).

Amostras		Teor (% m/m)
Azeitona	Parte edível	4,5±0,14
	Salmoura	6,8±0,27
Tremço	Parte edível	5,5±0,22
	Salmoura	8,1±0,08
Pasta		3,5±0,0

Em relação ao teor de cloretos na azeitona para a sua salmoura os valores encontram-se de acordo com o espectável, pois como foi referido anteriormente o teor de NaCl utilizado na salmoura era de 6 %, na parte edível o resultado foi de 4,5 % também se encontra dentro do esperado, mas ligeiramente superior aos encontrados por Ünal e Nergiz (2003). Este resultado pode ser explicado por serem azeitonas que se encontram em salmoura há mais de 12 meses e assim a difusão de cloreto de sódio seja superior na polpa devido ao equilíbrio osmótico do meio. O teor de cloretos, na salmoura do tremço encontra-se dentro dos valores utilizados na indústria (8-12 % de NaCl), no entanto o teor de NaCl na salmoura varia muito de região e das práticas de produção. Por fim, verifica-se que a pasta tem menos sal do que a parte edível da azeitona e do que o tremço, o que do ponto de vista nutricional também é positivo. Este resultado inferior ao da matéria-prima pode dever-se à imersão das azeitonas em água 24 horas antes da preparação das pastas, para que a pasta não fique com sabor muito salgado.

5.7. Caracterização microbiológica

Os resultados obtidos para os indicadores de higiene e qualidade no fruto da azeitona de mesa e do tremço, e respetivas salmouras, apresentam-se na Tabela 17.

Na azeitona de mesa, no início da fermentação geralmente a população de microrganismos é superior na salmoura do que no fruto, no entanto à medida que se

vão esgotando os nutrientes no meio os microrganismos aderem ao fruto (Gómez et al., 2008; Aponte et al., 2012; Randazzo et al., 2012; Romeo, 2012; Lanza, 2013). Para a contagem de bactérias lácticas na azeitona de mesa, os resultados apresentados ($5,8 \log_{10}$ UFC/ g) encontram-se dentro dos valores referidos por Pereira et al. (2008) e Hurtado et al. (2012). Os microrganismos a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($5,4 \log_{10}$ UFC/g) estão presentes na azeitona praticamente na mesma proporção que na salmoura ($5,2 \log_{10}$ UFC/ml), os valores encontram-se de acordo com as referências (Pereira et al., 2008). Em relação às leveduras e bolores seria de esperar que se encontrassem maioritariamente na salmoura ($5,1 \log_{10}$ UFC/ml) do que no fruto ($3,5 \log_{10}$ UFC/g), contudo outros autores também referem valores similares em frutos e salmoura (Randazzo et al., 2012; Heperkan, 2013). Relativamente às Enterobactérias no fruto e salmoura de azeitona são inferiores a 10, o que contribui para adequabilidade em termos de segurança alimentar da matéria-prima na elaboração de pastas ou outros produtos (Lanza, 2013).

No que respeita ao tremoço esperavam-se valores inferiores para todos os parâmetros, comparativamente aos da azeitona, e isso verificou-se nos resultados. O tremoço como semente que é, por si só, não possui uma carga microbiana elevada, e de acordo com Jiménez-Martínez et al. (2009) o processamento industrial dos tremoços é baseado no cozimento das sementes, o que reduz ainda mais alguma possível microflora existente. A contagem de leveduras e bolores foi inferior a 10 UFC/g na parte edível e na salmoura inferior a 1 UFC/ml. A contagem de bactérias lácticas na parte edível foi de $3,4 \log_{10}$ UFC/g e na salmoura $2,2 \log_{10}$ UFC/ml. Pode dizer-se que no tremoço a microflora pode-se caracterizar apenas pela presença de bactérias lácticas e microrganismos a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Szczała et al., 2006).

Tabela 17 - Indicadores microbiológicos de higiene e qualidade em azeitona de mesa, tremoço e respetivas salmouras (média±desvio padrão).

Amostra		\log_{10} UFC/ (g ou ml)			
		Bactérias lácticas	Enterobactérias	Leveduras e bolores	Microrganismos a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$
Azeitona de mesa	Parte edível	$5,8\pm 0,15$	<10	$3,5\pm 0,26$	$5,4\pm 0,34$
	Salmoura	$5,1\pm 0,13$	<10	$5,1\pm 0,32$	$5,2\pm 0,24$
Tremoço	Parte edível	$3,4\pm 0,42$	<10	<10	$2,6\pm 0,18$
	Salmoura	$2,2\pm 0,21$	<1	<10	$2,7\pm 0,86$

Em suma, é observável que a densidade populacional das bactérias lácticas se destaca em relação aos outros microrganismos na parte edível e salmoura da azeitona de mesa e do tremoço, de seguida encontram-se os microrganismos a 30 °C. Na azeitona de mesa ainda existe a presença considerável de leveduras e bolores, esta conclusão está de acordo com estudos realizados por Arroyo-López et al. (2008) e Hurtado et al. (2012).

Em relação à pesquisa de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes* nas pastas que foram para prova sensorial, estes microrganismos não foram encontrados em 25 g (Tabela 18).

Tabela 18 - Pesquisa de *Salmonella* spp. e de *Listeria monocytogenes* em pastas de azeitona.

Parâmetro	Resultado
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	Ausente em 25 g
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente em 25 g

Em termos gerais, considerando os valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração, indicados por Santos et al. (2005), verificou-se que as pastas de azeitona elaboradas revelaram qualidade microbiológica adequada, sendo por isso consideradas seguras para o consumidor. Estes resultados refletem a boa qualidade da matéria-prima e mostram que as condições de higiene durante o processamento das mesmas e o tratamento térmico aplicado foram adequados.

6. Conclusões

No presente trabalho elaboraram-se com sucesso diversas formulações de pastas de azeitona de mesa *Galega Vulgar* e de tremoço e em fases posteriores adicionaram-se aromas naturais de alho, pimento, louro, limão, cebola, orégão e caranguejo. As inovações introduzidas foram orientadas pela melhoria das características sensoriais da pasta.

No desenvolvimento deste produto e para seleção da formulação final recorreu-se a painéis de consumidores e semi-treinados. Realizaram-se provas de análise sensorial hedónicas e descritivas. De acordo com as sessões de análise sensorial, pode concluir-se que os consumidores esperam uma pasta mais tradicional, como a pasta de azeitona, e não estão tão recetivos a pastas de tremoço. Contudo, a mistura entre estes dois ingredientes foi aceite, havendo preferência pelas pastas com maior quantidade de azeitona. Quando se adicionaram aromas, verificamos que os de orégão e de louro salientaram a sensação de salgado. A formulação final é constituída por azeitona de mesa, tremoço e aroma natural a alho (AT_{alho}).

Sensorialmente a formulação selecionada apresentou maior uniformidade no aspeto, menor acidez, menor sabor a amargo e menor sabor a salgado que as demais.

A composição química da formulação selecionada (AT_{alho}), em comparação com outras pastas referenciadas, possui melhores características nutricionais em termos do teor de proteína e de fibra, o que muito se deve à adição de tremoço. Assim, o novo produto tem cerca de 70 % de humidade, 11 % de cinzas, 18 % de gordura, 11 % de proteína, 11 % de fibra e 4 % de cloretos.

A qualidade microbiológica de um alimento está intimamente relacionada com a da matéria-prima e ao processo de fabrico. A matéria-prima apresentava características de higiene e segurança alimentar e as fases de preparação das pastas regiram-se pelas boas práticas de fabrico. A azeitona de mesa apresentou uma microflora de bactérias lácticas de 5,8 log₁₀ UFC/g, microrganismos a 30 °C de 5,4 log₁₀ UFC/g e de leveduras e bolores de 3,5 log₁₀ UFC/g. A microflora presente no tremoço é constituída por bactérias lácticas numa densidade populacional de 3,4 log₁₀ UFC/g e 2,6 log₁₀ UFC/g de microrganismos a 30 °C.

Em suma, este trabalho permitiu o desenvolvimento e caracterização de um novo produto com maior valor nutricional pela contribuição dada pela adição de tremoço, que se diferencia relativamente aos produtos similares que se encontram no mercado. O desenvolvimento de pastas de azeitona pode surgir como alternativa para as indústrias em relação ao escoamento de produto, matéria-prima com morfologia inadequada para azeitona de mesa ou de menor calibre pode ser recuperada e atribuir-lhe valor comercial através da produção de novos produtos como é o caso das pastas de azeitona. A utilização de tremoço nas pastas foi um fator positivo na medida em que contribuiu para melhorar nutricionalmente a pasta e não encarecer o produto.

7. Referências bibliográficas

Alamanou, S., Bloukas, J., Paneras, E., Doxastakis, G. (1996). Influences of protein isolate from lupin seeds (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*) on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Science*, 42, 79-93.

AOAC (1995). *Official Methods of Analysis*, 16th Ed, Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA.

AOAC (2000). *Official Methods of Analysis*, 17th Ed, Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA.

Aponte, M., Blaiotta, G., La Croce, F., Mazzaglia, A., Farina, V., Settanni, L. (2012). Use of selected autochthonous lactic acid bacteria for Spanish style table olive fermentation. *Food Microbiology*, 30, 8-16.

Arroyo-López, F., Bautista-Gallego, J., Durán-Quintana, M., Rodríguez-Gómez, F. (2008a). Improvement of the storage process for cracked table olives. *Journal of Food Engineering*, 89, 479-487.

Arroyo-López, F., Querol, A., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A. (2008b). Role of yeasts in table olive production. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 189-196.

Arroyo-López, F., Romero-Gil, V., Bautista-Gallego, J., Rodríguez-Gómez, F., Jiménez-Díaz, R., García-García, P., Querol, A.; Garrido-Fernández, A. (2012). Yeasts in table olive processing: desirable or spoilage microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 160, 42-49.

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

Bautista-Gallego, J., Arroyo López, F., Romero Gil, V., Rodríguez Gómez, F., García-García, P. (2011). Chloride salt mixtures affect Gordal cv.green Spanish-style table olive fermentation. *Food Microbiology*, 28, 1316-1325.

Bianchi, G. (2003). Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105, 229-242.

bioMérieux. (2014a). Disponível em: <http://www.biomerieux.com/en/biomerieuxs-new-tempo-solution-delivers-rapid-results-direct-enumeration-yeast-and-molds-improve>. Consulta realizada a 09-05-2014.

bioMérieux. (2014b). Disponível em: <http://www.biomerieux.com/en/biomerieux-launches-proactive-solution-listeria-risk-control-vidas-lduo-1>. Consulta realizada a 09-05-2014.

bioMérieux. (2014c). Disponível em: <http://www.biomerieuxusa.com/upload/VIDAS-for-Salmonella-Brochure-1.pdf>. Consulta realizada a 10-06-2014.

bioMérieux. (2014d). Disponível em: <http://www.biomerieuxusa.com/upload/VIDAS%20LMO%20VI-10.pdf>. Consulta realizada a 10-06-2014.

Cabezas, J. M. (2011). *La aceituna de mesa: nociones sobre sus características, elaboración y cualidades*. Sevilla: Diputación de Sevilla.

Cardoso, S. M., Mafra, I., Reis, A., Nunes, C., Saraiva, J. A., Coimbra, M. A. (2010). Naturally fermented black olives: Effect on cell Wall polysaccharides and on enzyme activities of Taggiasca and Conservolea varieties. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 153-160.

Carvajal-Larenas, F., Nout, M., Boekel, M. V., Koziol, M., Linnemann, A. (2013). Modelling of the aqueous debittering process of *Lupinus mutabilis* sweet. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 507-516.

COI - Conselho Oleícola Internacional (2012). General description of olive growing in Portugal. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/136-country-profiles>. Consulta realizada a 30-03-2014.

COI - Conselho Oleícola Internacional (2013). Production Table Olives. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/132-world-table-olive-figures>. Consulta realizada a 13-02-2014.

COI/OT/MO. (2012). Doc.No.1. Method for the sensory analysis of table olives.

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

Dabbou, S., Issaoui, M., Brahmi, F., Nakbi, A., Chehab, H., Mechri, B. (2012). Changes in Volatile Compounds During Processing of Tunisian-Style Table Olives. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 89, 347-354.

De Bellis, P., Valerio, F., Sisto, A., Lonigro, S. L., Lavermicocca, P. (2010). Probiotic table olives: Microbial populations adhering on olive surface in fermentation sets inoculated with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei*IMPC2.1 in an industrial plant. *International Journal of Food Microbiology*, 140, 6-13.

Duranti, M. (2006). Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77, 67-82.

FAO. (1991). *Elaboración de aceitunas de mesa*, 81. Roma.

FAO. (2011). *Food and Agricultural commodities production*. Geneva, World Health Organization.

Fernández, A. G., Díez, M. F., Adams, M. R. (1997). *Table Olives, production and processing*. Chapman & Hall. Londres.

Freire, S. A. (2008). *Desenvolvimento de pasta de azeitona Negrinha de Freixo*. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia.

Gómez, A. H., García, P. G., Navarro, L. R. (2006). Trends in table olive production - Elaboration of table olives. *Grasas y Aceites*, 57, 86-94.

Guillen, R., Heredia, A., Felizón, B., Jiménez, A. (1991). Preparación y caracterización de fracciones de fibra en aceitunas. *Grasas y Aceites*, 42, 334-338.

Heperkan, D. (2013). Microbiota of table olive fermentations and criteria of selection for their use as starters. *Frontiers in Microbiology*, 4, 143.

Hurtado, A., Reguant, C., Esteve-Zarzoso, B., Bordons, A., Rozès, N. (2008). Microbial population dynamics during the processing of Arbequina table olives. *Food Research International*, 41, 738-744.

Hurtado, A., Reguant, C., Bordons, A., Rozès, N. (2012). Lactic acid bacteria from fermented table olives. *Food Microbiology*, 31, 1-8.

INE - Instituto Nacional de Estatística. (2012). *Estatísticas Agrícolas*, Ed. Lisboa.

INE - Instituto Nacional de Estatística. (2014). *Boletim Mensal da Agricultura e Pescas*. Lisboa.

- ISO 11035:1994. (1994). Sensory analysis – Identification and selection of descriptors for establishing a sensory profile by a multidimensional approach.
- Jappe, U. e Vieths, S. (2010). Lupine, a source of new as well as hidden food allergens. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54, 113-126.
- Jiménez-Martínez, C., Hernandez-Sanchez, H., Davila-Ortiz, G. (2003). Production of a yogurt-like product from *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 515-522.
- Jiménez-Martínez, C., Campos-Mendiola, R., Sanchez-Espíndola, M., Jimenez-Aparicio, A., Gutiérrez-López, G., Davila-Ortiz, G. (2009). Microstructural changes in *Lupinus campestris* seed in response to three thermal debittering treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 2399-2404.
- Kailis, S. e Harris, D. (2007). Producing table olives. Landlinks Press. Austrália.
- Lanza, B. (2012). Olive Germplasm - The olive cultivation, table olive and olive oil industry in Italy. Nutritional and Sensory Quality of Table Olives. InTech. Itália.
- Lanza, B. (2013). Abnormal fermentations in table-olive processing: Microbial origin and sensory evaluation. *Frontiers in Microbiology*, 4, 91.
- Lawless, H. T. e Heyman, H. (2010). Sensory Evaluation of Food, principles and practices. 2ª Edição.
- Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*, 55, 181-186.
- Magni, C., Sessa, F., Accardo, E., Vanoni, M. (2004). Conglutin gamma, a lupin seed protein, binds insulin in vitro and reduces plasma glucose levels of hyperglycemic rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 646-650.
- Malheiro, R. M. (2010). Influência da cultivar nas características físico-químicas, sensoriais e biológicas de azeitonas verdes descaroçadas. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. Escola Superior Agrária de Bragança.
- Montaño, A., Sánchez, A., Casado, F., Castro, A., Rejano, L. (2003). Chemical profile of industrially fermented green olives of different varieties. *Food Chemistry*, 82, 297-302.
- Nogueira, F. A. (2012). Contribuição para a caracterização de “Azeitonas de mesa mistas ao natural” produzidas de forma tradicional em Trás-os-Montes: aspectos morfológicos, químicos e microbiológicos. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. Escola Superior Agrária de Bragança.
- Norma Portuguesa 2029:1983. (1983). Determinação do teor de fibra bruta. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- Norma Portuguesa 4258:1993. (1993). Análise sensorial. Diretivas gerais para a concepção dos locais apropriados para análise. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- Norma Portuguesa 3034:2012. (2012). Azeitonas de mesa-Definição, classificação, características, acondicionamento e rotulagem. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- Panagou, E., Hondrodinou, O., Mallouchos, A. J. (2011). A study on the implications of NaCl reduction in the fermentation profile of Conservolea natural black olives. *Food Microbiology*, 28, 1301-1307.
- Peres, C. (2013). O grande livro da Oliveira e do Azeite - A azeitona de mesa na Alimentação e na Saúde. Dinalivro, 268-272.

Pereira, A. P., Pereira, J. A., Bento, A., Estevinho, M. L. (2008). Microbiological characterization of table olives commercialized in Portugal in respect to safety aspects. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2895–2902.

Probiolives. (2014). Disponível em: <http://www.probiolives.eu/?lg=EN>. Consulta realizada a 16-06-2014.

Quaresma, R. R., Viseu, R., Martins, L. M., Tomaz, E. (2007). Allergic primary sensitization to lupine seed. *Allergy*, 62, 1473-1474.

Randazzo, C. L., Ribbera, A., Pitino, I., Romeo, F. V., Caggia, C. (2012). Diversity of bacterial population of table olives assessed by PCR-DGGE analysis. *Food Microbiology*, 32, 87-96.

Regulamento (CE) N.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Dezembro de 2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos.

Regulamento (UE) N.º 116/2010 da Comissão de 9 de Fevereiro de 2010, que altera o Regulamento (CE) N.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho no que se refere à lista de alegações nutricionais.

Regulamento (UE) N.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios.

Rodrigues, N. (2012). Preparação de Pastas com Azeitona de mesa Transmontana. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. Escola Superior Agrária de Bragança.

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

Romeo, F. V., De Luca, S., Piscopo, A., Perri, E. (2009). Effects of postfermentation processing on the stabilisation of naturally fermented green table olives (cv *Nocellara Etnea*). *Food Chemistry*, 116, 873-878.

Romeo, F. V. (2012). Olive Germplasm-The olive cultivation, table olive and olive oil industry in Italy. Microbiological aspects of table olives. InTech. Itália.

Santos, M. I., Correia, C., Cunha, M. I. C., Saraiva, M. M., Novais, M. R. (2005). Valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*, 64, 66-68.

Schoeneberger, H., Gross, R., Cremer, H., Elmadfe, I. (1982). Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis*. *The Journal of Nutrition*, 112, 70-76.

Segovia Bravo, K., Arroyo López, F., García García, P., Durán Quintana, M., Garrido Fernández, A. (2007). Treatment of green table olives solutions with ozone. Effect on their polyphenol content on *Lactobacillus pentosus* and *Saccharomyces cerevisiae* growth. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 60-68.

Sipsas, S. (2008a). Australian Sweet Lupin. A very healthy asset. Department of Agriculture and Food. Government of Western Austrália.

Sipsas, S. (2008b). Lupin products - Concepts and reality. Proceedings of the 12th International Lupin Conference. ISBN. Austrália.

Sipsas, S. (2014). Disponível em Lupin Foods Australia: <http://www.lupinfoods.com.au>. Consulta realizada a 23-02-2014.

Sousa, A., Ferreira, I., Calhelha, R., Andrade, P., Valentão, P., Seabra, R. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives “alcaparra”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 8533-8538.

Sujak, A., Kotlarz, A., Strobel, W. (2005). Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry*, 98, 711-719.

Szczapa, E. L., Konieczny, P., Kałucka, M. N., Walczak, S., Kossowska, I. Malinowska, M. (2006). Some functional properties of lupin proteins modified by lactic fermentation and extrusion. *Food Chemistry*, 96, 290-296.

Turgo, L., Donangelo, C., Turgo, N., Bach Knudsen, K. (2000). Effect of Heat Treatment on Nutritional Quality of Germinated Legume Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2082-2086.

Ünal, K. e Nergiz, C. (2003). The effect of table olive preparing methods and storage on the composition and nutritive value of olives. *Grasas y Aceites*, 54, 71-76.

WHO/FAO - World Health Organization/Food and Agriculture Organization). (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. Report of a joined WHO/FAO Expert consultation. In “Technical Report Series No. 916, Switzerland.

ANEXOS

ANEXO A
Folha de prova



Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____

E-mail: _____ Data: _____

Gostou do produto que provou? (assinale com x a sua opção)

Código	Sim	Não

Por favor, ordene as amostras que lhe são apresentadas por ordem crescente de PREFERÊNCIA GLOBAL.

	PREFERÊNCIA GLOBAL			
	Menos			Mais
Código amostra				



Relativamente ao produto que selecionou como o seu **preferido**:

O que gostou mais?

O que gostou menos?

- _____
- _____
- _____

- _____
- _____
- _____

ANEXO B
Folha de descritores



Instituto Politécnico de Castelo Branco
Escola Superior Agrária

Nome: _____

Data: _____ Amostra: _____

Descreva as sensações que tem do produto apresentado utilizando um vocabulário que lhe seja familiar

	Antes de provar	Durante a prova	Após a prova
Aspecto			
ODOR (ortonasal)			
SABOR (gostos básicos+ odor retronasal+sensações trigeminais)			
Textura (na boca)			
Textura (com a colher)			

ANEXO C
Folha de perfil

Folha de Perfil

Pastas de azeitona e tremçoço

Nome: _____

Data: ___/___/___ Amostra: _____

Instruções: Marque com um traço vertical, nas escalas abaixo, a posição que identifique melhor a intensidade da característica avaliada.

Aspetto

Espalhabilidade Baixa Elevada
|-----|Uniformidade Baixa Elevada
|-----|

Sabor

Salgado Baixa Elevada
|-----|Ácido Baixa Elevada
|-----|Amargo Baixa Elevada
|-----|

Defeitos

Fermentação anormal Baixa Elevada
|-----|Outros defeitos
(Especifique) Baixa Elevada
|-----|

Textura

Granulosidade Baixa Elevada
|-----|Adesividade Baixa Elevada
|-----|**Observações:** _____

Glossário

Espalhabilidade – Facilidade com que o produto a 20 °C é espalhado sobre a torrada, indo junto com a faca/espátula.

Uniformidade – Característica da pasta de textura/aspecto uniforme.

Salgado – Sabor básico produzido por soluções aquosas de substâncias como o cloreto de sódio.

Ácido – Sabor básico produzido por soluções aquosas diluídas de substâncias como o ácido cítrico.

Amargo - Sabor básico produzido por soluções aquosas diluídas de substâncias como a cafeína.

Fermentação anormal – Sensação olfativa detetada diretamente ou por via retro nasal característica de fermentação anormal das azeitonas. Podem ser:

- **Butírica:** sensação reminiscente de odor a decomposição de matéria orgânica;

- **Pútrida:** sensação reminiscente a manteiga ou queijo;

- **Sapateira:** sensação causada pela combinação de ácidos gordos voláteis e couro podre.

Granulosidade – Propriedade de textura relacionada com a presença de grânulos ou pedaços maiores de ingredientes na pasta.

Adesividade – Propriedade de textura em relação à força necessária para remover o produto que adere ao palato e/ou dentes.

Anexo D

Teste Z e teste de *Friedman*

Tabela D.1 - Teste Z para a percentagem de consumidores que gostaram das pastas na seleção da formulação base.

Amostras	T _{orégão}	T _{tomilho}	T _{limão}
T _{tomilho}	>0,05	-	-
T _{limão}	>0,05	>0,05	-
AT _(68/23)	>0,05	>0,05	<0,05

Tabela D.2 - Valores do *p-value* do teste de *Friedman* dos resultados da seleção da formulação base.

Amostras	T _{orégão}	T _{tomilho}	T _{limão}
T _{tomilho}	0,294	-	-
T _{limão}	0,599	0,793	-
AT _(68/23)	0,002	0,001	0,005

Tabela D.3 - Teste Z para a percentagem de consumidores que gostaram das novas formulações.

Amostras	AT _(68/23)	AT _(45/45)	AT _(23/68)
AT _(45/45)	>0,05	-	-
AT _(23/68)	>0,05	>0,05	-
T _{limão}	>0,05	>0,05	>0,05

Tabela D.4 - Valores de *p-value* do teste de *Friedman* dos resultados das novas formulações.

Amostras	AT _(68/23)	AT _(45/45)	AT _(23/68)
AT _(45/45)	0,077	-	-
AT _(23/68)	0,223	0,862	-
T _{limão}	0,003	0,024	0,384

Tabela D.5 - Valores de *p-value* do teste de *Friedman* dos resultados da seleção da formulação base.

Amostras	AT_{alho}	AT_{louro}	AT_{pimento}
AT_{louro}	0,019	-	-
AT_{pimento}	0,559	0,556	-
AT_{limão}	0,000	0,031	0,002