

**EFEITOS DO ULTRASSOM NAS PROPRIEDADES
REOLÓGICAS E MICROBIOLÓGICAS DA PASTA DE
AZEITONA**

HUGO RAFAEL DUARTE TEIXEIRA

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do
Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar*

ORIENTADO POR

Professor Dr. Ilton José Baraldi

Professor Dr. António Manuel Coelho Lino Peres

Bragança

2016

Trabalho desenvolvido no âmbito do acordo entre o Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Medianeira, com vista à dupla diplomação entre ambas as Instituições.



Efeitos do ultrassom nas propriedades reológicas e microbiológicas da pasta de azeitona

Hugo Rafael Duarte Teixeira

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para efeito da obtenção do Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar e como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Alimentos através do acordo de Dupla Diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Bragança
2016

Aos meus pais

Ao meu irmão

Aos meus padrinhos

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me iluminar e nunca me abandonar nos momentos mais difíceis.

Aos meus heróis, os meus pais, por todos os ensinamentos, pelas palavras de incentivo e pelo amor incondicional. Sem eles nenhum dos meus sonhos seria realidade.

Ao meu irmão pelas mensagens de apoio que me foram enchendo de coragem ao longo desta caminhada.

Aos meus padrinhos, pelo apoio constante e principalmente por me tratarem como um filho.

A Maria Pilar Pinto Macedo e ao Luís Pinto pela preocupação constante e por terem sido como irmãos ao longo da minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Doutor Ilton José Baraldi pela paciência, atenção, amizade, dedicação e constante orientação durante a realização deste trabalho e acima de tudo por se ter aventurado comigo no desenvolvimento deste tema de trabalho. Foi um enorme orgulho poder trabalhar ao seu lado.

Ao meu co-orientador Prof. Doutor António Manuel Coelho Lino Peres, que mesmo longe sempre esteve disponível para me ajudar. Agradeço também pela confiança e acima de tudo pela amizade.

Ao Prof. Doutor Valdemar Padilha Feltrin, pela ajuda essencial na realização da componente microbiológica, pelo incentivo e dedicação.

A Profa. Doutora Nádya Cristiane Steinmacher, pela paciência e ajuda na análise do perfil de textura das pastas de azeitona.

A Profa. Doutora Aziza Genena, por toda a ajuda e carinho desde que chegamos ao Brasil.

A UTFPR pela disponibilização dos materiais e recursos para a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Albino Bento, da Escola Superior Agrária, pelos esforços realizados para que este intercâmbio corre-se da melhor forma possível.

A Rute e a Lia, por terem embarcado comigo nesta aventura, por todos os bons momentos que partilhamos e por serem a melhor família que podia ter comigo nesta caminhada. Seremos amigos para o resto da vida.

Ao Carlos Almeida pela ajuda nas análises da composição química.

E por fim, mas nunca em último, aos meus amigos, principalmente ao Gabriel Tinhela, Tânia Gonçalves, Filipa Lopes, Catarina Henriques, Sara Rebordão, Telma Fernandes, Paula Oliveira, Filipa Martins, Sandy Fonseca, Diogo Sardinha e ao Fábio Santos pelo incentivo, carinho e amizade.

“A persistência é o caminho do Sucesso”

Charles Chaplin

Índice Geral

Índice de tabelas	iii
Índice de figuras	iv
Resumo	vii
Abstract	8
Capítulo 1- Introdução	9
Capítulo 2- Justificativa	13
Capítulo 3- Objetivos	15
3.1 Objetivo geral	16
3.2 Objetivos específicos	16
Capítulo 4- Revisão bibliográfica	17
4.1 A oliveira e seus produtos	18
4.3 Ultrassom e aplicações em tecnologia de alimentos	30
4.4 Fluídos, tensões e efeitos da viscosidade	34
4.5 Reologia dos alimentos	36
4.7 Análise estatística	41
Capítulo 5- Material e métodos	42
5.1 Preparação da pasta de azeitona recorrendo-se a tratamento térmico.....	43
5.2 Preparação das pastas de azeitonas com auxílio do ultrassom.....	44
5.3 Planeamento fatorial completo	45
5.4 Composição química	45

5.4.1 Humidade	46
5.4.2 Proteína.....	46
5.4.3 Lípidos totais	47
5.4.4 Cinzas	47
5.5 pH.....	48
5.6 Determinação da atividade de água.....	48
5.7 Contagem total de aeróbios mesófilos em placa.....	49
5.8 Contagem total de bolores e leveduras em placas.....	50
5.9 Análise do perfil de textura	51
5.10 Determinação das características cromáticas de acordo com o modelo CIElab.	53
5.11 – Tratamento estatístico dos dados	53
Capítulo 6- Resultado e discussões	54
6.1 Composição química.....	55
6.2 pH.....	56
6.3 Atividade de Água (Aw).....	58
6.4 Microbiologia	59
6.5 – Textura	62
6.7 – Cor.....	71
Capítulo 7- Conclusões	73
Capítulo 8- Referências.....	75

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Parâmetros de qualidade em azeites fixados por diferentes entidades internacionais, em que x representa presente e – ausência.	26
Tabela 2- Média da composição química e valor energético das pastas de azeitona em g por 100g de peso fresco.	29
Tabela 3- Definição física das propriedades da textura.....	40
Tabela 4- Propriedades texturais obtidas na curva de TPA.	41
Tabela 5– Planeamento efetuado na sonificação das amostras.	46
Tabela 6– Composição química das pastas de azeite antes dos tratamentos, após tratamento térmico e após sonificação	56
Tabela 7- Valores de pH das pastas de azeitonas antes de tratamento, após tratamento térmico e após sonificação.....	58
Tabela 8- Valores de atividade de água das pastas de azeitonas antes de tratamento, após tratamento térmico e após sonificação.	59
Tabela 9-Resultados das análises microbiológicas antes de tratamento, após tratamento térmico e após sonificação.....	61
Tabela 10– Análise de textura da pasta de azeitona antes de tratamento, após tratamento térmico e após tratamento com ultrassom.....	64
Tabela 11– Resultados do planeamento fatorial completo com variáveis independente tempo e potência do ultrassom.....	67
Tabela 12– Medidas de cor no espaço $L^*a^*b^*$ das pastas de azeitona antes do tratamento, após tratamento térmico e após tratamento com ultrassom.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-Representação esquemática da azeitona. Fonte: Nogueira (2012). ...	19
Figura 2- Previsão da produção de azeitona de mesa em (1000 toneladas) para o ano de 2015. Fonte: Adaptado de COI (2014).....	22
Figura 3- Previsão da produção de azeitona de mesa em (1000 toneladas) para o ano de 2015. Fonte: Adaptado de COI (2014).	23
Figura 4- Previsão da produção de azeite em (1000 toneladas) para o ano de 2014/2015. Fonte: Adaptado de COI (2014A).....	24
Figura 5- Elaboração de pastas de azeitona. Fonte: Rodrigues, (2012).	28
Figura 6- Formação de bolhas, crescimento de bolhas e colapso subsequente ao longo de vários ciclos acústicos. Fonte: Leong;Ashokkumar;Kentish (2011).....	32
Figura 7- Efeitos do fenómeno de cavitação. Fonte: Pingret et al. (2012).....	33
Figura 8- Efeito do ultrassom nas membranas celulares dos microrganismos. Fonte:Chemat;Kahan;Zill-e-Huma (2011).....	34
Figura 9- Tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação para o escoamento unidimensional de diversos fluidos não-newtonianos fonte: (adaptado de Schiozer, 1996).....	36
Figura 10- Viscosidade aparente em função do tempo de deformação para o escoamento unidimensional de diversos fluidos não-newtonianos. Fonte: (adaptado de Fox;Mcdonald 2001).....	37
Figura 11- Curva geralmente obtida em uma análise do perfil de textura. Fonte: Szczesniak, 2011.....	41

Figura 12- Diagrama do procedimento adotado na formulação das pastas de azeitonas. Fonte: adaptado de Rodrigues (2012).....	44
Figura 13- Diagrama do procedimento adotado na formulação das pastas de azeitona com auxílio do ultrassom. Fonte: adaptado de Rodrigues, 2012.....	45
Figura 14-Texturômetro <i>Stable Micro Systems</i> , TA.HD.Plus, Godalming, UK, utilizado na análise do perfil detextura.....	52
Figura 15- Copo utilizado na avaliação das propriedades da textura das pastas de azeitonas.....	53
Figura 16- <i>Probe Cylinder Derlin Radiused</i> , durante a medição da textura.....	53
Figura 17- Placas de bolores e leveduras em triplicata nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em que A representa pastas de azeitonas sem qualquer tipo de tratamento U representa pastas de azeitona sonificadas do ponto central do planeamento fatorial (tabela 4).	62
Figura 18- Placas de bolores e leveduras em triplicata na diluição 10^{-3} em que A representa pastas de azeitonas sem qualquer tipo de tratamento, T representa pastas de azeitonas pasteurizadas e U representa pastas de azeitona sonificadas no ponto central (5,6,7).....	63
Figura 19- Comparação entre emulsificação entre métodos convencionais e ultrassom. Fonte: Mancosky;Milly (2011).....	65
Figura 20- Placas de bolores e leveduras em triplicata na diluição 10^{-3} em que A representa pastas de azeitonas sem qualquer tipo de tratamento, T representa pastas de azeitonas pasteurizadas e U representa pastas de azeitona sonificadas representando o planeamento fatorial (tabela 4).....	68

Figura 21- Efeito das variáveis tempo e potência na dureza da pasta de azeitona.....70

Figura 22- Curva de contornos de dureza em função do tempo e potência.....71

RESUMO

TEIXEIRA, R. D. HUGO. **Efeito do ultrassom nas propriedades reológicas e microbiológicas da pasta de azeitona**. TCC. Curso Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira, 2016.

A oliveira (*Olea europaea L.*) é uma das culturas mais importantes da paisagem mediterrânea. O azeite e as azeitonas de mesa fermentadas são os produtos mais importantes oriundos da azeitona. Contudo na tentativa de aproveitar matéria-prima que visualmente não se encontra dentro dos padrões de qualidade surgiu a pasta de azeitona, que é basicamente a trituração das azeitonas, a adição de azeite, sumo de limão e especiarias. O ultrassom é uma tecnologia que se tem mostrado bastante eficaz em processos de pasteurização, extração, homogeneização entre outros, sendo que é uma tecnologia interessante principalmente por ser considerada limpa e de baixo custo de manutenção, permitindo a obtenção de resultados satisfatórios como adjuvante da produção de uma gama variada de produtos. O objetivo principal deste trabalho foi estudar o efeito do ultrassom nas propriedades reológicas e microbiológicas da pasta de azeitona. Verificou-se também o efeito do ultrassom nas características físico-químicas, no pH e na atividade de água das pastas de azeitonas. Realizou-se a análise do perfil de textura, comprovando-se que o tempo de processamento no ultrassom tem um efeito negativo na dureza das pastas de azeitonas ($p < 0,05$). Nos demais parâmetros, não se verificam alterações. Os valores de coesividade obtidos nas amostras de estudo sugerem que as pastas de azeitonas apresentam uma natureza viscoelástica com dominância viscosa. O ultrassom demonstrou eficiência no controle microbiológico das pastas de azeitonas, reduzindo as bactérias mesófilas para valores $< 10^2$ UFC/g e os bolores e leveduras para valores de $(8,7 \pm 2,4) \cdot 10^3$ UFC/g. Na composição físico-química verificou-se que as pastas de azeitona sonificadas apresentaram valores de humidade de $74,69 \pm 0,81\%$, teores em lípidos de $15,21 \pm 0,21\%$, teores de proteína de $1,14 \pm 0,05\%$, e hidratos de carbono de $7,89 \pm 0,02\%$. No geral obtiveram-se resultados que comprovam que o ultrassom pode efetivamente ser um método alternativo na produção de pastas de azeitonas.

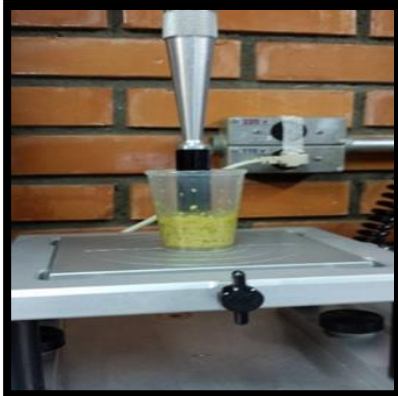
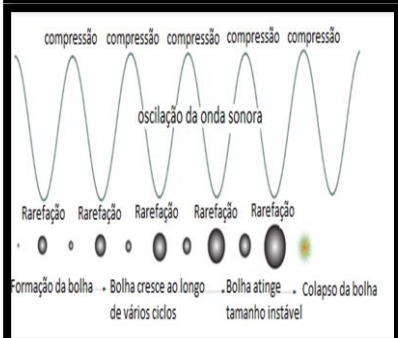
Palavras-chave: Pasta de azeitona, ultrassom, textura, microbiologia.

ABSTRACT

TEIXEIRA, R. D. HUGO. **Effect of ultrasound on the rheological and microbiological properties of the olive paste.** TCC. Curso Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira, 2016.

The olive tree (*Olea europaea L.*) is one of the most important cultures of the Mediterranean landscape. Olive oil and table olives fermented are the most important products from olive. However in an attempt to take advantage of raw material that visually is not within the standards of quality, emerged the olive paste, which is basically pitted table olives, adding olive oil, lemon juice and spices. The ultrasound is a technology that has proven quite effective in pasteurization processes, extracting, homogenizing among others, and is an interesting technology mainly because it is considered clean, low maintenance cost, enabling satisfactory results as an adjunct of the production of a wide range of products. The main objective of this work was to study the effect of ultrasound on the rheological properties and microbiological characteristics of the olive paste. It was also verified the effect of ultrasound on physicochemical characteristics, pH and water activity of olive pastes. The texture profile analysis, proved that the time of ultrasound has a negative effect on hardness of olive pastes ($p < 0,05$). The remaining parameters are not changed. The values of cohesiveness obtained in the study samples, suggest that the olive pastes have a viscoelastic nature with viscous dominance. The remaining parameters are not changed. The ultrasound showed efficiency in microbiological control of olives pastes, reducing the mesophilic bacteria to values $< 10^2$ CFU/g and the yeasts and molds for values of $(8,7 \pm 2.4) \cdot 10^3$ CFU/g. On the physicochemical composition it was found that olives pastes treated with ultrasound presented values moisture of $74,69 \pm 0,81\%$, lipid contents of $15,21 \pm 0.21\%$, protein contents of $1,14 \pm 0.05\%$, and carbohydrates contents of $7,89 \pm 0.02\%$. Overall the results obtained prove that the ultrasound can effectively be an alternative method in the production of olive pastes.

Keywords: Olive paste, ultrasound, texture, microbiology.



Capitulo 1

Introdução

A oliveira (*Olea europaea L.*) é uma das culturas mais antiga do mundo e começou a espalhar-se a partir do Médio Oriente para o Ocidente. Os romanos estenderam o seu cultivo para as ilhas gregas e para a bacia do Mediterrâneo, principalmente ao longo do continente africano e costas europeias (CIPRIANI, 2012).

Atualmente, os maiores plantios de oliveira no Brasil estão localizados nos estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul, a área total plantada atinge 600 hectares, sendo que muitas destas áreas ainda estão a entrar em produção (PESTANA-BAUER, 2011).

A importância da oliveira está principalmente relacionada com os produtos que dela advêm.

O azeite é obtido a partir dos frutos da oliveira. Os países do Mediterrâneo fornecem mais de 95% da produção mundial de azeite, sendo que destes, 75% do azeite é oriundo da União Europeia (principalmente Espanha, Itália e Grécia contribuem com 4% da produção total de óleo vegetal: a produção mundial é de cerca de 2.000.000 toneladas, ano). Devido ao aumento da popularidade da dieta mediterrânica, em que o azeite é o principal componente de gordura, a sua produção está a expandir-se aos produtores não tradicionais, como os Estados Unidos, Canadá, Austrália, América do Sul e Japão (VISIOLI, 2002).

Segundo o *Codex Alimentarius* e o Conselho Internacional Olivícola (2015), o azeite pode-se dividir em diferentes categorias comerciais nomeadamente, virgem extra, virgem e lampante.

A partir desta classificação, pode concluir-se que o tipo de azeite mais valioso é o virgem extra, obtido a partir de azeitonas intactas que são rapidamente transformadas e prensadas a frio. Desta maneira, a ativação de lipases celulares e a degradação dos triglicéridos são minimizadas (VISIOLI, 2002).

O azeite virgem tem uma elevada resistência à deterioração oxidativa, devido à baixa composição em triacilglicerol, ácidos gordos poli-insaturados e a um elevado conjunto de antioxidantes principalmente polifenóis e tocoferóis. Os polifenóis são essenciais para a estabilidade do azeite virgem (VELASCO; DOBARGANES, 2002).

A azeitona de mesa é um dos produtos fermentados de maior importância no mundo ocidental. Apesar de não possuir produção significativa, o Brasil está entre os dez maiores consumidores de azeitona de mesa do mundo (CAPPATO; FERREIRA; ROSENTHAL, 2014).

São vários os métodos utilizados no seu processamento, sendo os mais comuns a fermentação ao natural, o método Sevilhano e o método Californiano (PEREIRA et al., 2009).

A União Europeia foi responsável pela produção de mais de 54% de toda a produção mundial de azeitonas de mesa em 2010. Nos três anos avaliados, com exceção da Espanha, os principais países produtores da União Europeia apresentaram quedas na produção, como foi o caso da Itália (9%), Grécia (30%) e Portugal (31%). A maior importação de azeitonas de mesa em 2010/11 foi realizada pelos EUA, sendo de 138.000 toneladas (TERAMOTO et al., 2013).

A pasta de azeitona é uma pasta triturada feita a partir de azeitonas de mesa, previamente curadas através dos diferentes estilos anteriormente descritos, sendo consumidas de diferentes formas e usadas na elaboração de diversos pratos culinários particularmente na zona do Mediterrâneo (RODRIGUES, 2012).

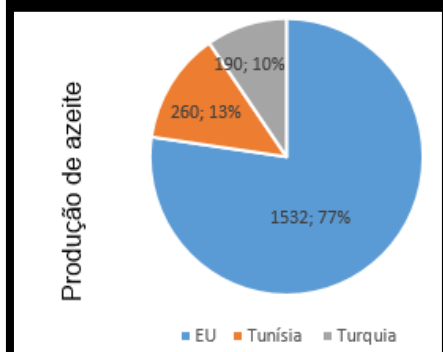
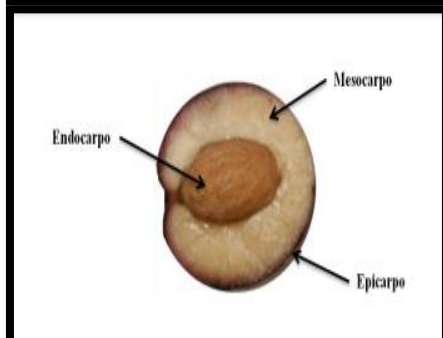
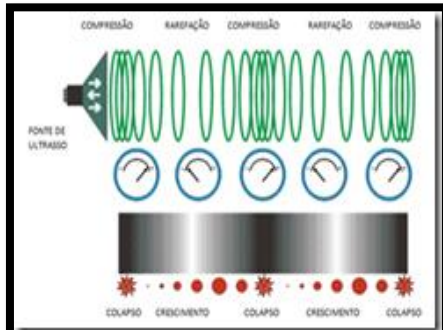
O ultrassom tem sido objeto de grande estudo pelos comitês científicos principalmente pela sua aplicabilidade na área alimentar. As faixas de som empregadas podem ser divididas em baixa e alta frequência, na faixa Megahertz em baixa frequência e ultrassom de alta frequência de alcance nas gamas de kilohertz (MASON; PANIWNYK; LORIMER, 1996).

São muitas as aplicações do ultrassom, tanto em processos de extração, processamento alimentar (CHEMAT et al., 2011), pasteurização (HERCEG, 2013) entre outros.

A viscosidade pode ser afetada severamente por variáveis como a tensão de cisalhamento, temperatura e pressão (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989), sendo este parâmetro crucial no desenvolvimento de novos produtos nomeadamente de novas formulações alimentares. A tensão de cisalhamento pode ser calculada dividindo a força do fluido pela área do material onde o fluido circula. Tanto em fluidos newtonianos como em fluidos não-newtonianos vários estudos em diferentes materiais comprovaram que a

viscosidade decresce com o aumento da tensão de cisalhamento. (BARNES; HUTTON; WALTERS, 1989).

O ultrassom é uma técnica que pode provocar a deformação/degradação dos materiais (PINGRET et al.,2012) e é normalmente associado a processos com temperaturas, logo é esperado que o uso do ultrassom possa causar alterações nas propriedades da pasta de azeitona.



Capítulo 2

Justificativa

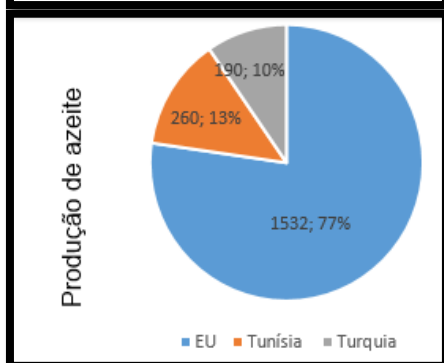
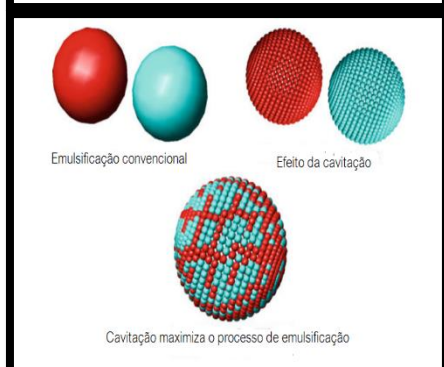
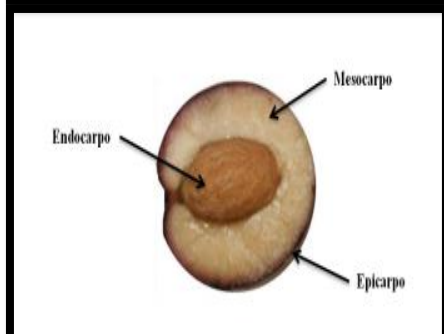
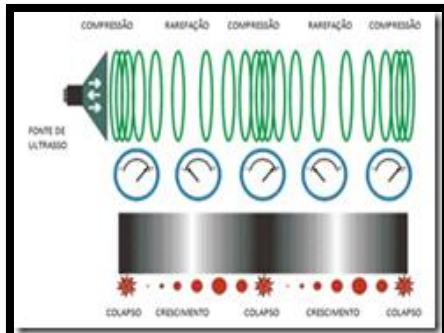
Os produtos derivados da azeitona, como o azeite e as azeitonas fermentadas, fizeram desde sempre, parte da dieta mediterrânea. Contudo com o passar dos anos estes produtos têm vindo a ser consumidos por todo o mundo. Estes novos consumidores estão a seguir os benefícios da dieta mediterrânea o que levou a um aumento do consumo dos derivados da azeitona, produtos básicos e essenciais na alimentação da população ao longo do mar mediterrâneo (BOSKOU,2006).

Sendo que este consumo a nível mundial levou a um incremento da produção é essencial o estudo de novas tecnologias que permitam transformar os produtos de forma segura, mantendo a qualidade e rentabilizando os processos industriais.

A necessidade de aproveitamento de azeitonas que não possuam a aparência desejada, mas que sejam igualmente próprias para consumo humano levou ao aparecimento da pasta de azeitona, que segundo o COI (2014) não é nada mais do que “o produto obtido pela trituração ou corte muito fino de azeitonas de mesa sem caroço”.

A tecnologia de alimentos é uma ciência dinâmica em constante evolução, em que se busca simultaneamente atender à expectativa dos consumidores, produzindo produtos que correspondam aos padrões de qualidade. O ultrassom aparece assim com uma das novas tecnologias limpas aplicadas a alimentos (ALVES et al.,2013).

Os estudos em ultrassom demonstram que esta metodologia é eficiente na eliminação de microrganismos e enzimas, em processos de extração e homogeneização (MASON; PANIWNYK; LORIMER, 1996). Logo é esperado que esta metodologia seja extremamente eficaz na produção de pasta de azeitonas que correspondam aos padrões de qualidade pré-estabelecidos.



Capítulo 3

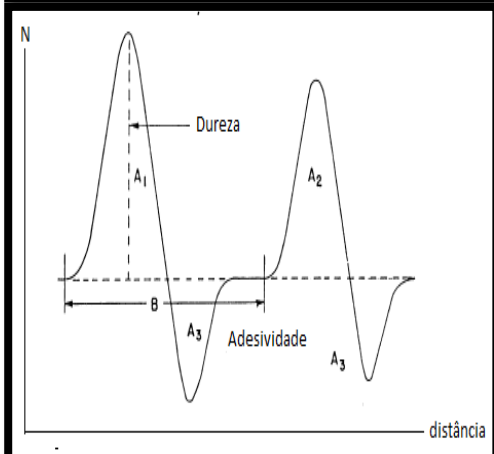
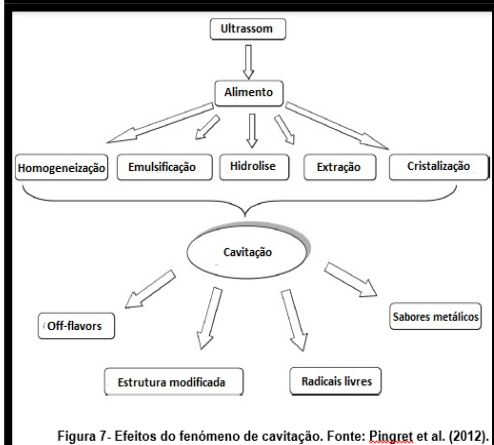
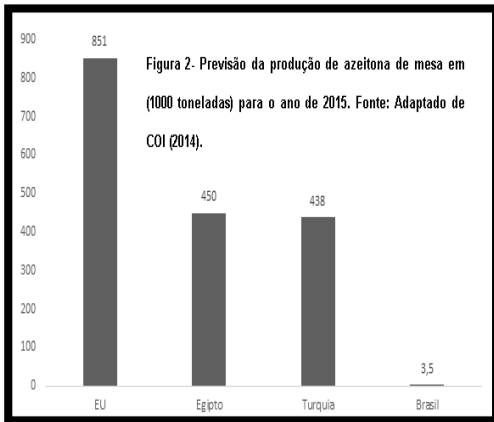
Objetivos

3.1 Objetivo geral

Analisar o efeito do ultrassom nas propriedades reológicas e microbiológicas da pasta de azeitona.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar através de contagem total de microrganismos as possíveis diferenças entre a eficácia da pasteurização convencional de pastas de azeitonas e o uso do ultrassom;
- Analisar os componentes do perfil de textura da pasta de azeitonas elaborada por pasteurização convencional e por uso de ultrassom;
- Analisar a composição química das pastas de azeitonas sonificadas;
- Efetuar um planejamento fatorial completo dos ensaios de modo a otimizar a compreender os efeitos das variáveis tempo de sonificação e potência de sonificação nas propriedades microbiológicas e textura da pasta de azeitona.



Capitulo 4

Revisão bibliográfica

4.1 – A oliveira e seus produtos

A oliveira é característica da paisagem mediterrânea. Supõe-se que tenha sido originária da Síria, Ásia Menor, Etiópia, Egito ou Índia (POLYMEROU-KAMILAKIS, 2006).

Durante o século XIX, a agricultura de oliveiras atingiu um pico de cultivo devido principalmente à alimentação à base de gorduras, e visto que as sementes oleaginosas não eram conhecidas o suficiente para serem exploradas como fontes de óleos comestíveis, a expansão da oliveira foi abrupta. O cultivo da oliveira foi estendido para outras regiões do mundo onde as condições climáticas e outros fatores são tão favoráveis quanto as que prevalecem nos países do Mediterrâneo, é o caso de países como o Brasil, Chile e a Argentina (BOSKOU;BLEKAS;TSIMIDOU, 2006).

A azeitona, fruto da oliveira (*Olea europaea*) é um pomo carnoso com apenas uma semente, sendo esta aderida ao endocarpo de tal forma que só pode ser separada mecanicamente.

A azeitona (figura 1) é constituída pelo pericarpo que é dividido em duas partes: o epicarpo (pele) e o mesocarpo (celulose) que corresponde a cerca de 65-83% do peso total. O epicarpo é coberto com cera e muda de verde-claro a preto conforme o estado de maturação do fruto (BOSKOU;BLEKAS;TSIMIDOU 2006).



Figura 1-Representação esquemática da azeitona. Fonte Nogueira, 2012.

Quanto à composição química da azeitona, embora esta possa variar ligeiramente com a variedade e o grau de maturação, pode-se afirmar que este

fruto contém cerca de 70,1-74,2% de humidade (SOUSA et al., 2011; MALHEIRO et al., 2011), 2,9-4,6% de proteína (NOGUEIRA, 2012), 12,5-20,1% de gordura (SOUSA et al., 2011; MALHEIRO et al., 2011), 6,3-9,2% de hidratos de carbono (MALHEIRO et al., 2011) e 1,6-1,9% de cinzas (MALHEIRO et al., 2011). Devido à presença de oleuropeína as azeitonas não podem ser consumidas diretamente da árvore. Sendo assim ao longo dos anos tem-se promovido uma série de processos, para torná-las comestíveis, que podem diferir consideravelmente de região para região (ARROYO-LÓPEZ et al., 2010).

As azeitonas podem ser divididas segundo a sua aptidão para o processo tecnológico a que se destinam. Ou seja, dentro das variedades de azeitonas existem aquelas mais aptas, por exemplo, para azeite e outras mais aptas para a produção de azeitonas de mesa.

Segundo o Conselho Internacional Oleícola (COI), azeitonas de mesa são produtos preparados a partir da variedade da oliveira (*Olea europaea L.*) cujo volume, forma, proporção polpa-caroto, sabor, consistência e facilidade de separação do caroto são particularmente apropriadas para o seu processamento.

Segundo o *Codex Alimentarius* (2012), as azeitonas de mesa podem ser classificadas de diferentes formas, sendo que neste trabalho será feita uma breve descrição da classificação quanto ao grau de maturação e ao modo de preparação. Sendo assim em relação ao grau de maturação as azeitonas podem ser classificadas como:

- **Azeitonas verdes:** frutos colhidos durante o período de maturação, antes de colorir e depois de terem atingido o normal tamanho;
- **Azeitonas mistas:** frutos colhidos antes da fase completa de maturação na mudança de cor;
- **Azeitonas pretas:** frutos colhidos inteiramente maduros.

Já em relação ao modo de preparação as azeitonas podem ser processadas de diferentes formas, tais como:

- **Fermentação natural;**
- **Método sevilhano;**

- **Método californiano.**

Na fermentação ao natural, as azeitonas depois de colhidas são transportadas para a unidade de transformação, onde se procede à separação dos frutos danificados, à lavagem para a remoção de substâncias contaminantes (terra, restos de folhas e caules) e por fim são colocadas em salmoura com uma percentagem de sal entre 6-10% (NYCHAS et al., 2002).

No método sevilhano após os processos de separação dos frutos danificados e limpeza das azeitonas, estas sofrem um tratamento com hidróxido de sódio com o objetivo de reduzir o amargor pela remoção da oleuropeína. Após finalizado este processo as azeitonas são lavadas, colocadas em salmoura onde sofrem fermentação sendo posteriormente embaladas (ROMEO, 2012).

No método californiano ou também conhecido como oxidação alcalina as azeitonas depois de tratadas, são colocadas em soluções salinas e escurecidas ao longo do ano através de tratamentos com hidróxido de sódio, sendo que no fim do processo é adicionado ar sob pressão que juntamente com os tratamentos de hidróxido de sódio promovem a oxidação da azeitona. Posteriormente, é adicionado à última água de lavagem, 0,1% de gluconato ferroso para estabilizar a cor alcançada na oxidação (ARROYO-LÓPEZ et al., 2010).

Após finalizado todo o processo de fabricação, as azeitonas têm de ser classificadas em termos comerciais. Segundo a norma ISO 66-1981 revista em 2013, as azeitonas de mesa disponíveis para consumo, na Europa, são comercializadas como:

- **Extra ou A;**
- **1ª Categoria ou B;**
- **2ª Categoria ou C.**

A denominação de azeitonas de mesa extra corresponde a azeitonas de qualidade superior, elevada ao máximo em termos das características específicas da variedade e preparação comercial. São admissíveis ligeiros defeitos de cor, forma, firmeza da polpa e defeitos da epiderme, desde que não afete o aspeto geral e características organoléticas do fruto. Nesta categoria

apenas são admitidas azeitonas inteiras, descaroçadas e recheadas das melhores variedades (*Codex Alimentarius*, 2013).

Na 1ª categoria ou B, as azeitonas são de boa qualidade, em estado de maturação apropriado e dotadas de características próprias da variedade e preparação comercial. São admissíveis ligeiros defeitos de cor, forma, firmeza da polpa e defeitos da epiderme, desde que não afete o aspeto geral e características organoléticas do fruto. Nesta categoria são admitidos todos os tipos de tratamento e formas de apresentação, exceto as azeitonas em pedaços, azeitonas partidas e pasta de azeitona (*Codex Alimentarius*, 2013).

Por fim a 2ª categoria ou C, admite azeitonas de boa qualidade, mas que não podem ser incluídas nas duas categorias superiores (*Codex Alimentarius*, 2013).

Na Figura 2 estão apresentados os maiores produtores de azeitonas de mesa e em contraste a produção do Brasil.

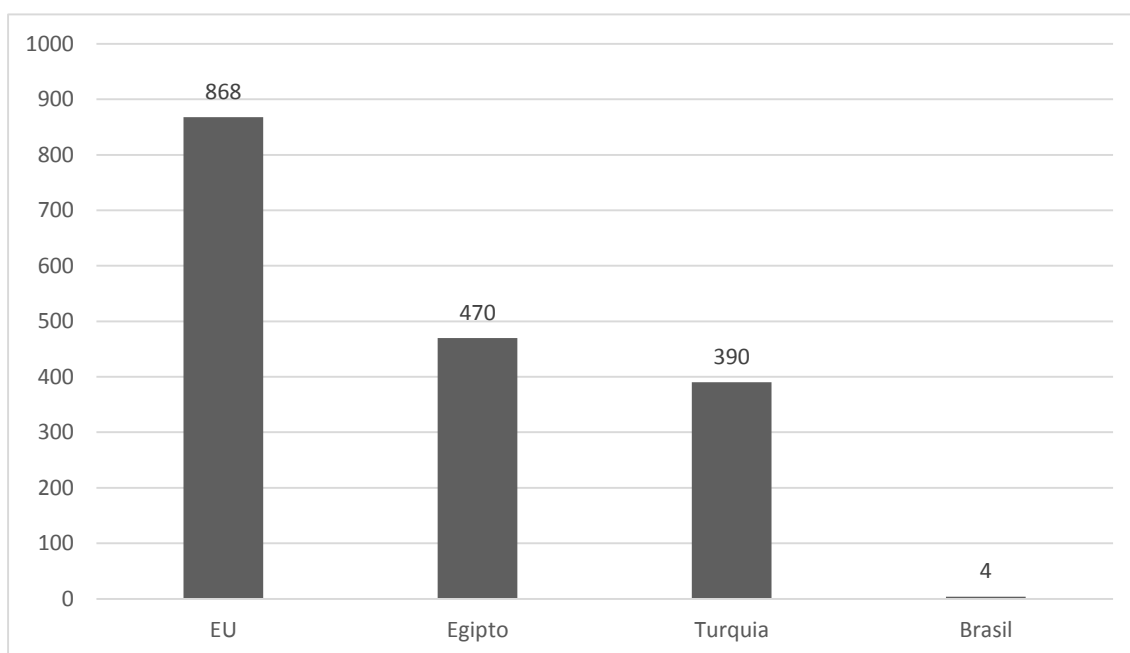


Figura 2- Produção de azeitona de mesa em (1000 toneladas) para o ano de 2014/2015.

Fonte: Adaptado de COI (2015).

O mercado de azeitonas de mesa tem crescido ao longo dos anos estimando-se uma produção a volta das 2.355,5 mil toneladas de fruto para o

ano de 2015 (COI, 2014). Pela análise da Figura 2 em 2014/2015, a união europeia foi a maior produtora de azeitonas com 868 mil toneladas, seguido do Egito com 470 mil toneladas e da Turquia com 390 mil toneladas. Já em relação ao Brasil a produção ronda as 4,0 mil toneladas de azeitonas de mesa.

No Brasil, apesar do cultivo de oliveiras e a produção de azeitonas de mesa não ser uma tradição enraizada, existem alguns relatos de cultivos de azeitona da variedade Carolea. Esta variedade desperta grande interesse por causa de suas características adequadas para a produção do azeite e de azeitona em conserva verde ou negra. Os seus frutos são de tamanho grande (4,5 g), sendo altamente produtiva, com elevada capacidade de enraizamento e muito tolerante a baixas temperaturas, características que a tornam propícia para plantio no sul do Brasil, nomeadamente em Pelotas (PESTANA-BAUER et al., 2011).

Em relação às importações de azeitonas de mesa, os dados estatísticos do Conselho Internacional Oleícola (2014) apontam os EUA como o maior importador de azeitonas do mundo em 2015 com 160 mil toneladas, seguindo-se o Brasil com 112 mil toneladas.

Pela análise da Figura 3 é evidente o gosto pelas azeitonas de mesa por parte da população brasileira, o que torna ainda mais crucial o desenvolvimento e alargamento do território cultivado, visto que ainda se pode considerar que o Brasil importa quase 100% do volume total consumido de azeitonas de mesa no país devido à baixa produção apresentada ao longo dos últimos anos (adaptado de PESTANA-BAUER; GOULARTE-DUTRA; ZAMBIAZI, 2011).

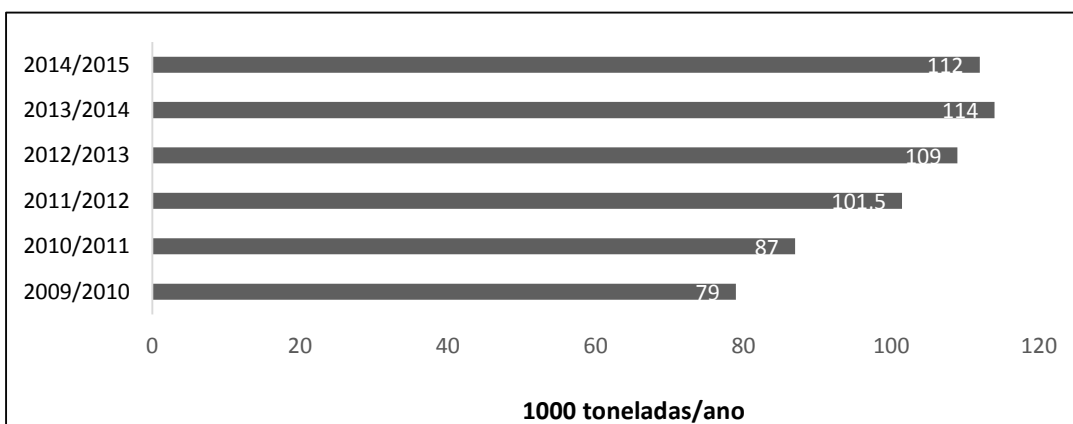


Figura 3- Importações de azeitonas de mesa (em 1000 toneladas) pelo Brasil entre 2009-2015.

Fonte: adaptado de COI (2014).

O azeite é o principal produto obtido das azeitonas. Segundo o COI e o Codex Alimentarius, azeite é o óleo que provem unicamente do fruto da oliveira (*Olea europaea L.*), com exclusão dos azeites obtidos com solventes ou por processos de re-esterificação e de qualquer mistura com óleos de outra natureza.

Durante os últimos 20 anos, a produção mundial aumentou em quase 70%, de 1,7 a 2,8 milhões de toneladas. Mais da metade desse aumento é proveniente de Espanha que aumentou sua produção de 505 para 1.154 mil toneladas, atingindo um recorde de 1.412 mil toneladas na safra de 2003/2004 (ZAMPOUNIS,2006).

Na Figura 4 é apresentado a previsão da produção de azeite em (1000 toneladas) para a safra de 2014/2015.

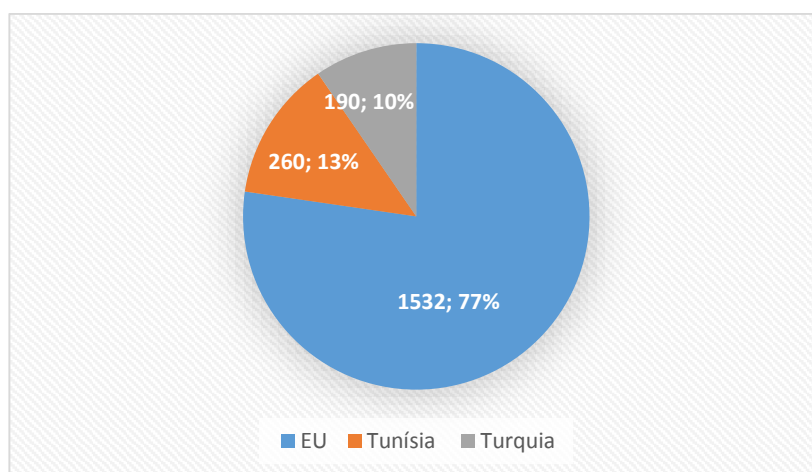


Figura 4- Previsão da produção de azeite em (1000 toneladas) para o ano de 2014/2015. Fonte: Adaptado de COI (2014A).

Através da observação da Figura 4 é visível o domínio da União Europeia na produção de azeite. Em relação ao Brasil, segundo o COI (2014A) a produção esperada é insuficiente para constar na lista de maiores produtos. Já em relação às importações a mesma fonte sugere que em 2015 o Brasil importará 72.000 toneladas de azeite.

Da composição química do azeite cerca de 99% são triacilgliceróis correspondendo à fração saponificável, sendo que os restantes 1%

correspondem à fração insaponificável constituída por ácidos gordos livres, mono- e diacilgliceróis, e uma variedade de lípidos, como hidrocarbonetos, esteróis, álcoois alifáticos, tocoferóis, e pigmentos (BOSKOU;BLEKAS;TSIMIDOU, 2006).

Estão ainda presentes uma quantidade apreciável de compostos fenólicos e compostos voláteis (BOSKOU;BLEKAS;TSIMIDOU, 2006). Contudo a composição química do azeite pode variar de amostras para amostras dependendo da zona de cultivo, clima, latitude, variedade e do estado de maturação do fruto.

O azeite pode ser classificado quanto ao processo de obtenção e designação comercial.

Sob o ponto de vista de processamento tecnológico o azeite pode ser dividido em azeites virgens e azeites refinados.

Os azeites virgens são aqueles que são obtidos a partir do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros processos físicos — em condições que não alterem o azeite — e que não tenham sofrido outros tratamentos além da lavagem, da decantação, da centrifugação e da filtração (CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA, 2001).

Os azeites refinados são obtidos por refinação (processos químicos) de azeite virgem, com uma acidez livre expressa em ácido oleico não superior a 0,3 g por 100 g de produto (CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA, 2001).

Sob o ponto de vista comercial o Conselho da união europeia (2001), classifica as principais categorias de azeites em:

- **Azeite virgem extra:** Azeite virgem com gosto perfeitamente irrepreensível e com acidez livre, expressa em ácido oleico, não superior a 0,8 g por 100 g e com as outras características conformes com as previstas para esta categoria;
- **Azeite virgem:** Azeite virgem com gosto irrepreensível uma acidez livre, expressa em ácido oleico, não superior a 2 g por 100 g e com as outras características conformes com as previstas para esta categoria;
- **Azeite refinado:** Azeite obtido por refinação de azeite virgem, com uma acidez livre expressa em ácido oleico não superior a 0,3 g por

100 g e com as outras características conformes com as previstas para esta categoria;

- **Azeite:** Azeite constituído por loteamento de azeite refinado e de azeite virgem, com exclusão do azeite lampante, com uma acidez livre expressa em ácido oleico não superior a 1 g por 100 g e com as outras características conformes com as previstas para esta categoria.

A definição de qualidade em azeites é extremamente complexa, visto que depende da opinião pessoal do consumidor. Contudo na tentativa de normalizar os parâmetros de qualidade, vários organismos internacionais definiram controlos obrigatórios a determinados parâmetros químicos (ANGEROSA;CAMPESTRE;GIANSANTE, 2006) de modo a garantir ao consumidor um produto genuíno e verdadeiro.

Na Tabela 1, listam-se os parâmetros normalmente analisados de acordo com diferentes entidades: Conselho Internacional Oleícola (COI), *Codex Alimentarius*, Instrução Normativa nº 1 (Brasil, 2012) e União Europeia.

Tabela 1- Parâmetros de qualidade em azeites fixados por diferentes entidades internacionais, em que x representa presente e – ausência.

<i>Parâmetro</i>	COI	Codex alimentarius	Instrução Normativa nº1	UE
<i>Método de amostragem</i>	x	x	—	x
<i>Acidez livre</i>	x	x	x	x
<i>Índice de peróxidos</i>	x	x	x	x
<i>Absorvência na região UV</i>	x	x	x	x
<i>Análise sensorial</i>	x	x	—	x
<i>Solventes halogenados voláteis</i>	x	x	x	x
<i>Impurezas insolúveis</i>	x	x	—	—
<i>Teor em ceras</i>	x	x	x	x

Fonte: Adaptado de Angerosa;Campestre;Giansante, (2006).

Da análise da Tabela 1, é claramente visível que a norma implementada no Brasil é muito menos exaustiva do que as normas internacionais. A principal lacuna encontra-se na não inclusão da análise sensorial, parâmetro essencial para determinar a qualidade dos azeites.

A metodologia para avaliar as características organolépticas dos azeites virgens, conhecido como método de ensaio painel, foi desenvolvido em 1980 pelo COI, e posteriormente incluído na legislação comunitária (ANGEROSA;CAMPESTRE;GIANSANTE, 2006).

O método envolve como instrumento de medição, um grupo de 8 a 12 pessoas (painel de provadores), devidamente selecionadas e treinadas para identificar e avaliar as intensidades das percepções sensoriais positivas e negativas (ANGEROSA;CAMPESTRE;GIANSANTE, 2006).

Este procedimento é tão importante que na união europeia um azeite que seja considerado lampante (com demasiados defeitos) na análise sensorial não passa sequer para a análise química. Esta metodologia permite detetar defeitos como, o ranço, o avinagrado, o metálico entre outros, que afetam de forma permanente a qualidade dos azeites. Ou seja, um azeite com uma acidez de 0,1g expressa em ácido oleico, que teoricamente estaria na categoria comercial de extra virgem pode ser um azeite lampante depois de analisado na prova sensorial (adaptado BERTONCINI;TESTA, 2014).

As pastas de azeitona são um produto apreciado e com procura crescente por parte do consumidor. No seu processamento diferentes aspetos deverão ser tidos em conta, sendo a segurança para o consumidor um dos mais importantes (RODRIGUES et al., 2012).

O Conselho Internacional Oleícola (2014) define pasta de azeitona como o produto obtido pelo esmagamento ou corte muito fino de azeitonas de mesa sem caroços. Estas pastas podem posteriormente ser aromatizadas com diferentes especiarias.

Foram desenvolvidos alguns estudos relativamente a formulação deste produto. Sendo assim, na Figura 5 apresenta-se o modo de preparação da pasta de azeitona.



Figura 5- Elaboração de pastas de azeitona. Fonte: Rodrigues, (2012).

Na literatura é possível encontrar dados relativos à composição química e valor energético da pasta de azeitona, valores que se encontram na Tabela 2 (RODRIGUES, 2012).

Tabela 2- Média da composição química e valor energético das pastas de azeitona em g por 100g de peso fresco.

Composição química da pasta de azeitona	
<i>Humidade(%)</i>	72,34±1,16
<i>Cinzas(%)</i>	3,31±0,01
<i>Gordura(%)</i>	13,48±1,12
<i>Proteínas(%)</i>	3,51±0,12
<i>carboidratos (%)</i>	6,69±0,27
<i>Valor energético(kcal)</i>	163,37±10,65

Fonte: adaptado de Rodrigues (2012).

Para a obtenção das pastas de azeitona, os processos de homogeneização e pasteurização são etapas essenciais para garantir produtos de qualidade. É neste seguimento que o ultrassom aparece como uma técnica viável para garantir a eficácia destes processos.

Com o aumento da população o processamento de alimentos foi inevitável para garantir um maior tempo de prateleira. É neste ponto que o ultrassom aparece com uma técnica interessante, visto que reduz o tempo de processamento, economiza energia e melhora a qualidade dos produtos alimentares (CHEMAT;KAHAN;Zill-E-HUMA, 2011).

4. 2 – Aspetos microbiológicos da pasta de azeitona

A pasta de azeitona é basicamente constituída por azeitonas de mesa trituradas, logo os microrganismos esperados serão aqueles que aparecem com frequência nas azeitonas de mesa.

A microbiota das azeitonas de mesa pode variar com o processo fermentativo e a cultivar. Os microrganismos nas azeitonas de mesa vão variando ao longo do processo fermentativo, ou seja, a carga e o tipo de microrganismos podem não ser os mesmos no início do processo de

fermentação da azeitona de mesa, comparados quando o processo fermentativo é dado como acabado (adaptado de HEPERKAN, 2013). Alguns dos microrganismos que podem ser encontrados em azeitonas de mesa embaladas incluem membros de *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, bactérias lácticas, leveduras e bolores (HEPERKAN, 2013; RANDAZZO et. al, 2012).

As Leveduras, tais como a *Candida boidinii*, *Debaryomyces hansenii*, *Pichia anomala*, podem desempenhar um papel duplo nos alimentos. Elas estão presente em todo o processo de fermentação e produzem compostos que geram importantes atributos organoléticos, determinando a qualidade e o sabor do produto final. No entanto, leveduras podem igualmente ser microrganismos de deterioração em fermentação de azeitona, armazenamento e embalagem causando recipientes inchados, salmouras nubladas e sabores/odores desagradáveis (ARROYO-LOPEZ et al., 2008).

A fermentação nas azeitonas de mesa, pelo método sevilhano, ocorre em 3 fases distintas. Na primeira fase os grupos microbianos que dominam o processo fermentativo são as bactérias gram-negativas (principalmente as bactérias da família *Enterobacteriaceae*). A segunda fase é caracterizada por um progressivo crescimento de bactérias lácticas, leveduras e uma diminuição gradual das bactérias gram-negativas (HURTADO et al., 2012). Por fim na terceira fase, é observado um crescimento abundante de lactobacilos, principalmente de espécies de *Lactobacillus plantarum*, tornando-se estes microrganismos dominantes na microbiota das azeitonas fermentadas (PANAGOU; KATSABOXAKIS, 2006).

Em processos de fermentação em massa a duração das primeiras e segundas fases devem ser reduzidas ao mínimo, favorecendo o domínio rápido das bactérias lácticas sobre os microrganismos (FERNÁNDEZ;DÍEZ;ADAMS, 1997) de modo a garantir a qualidade microbiológica do produto final. Contudo quando este processo não decorre segundo esta cronologia existe a possibilidade do crescimento de microrganismos que possam afetar consideravelmente a qualidade das azeitonas de mesa (adaptado de MEDINA et al., 2009).

Em estudos realizados para avaliar a capacidade de resistência *E. coli* O157:H7, ao processo fermentativo das azeitonas de mesa verde, comprovaram

que apesar de existir a diminuição gradual do microrganismo ao longo do processo de cura, principalmente devido a presença de ácido láctico e acético, é impossível afirmar que haja uma eliminação total da *E. coli* O157:H7 no fim do processo fermentativo (SPYROPOULOU et al., 2001). Logo torna-se essencial que exista uma maior preocupação na investigação da sobrevivência de *E. coli* sob as condições de fermentação tradicional.

Para além de existir esta problemática com a *E. coli*, existem também outros estudos que comprovam a possibilidade de existência de *Salmonella enteritidis* e *Listeria monocytogenes*, em azeitonas de mesa verdes embaladas. Apesar do seu crescimento ser inibido pela microbiota natural e os ácidos produzidos durante a fermentação é possível verificar a presença destes microrganismos até 31 dias, após o produto estar embalado (ANTHOULA et al., 2013).

Uma das tecnologias que pode ser utilizada de modo a garantir resultados concretos e confiáveis na pesquisa dos microrganismos que podem estar presentes em azeitonas preparadas pelo estilo sevilhano é a microbiologia preditiva. Através de estudos utilizando esta técnica, já foi possível, por exemplo, prever a presença de leveduras e bactérias lácticas em azeitonas de mesa verdes fermentadas (ARROYO-LÓPEZ et al., 2010). Utilizando esta tecnologia poderá ser mais fácil detetar problemas a nível microbiológico antes sequer de começar a produção, podendo-se assim escolher a melhor combinação de culturas *starters* para combater estes microrganismos indesejáveis, rentabilizando a produção e aumentando a segurança do produto final.

4.3 – Ultrassom e aplicações em tecnologia de alimentos

O ultrassom tem uma aplicação variada na tecnologia de alimentos, desde a avaliação da composição química de alimentos, descontaminação de matrizes alimentares (MAJID;NAYIK;NANDA, 2015), na extração de compostos

fenólicos (PINGRET et al, 2012), na emulsificação e pasteurização de alimentos (MASON;PANIWNYK;LORIMER, 1996), entre outras aplicações.

O ultrassom é uma técnica que utiliza ondas sonoras que provocam vibrações mecânicas que se propagam através de sólidos, líquidos ou gases com uma frequência incapaz de ser detetada pelo ouvido humano (CHAUDHARI, 2015).

A aplicação do ultrassom baseia-se em 3 métodos distintos (CHEMAT;KAHAN;ZILL-E-HUMA, 2011):

- Aplicação direta no produto;
- Acoplamento com outros dispositivos;
- Submersão em banho ultrassónico.

O principal método associado ao ultrassom é o poder de cavitação. Este processo de cavitação pode ser descrito como a formação de bolhas pela oscilação das ondas sonoras (LEONG;ASHOKKUMAR;KENTISH, 2011) e encontra-se esquematizado na Figura 6.

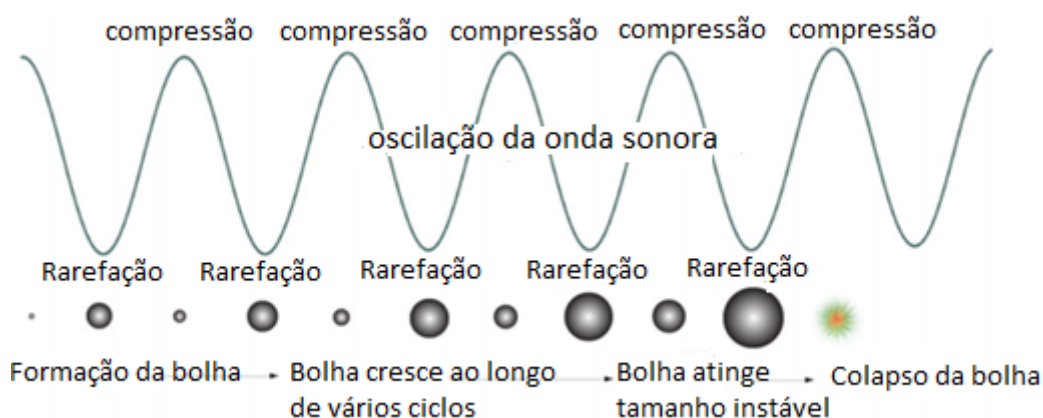


Figura 6- Formação de bolhas, crescimento de bolhas e colapso subsequente ao longo de vários ciclos acústicos. Fonte: Leong;Ashokkumar;Kentish (2011).

O benefício de cavitação acústica deve-se principalmente à sua capacidade para concentrar energia em pequenos volumes. Isto resulta em temperaturas de milhares de graus Kelvin, pressões de GPa, acelerações locais

12 vezes maior do que a gravidade, ondas de choque e emissão de fotões (LOUISNARD;GONZÁLEZ-GARCIA, 2011).

Apesar deste fenómeno de cavitação ser a base da descontaminação microbiana, da facilidade de extração e emulsificação, há estudos que demonstram que este fenómeno pode alterar as características funcionais, nutricionais, estruturais e levar a formação de aromas indesejados e sabores metálicos (PINGRET et al., 2012).

Na Figura 7 é esquematizado as aplicações do ultrassom e os possíveis efeitos negativos da cavitação na qualidade final dos produtos.

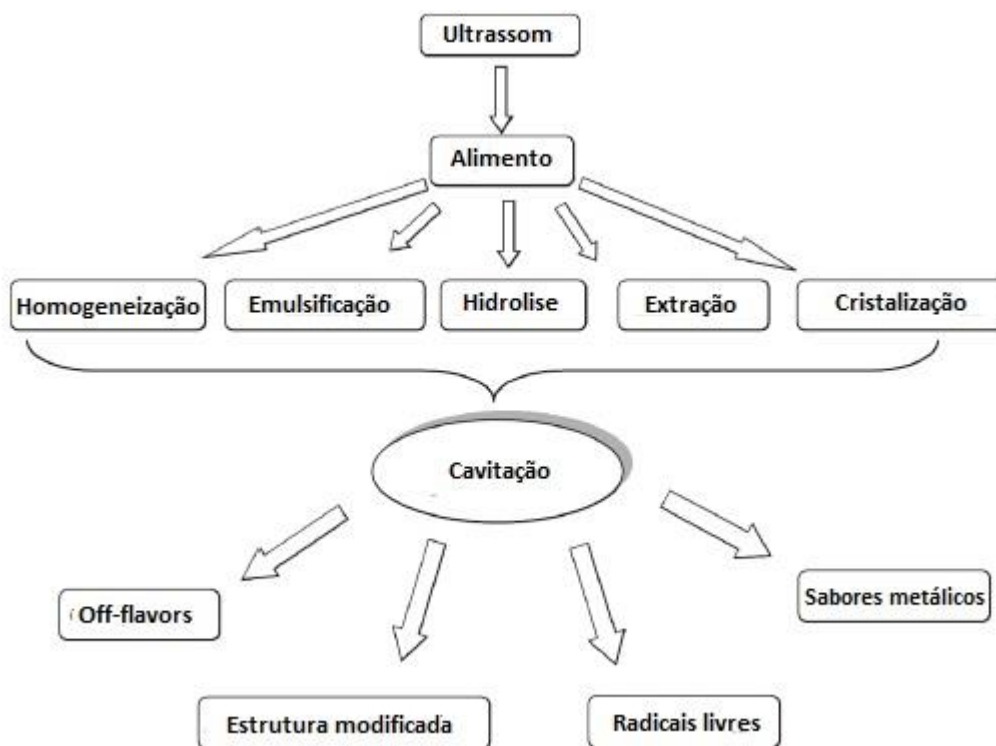


Figura 7- Efeitos do fenómeno de cavitação. Fonte: Pingret et al. (2012).

Em relação à emulsificação, vários estudos comprovam que o ultrassom é uma tecnologia mais barata e que consegue emulsões mais estáveis do que os métodos convencionais (MASON;PANIWNYK;LORIMER, 1996).

Estudos com azeite, aplicando ultrassom como método de emulsificação permitiram comprovar a formação de gotas de óleo na zona dos sub-micron que

são claramente mais estáveis devido a situarem-se numa gama mais estreita da emulsão. Contudo verificou-se que a viscosidade do azeite foi afetada pelo tratamento ultrassónico, diminuindo. (KALTSA et al., 2012).

A pasteurização e esterilização térmica são as técnicas convencionais mais utilizadas para inativar microrganismos e enzimas nos produtos alimentares. Infelizmente, as intensidades de tratamento, o tempo e temperatura do processo são também proporcionais à quantidade de perda de nutrientes, de desenvolvimento indesejável de sabores e deterioração das propriedades funcionais dos alimentos (CHEMAT;KAHAN;ZILL-E-HUMA, 2011).

O ultrassom fornece uma metodologia que permite evitar os principais problemas dos métodos convencionais pelo efeito da cavitação (CHEMAT; KHAN;ZILL-E-HUMA, 2011). Este fenómeno é observável na Figura 8.

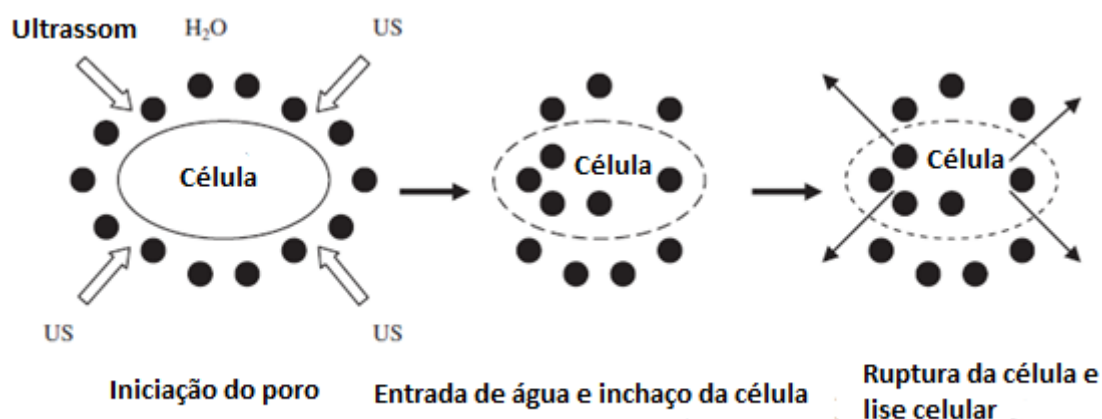


Figura 8- Efeito do ultrassom nas membranas celulares dos microrganismos. Fonte: Chemat;Kahan;Zill-e-Huma (2011).

O mecanismo de inativação microbiana acontece pela destruição das membranas celulares, o aquecimento localizado e produção de radicais livres pelo efeito de cavitação que levam à destruição dos microrganismos. Investigações sobre ultrassom também demonstraram a eficácia da inativação de enzimas tais como pectinametilsterase, polifenoloxidasas e peroxidases responsáveis pela deterioração de frutas e sumos (DONNELL et al, 2010). Em complementaridade, outros estudos demonstraram a eficiência do ultrassom em

combinação com altas temperaturas na eliminação de bactérias resistentes (HERCEG et al, 2013).

4.4 - Fluídos, tensões e efeitos da viscosidade

Os materiais existentes na natureza podem, sob o ponto de vista de agregação, ser agrupados em diferentes classes, sendo que o agrupamento mais simples é o que forma duas classes: fluidos e sólidos. Um fluido é toda a substância incapaz de suportar, sem se deformar continuamente, efeitos de tensões de cisalhamento, por menores que sejam. Por outro lado, um sólido elástico, quando submetido a tensões de cisalhamento, pode ou não sofrer deformações (SCHIOZER, 1996).

A viscosidade pode ser descrita como a resistência interna do fluido ao movimento ou a fluidez (ÇENGEL; CIMBALA, 2007).

A taxa de deformação (β) numa distância infinitesimal sob a influência da tensão de cisalhamento τ é dada pela equação 4.4.1:

$$\frac{d\beta}{dt} = \frac{du}{dy} \quad (4.4.1)$$

Sendo assim a taxa de deformação de um elemento do fluido é equivalente ao gradiente de velocidade $\frac{du}{dy}$. Além disso verifica-se experimentalmente que para a maioria dos fluídos a taxa de deformação é diretamente proporcional à tensão de cisalhamento. Os fluidos que correspondem a esta característica são designados de newtonianos (ÇENGEL; CIMBALA, 2007).

Em escoamentos unidimensionais de fluídos newtonianos a tensão de cisalhamento é expressa pela relação linear da equação 4.4.2 (ÇENGEL; CIMBALA, 2007):

$$\tau = \mu \frac{du}{dy} \quad (4.4.2)$$

Por oposição os fluidos cuja tensão de cisalhamento não é diretamente proporcional à taxa de deformação são ditos não-newtonianos. Estes fluidos são geralmente classificados tendo em conta o comportamento dependente ou independente do tempo (FOX;MCDONALD, 2001). Na Figura 9 é observável exemplos de fluídos não-newtonianos cujo comportamento é independente do tempo.

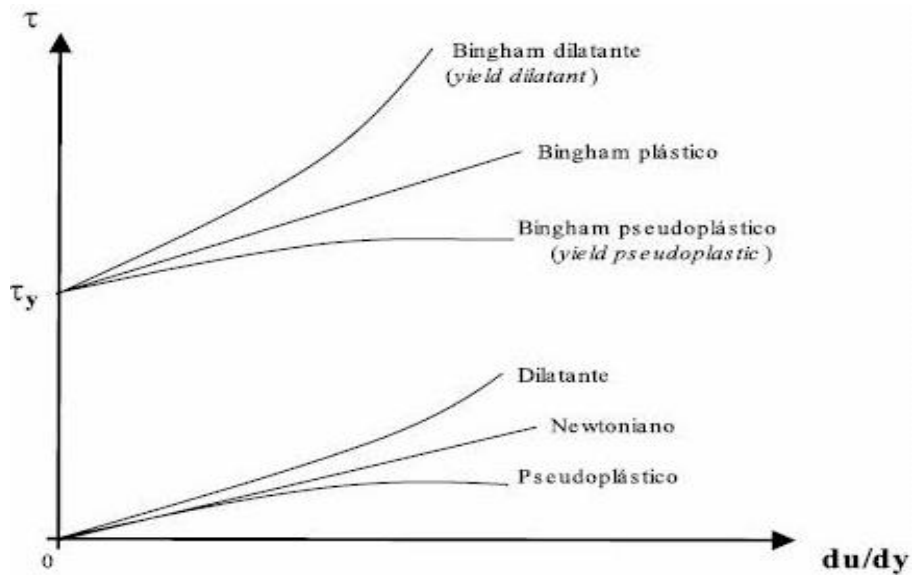


Figura 9- Tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação para o escoamento unidimensional de diversos fluidos não-newtonianos fonte: (adaptado de Schiozer, 1996).

Segundo Fox e Mcdonald (2001), para este tipo de fluidos a taxa de cisalhamento pode ser calculada pela seguinte expressão que relaciona a tensão de cisalhamento com a lei de Newton para a viscosidade pela equação 4.4.3.

$$\tau = \eta \frac{du}{dy} \quad (4.4.3)$$

A viscosidade aparente pode ser calculada pela equação 4.4.4, onde η é o índice de comportamento do escoamento e κ o índice de consistência.

$$\eta = k \frac{du^{n-1}}{dy} \quad (4.4.4)$$

Quando a viscosidade aparente diminui com a taxa de deformação os fluidos são designados por pseudoplásticos; contudo na situação oposta os fluidos são designados por dilatantes (FOX;MCDONALD, 2001).

Contudo existem também fluidos não-newtonianos dependentes do tempo. Fluidos tixotrópicos mostram um decréscimo da viscosidade aparente com o tempo em função da taxa de cisalhamento tangencial constante. Quando se verifica o oposto estamos na presença de fluidos reopéticos (BARNES;HUTTON; WALTERS,1989).

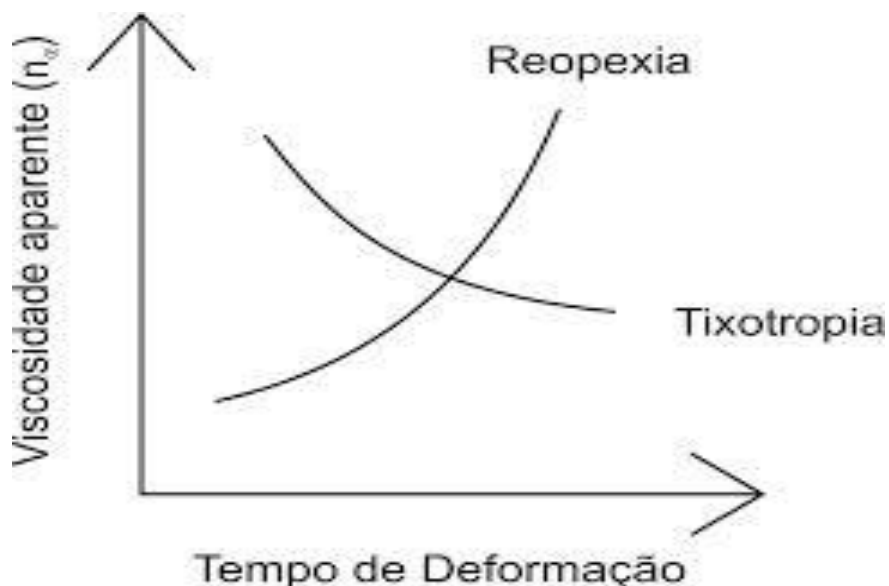


Figura 10- Viscosidade aparente em função do tempo de deformação para o escoamento unidimensional de diversos fluidos não-newtonianos. Fonte: (adaptado de Fox e Mcdonald 2001).

4.5 – Reologia dos alimentos

A viscosidade é um parâmetro importante nos alimentos, principalmente naqueles em que a qualidade do produto está relacionada com a consistência do mesmo. O ultrassom é uma tecnologia que utiliza ondas acústicas, logo será

importante debater sobre o efeito das mesmas nas propriedades reológicas dos alimentos.

As ondas acústicas em geral são perturbações de tensão mecânica que podem se propagar em qualquer meio, sólido, líquido ou gasoso. Os parâmetros acústicos podem ser relacionados com algumas propriedades físicas do meio, tais como densidade, elasticidade e viscosidade. De todas as propriedades físicas dos materiais a viscosidade é a que requer maior consideração, visto que oferece resistência a taxa de cisalhamento, dificultando o tratamento dos fluidos, além disso é um parâmetro de qualidade nas indústrias química, petroquímica e alimentar. Daí ser absolutamente crucial o seu estudo (GUZMÁN, 2010).

Estudos sobre o efeito do ultrassom na viscosidade de sumos de fruta demonstraram que a temperatura e a amplitude utilizada durante o tratamento influenciam efetivamente a viscosidade. Ou seja, quanto maior a temperatura e a amplitude mais fluida será a matriz alimentar (SIMUNEK et al, 2013).

4.6 Análise da textura

A textura é uma característica intrínseca dos alimentos, que atua de forma considerável sobre a escolha e aceitabilidade dos produtos por parte dos consumidores (WINOPAL;DROBNY;SCHNEIDER-HÄDER, 2015).

Os atributos de textura são também utilizados ao longo da cadeia alimentar para monitorar e controlar a qualidade, que vão desde a decisão sobre a prontidão para colher os alimentos e no impacto sobre a vida de prateleira do produto (CHEN;OPARA, 2013).

Apesar de a textura ser uma característica regulamentada, denota-se que esta regulamentação não é compreendida na totalidade. Devido à exigência dos mercados e da procura constante pelos consumidores de produtos considerados saudáveis, a indústria tem aplicado formulações que causam uma alteração clara nas características da textura quer a nível da sensação produzida na boca, quer em termos reológicos, o que acaba por coincidir em produtos que não correspondem à finalidade pré-estabelecida (STOKES;BOEHM;BAIER, 2013).

A textura é uma subárea da "reologia", que lida com o comportamento e deformação de sólidos e fluidos sob a influência de forças mecânicas (WINOPAL;DROBNY;SCHNEIDER-HÄDER, 2015). De acordo com a Organização Internacional para a Padronização, textura é assim definida como a totalidade dos atributos reológicos e estruturais (geométricos e relacionados com a superfície do alimento) que podem ser medidos por processos mecânicos, tácteis, visuais e auditivos (ISO 11036:1994).

Sendo que a textura se apresenta como um parâmetro essencial na área da indústria alimentar, torna-se importante definir métodos capazes de mensurar este atributo.

Os métodos instrumentais aparecem atualmente como os mais utilizados para medir a textura, isto porque podem complementar ou substituir totalmente a análise sensorial por painéis treinados. Estes métodos são cada vez mais utilizados principalmente por serem mais rápidos e representarem um substancial decréscimo sobre os custos deste tipo de análise. Quando as amostras são preparadas nas devidas condições, é possível obter-se correlações extremamente próximas aquelas obtidas por painéis treinados (adaptado de WINOPAL;DROBNY;SCHNEIDER-HÄDER, 2015).

O teste de duas "mordidas" tornou-se conhecido como a análise do perfil de textura (TPA), sendo um dos métodos mais utilizados atualmente para medir as propriedades da textura (ROSENTHAL, 2010).

Esta técnica pode ser definida como a análise das propriedades físicas dos produtos alimentares, geralmente por compressão. Alguns dos parâmetros de qualidade avaliados por este tipo de análise são a: coesividade, dureza, elasticidade e adesividade e viscosidade (BROOKFIELD, 2009).

Neste último caso a viscosidade é uma propriedade extremamente importante isto porque é capaz de descrever o comportamento dos fluidos alimentares, por exemplo, se dois fluidos são pressionados um contra o outro, desenvolve-se um obstáculo (dureza), que é designado de resistência ao fluxo. Se a resistência do fluxo é baixa, o alimento é fino, se a resistência do fluxo aumenta, a viscosidade dos alimentos aumenta proporcionalmente (BROOKFIELD, 2009; WINOPAL;DROBNY;SCHNEIDER-HÄDER, 2015; RAHMAN;AL-FARSI, 2005; STOKES;BOEHM;BAIER, 2013).

Segue assim na tabela 3, a descrição de algumas das propriedades da textura que são obtidas neste tipo de análise (TPA).

Tabela 3- Definição física das propriedades da textura.

<i>Propriedades da textura</i>	Definição física	Referências
<i>Coesividade</i>	É a medida do grau de dificuldade em quebrar a estrutura interna do alimento.	LAU;TANG;PAULSON, 2000 RAHMAN;AL-FARSI, 2005 SZCZESNIAK, 2001
<i>Dureza</i>	Está relacionada com a resistência da estrutura do alimento sob compressão.	LAU;TANG;PAULSON, 2000 NISHINAKI et al., 2013 RAHMAN;AL-FARSI, 2005
<i>Elasticidade</i>	Ritmo ao qual um material deformado retoma à sua condição não deformada após a força de deformação ser removida.	SZCZESNIAK, 2001 RAHMAN;AL-FARSI, 2005 ROSENTHAL, 2010
<i>Adesividade</i>	É a energia necessária para contrária a força de atrito entre o alimento e a superfície em contato com o mesmo.	NISHINAKI et al., 2013 STOKES;BOEHM;BAIER, 2013 CHEN;OPARA, 2013

Na análise instrumental da textura, a substância de ensaio tem de ser comprimida pelo menos 2 vezes e a quantificação mecânica dos parâmetros é feita pela leitura das curvas de deformação (fig. 11).

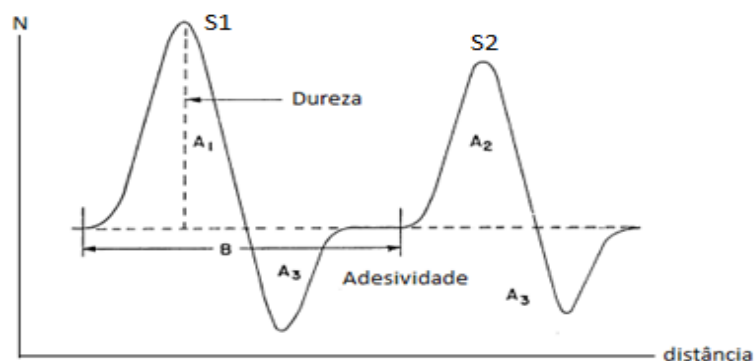


Figura 11- Curva geralmente obtida em uma análise do perfil de textura. Fonte: Szczesniak, 2011.

Através da curva obtida na análise de perfil de textura (fig. 11), é possível quantificar diretamente ou matematicamente as propriedades da textura (tabela 4).

Tabela 4- propriedades texturais obtidas na curva de TPA.

Propriedades texturais	Definição matemática
Coesividade	$\text{Coesividade} = \frac{A_1}{A_2}$
Dureza	É o pico de força obtido no primeiro ciclo de compressão.
Elasticidade	$\text{Elasticidade} = \frac{\text{distância (S2-S1)}}{\text{peso original da amostra}} \times 100$
Adesividade	É o pico de força obtido no segundo ciclo de compressão.

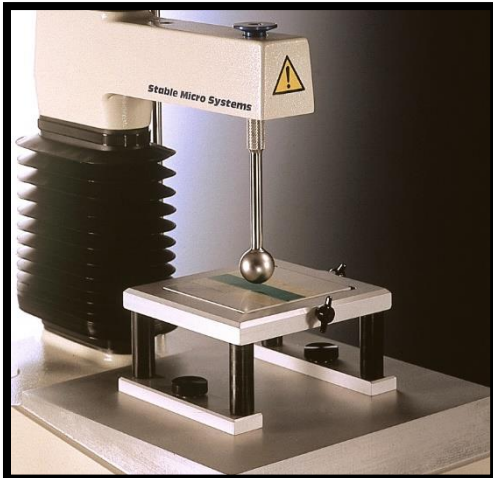
Fonte: Adaptado de LAU;TANG;PAULSON, 2000.

As análises instrumentais da textura, em particular, a análise do perfil de textura, tem sido utilizadas globalmente para mensurar de forma rápida as propriedades da textura (STOKES;BOEHM;BAIER, 2013). Este tipo de análises são extremamente úteis no controle de qualidade e o desenvolvimento de produtos com características reológicas adequadas (RAHMAN;AL-FARSI, 2005).

4.7 Análise estatística

A análise estatística é cada vez mais uma ferramenta imprescindível na interpretação e análises em sistemas que requeiram medição. Muitos problemas são complicados e contêm muitas variáveis de interesse, visto que a experimentação é geralmente cara o delineamento experimental estatístico e, em particulares, o delineamento fatorial pode minimizar custos e maximizar a eficácia (BOX;WOODALL, 2012).

O planejamento fatorial é capaz de estudar os efeitos de um fator em dois ou mais níveis. Este tipo de planejamento geralmente inclui várias combinações de diferentes fatores, o que lhe permite descrever as interações entre os mesmos (WANG;WAN, 2009), ou seja em um planejamento fatorial são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação na resposta ou respostas (TEÓFILO;FERREIRA, 2006), tornando-se assim o melhor método para avaliar situações em que diferentes fatores são essenciais para a obtenção de produtos que correspondam aos padrões de qualidade.



Capítulo 5

Material e métodos

5.1 Preparação da pasta de azeitona recorrendo-se a tratamento térmico

Para a preparação das pastas de azeitonas onde se utilizou tratamento térmico seguiu-se o procedimento recomendado por Rodrigues (2012). Inicialmente lavou-se as azeitonas, que posteriormente foram descaroçadas e trituradas até consistência homogênea. Em seguida, a polpa de azeitona foi introduzida em frascos de vidro. A pasta foi pesada (88g), misturada com azeite e sumo de limão, na proporção de 88g de pasta, 9g de azeite, 3g de sumo de limão e adicionada uma especiaria (0,2g). A especiaria utilizada foram os orégãos, isto porque no trabalho realizado por Rodrigues (2012) foi a que apresentou maior aceitabilidade pelo consumidor. Finalizada a adição da especiaria a pasta foi homogeneizada e pasteurizada. O procedimento experimental pode ser observado na Figura 12.

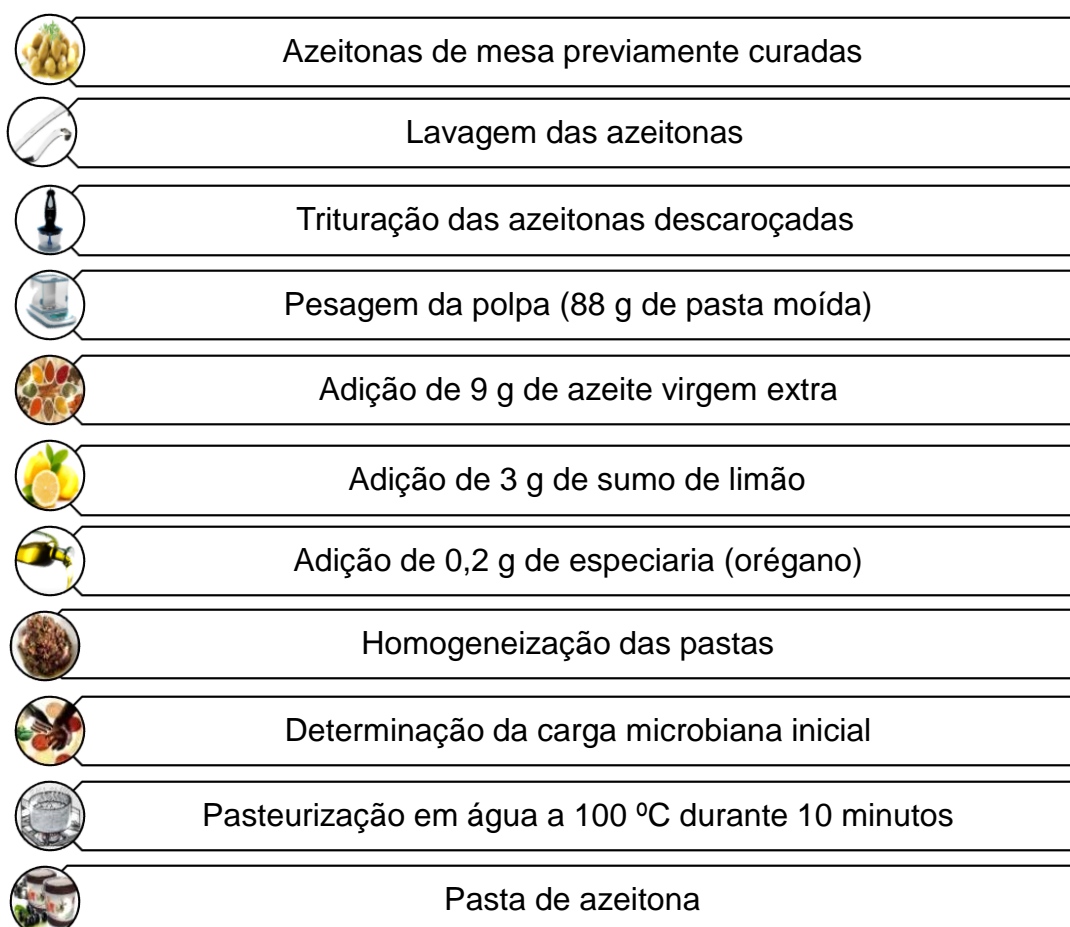


Figura 12- Diagrama do procedimento adotado na formulação das pastas de azeitonas. Fonte: Adaptado de Rodrigues, (2012).

5.2 Preparação das pastas de azeitonas com auxílio do ultrassom.

Na figura 13 está apresentado o método utilizado na formulação de pasta de azeitonas com auxílio do ultrassom. Este tipo de preparação segue o método descrito no item 5.1, diferindo apenas no processo de pasteurização e homogeneização que aconteceu em simultâneo em banho ultrassônico (Elmasonic P, Elma – Alemanha), a 25 °C, na frequência de 33 Kilo-Hertz, visto que esta frequência é a mais utilizada a nível industrial.



Figura 13- Diagrama do procedimento adotado na formulação das pastas de azeitona com auxílio do ultrassom. Fonte: Adaptado de Rodrigues, 2012.

5.3 Planeamento fatorial completo

No presente trabalho, será investigado a influência do tempo de ultrassom (minutos) e da faixa de potência (%) utilizando-se um planeamento fatorial completo com três repetições no ponto central (ensaios 5,6 e 7) totalizando 7 ensaios, descrito na tabela 5. Os ensaios foram efetuados na frequência de 33 Kiloherz (mais próxima dos equipamentos disponíveis em escala industrial).

Tabela 5– Planeamento efetuado na sonificação das amostras.

Sonificação		
<i>Ensaio</i>	Tempo em minutos	Potência (%)
1	10	40
2	40	40
3	10	100
4	40	100
5	25	70
6	25	70
7	25	70

5.4 Composição química

Em relação à composição química, foram quantificados os teores de humidade, cinzas, proteínas e gordura total, seguindo as recomendações propostas pela AOAC e pela Organização Internacional de Normalização.

Foram analisadas as pastas de azeitona antes de qualquer tratamento de modo a servirem como referência, após o tratamento térmico, como comparação entre os métodos e a amostra 4 (sonificada) do planeamento fatorial expresso na tabela 5. Foi selecionada a amostra 4 por representar o tratamento ultrassónico mais agressivo. Ao não se verificar alterações nesta amostra

assegura-se que as restantes amostras sonificadas sujeitas a tratamentos menos agressivos apresentam os mesmos resultados.

5.4.1 Humidade

A humidade foi determinada por gravimetria, para tal utilizou-se 5 g de amostra. Este método baseia-se na quantificação do peso, devido à perda de água por evaporação, que é determinado por secagem direta em estufa a $105^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$. A análise foi dada como completa após se obter peso constante, seguindo as recomendações da AOAC 968.30 (1968), referentes a determinação da humidade para frutos processados (inclusive azeitonas de mesa) e vegetais.

5.4.2 Proteína

A determinação da proteína foi realizada em triplicado por método indireto de Kjeldahl, seguindo as recomendações propostas pelo método AOAC 920.152 (2005) para quantificação de proteína bruta em produtos derivados de frutos.

Foram pesadas aproximadamente 2,5 g de pastas de azeitona antes de qualquer tratamento (amostra padrão ou de referência), após o tratamento térmico e a amostra 4 (sonificada) do planeamento fatorial expresso na tabela 5, adicionando-se juntamente 2g de catalisador K_2SO_4 num tubo de digestão de Kjeldahl. Após a digestão da amostra que ocorreu a $400\pm 50^{\circ}\text{C}$, dissolução da amônia por adição de NaOH e a titulação da amônia com HCl, foi expressa a percentagem de proteína pela multiplicação da quantidade de nitrogénio pelo fator de conversão de 6,25.

5.4.3 Lípidos totais

A determinação dos lípidos totais foi realizado em triplicado, seguindo as recomendações do método AOAC 948.22 (2000) para nozes e frutos derivados de nozes, visto que se apresenta como o método mais próximo e apropriado para a extração de lípidos totais por Soxhlet em frutos e derivados de frutos.

Para a extração dos lípidos totais em Soxhlet utilizaram-se aproximadamente 5 g de pastas de azeitona antes de qualquer tratamento (amostra padrão ou de referência), após o tratamento térmico e a amostra 4 (sonificada) do planeamento fatorial expresso na tabela 5, recorrendo-se ao hexano como solvente do processo. Após o processo terminado, o hexano remanescente da amostra foi evaporado em estufa com temperatura controlada ($105^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). A quantidade de gordura total foi obtida por diferença de pesos e expressa em percentagem.

5.4.4 Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada em triplicado por método gravimétrico, seguindo as recomendações propostas pelo método AOAC 940.26 (2000) para quantificação de cinzas em frutos e produtos derivados de frutos.

As cinzas de um alimento são os resíduos inorgânicos que permanecem após a queima da matéria orgânica. Para o cálculo do teor em cinzas utilizaram-se aproximadamente 5 g de pastas de azeitona antes de qualquer tratamento (amostra padrão ou de referência), após o tratamento térmico e a amostra 4 (sonificada) do planeamento fatorial expresso na tabela 5. A incineração da amostra foi feita em bico de busen, sendo que após este procedimento as amostras foram colocadas em mufla com temperatura de $550\pm 20^{\circ}\text{C}$. A análise foi dada como terminada após se verificar o peso constante das amostras. Os resultados foram expressos em percentagem de teor em cinzas.

5.4.5 Hidratos de Carbono

Após a determinação do teor em humidade, cinzas, proteína e gordura o cálculo do teor de hidratos de carbono foi feito pela seguinte expressão matemática:

$$\% \text{Hidratos de carbono} = 100 - \% \text{Lípidos} - \% \text{Proteína} - \% \text{Humidade} - \% \text{Cinzas}$$

5.5 pH

A determinação do pH foi efetuado em triplicado, para as amostras de pastas de azeitona antes de qualquer tratamento (amostra padrão ou de referência), após o tratamento térmico e a amostra 4 (sonificada) do planeamento fatorial expresso na tabela 5, por potenciometria a 20 ± 2 °C, seguindo as recomendações da ISO 1842 (1991) referente à leitura de pH em frutos e vegetais. O eletrodo do pHmetro da marca comercial HANNA (BRASIL), modelo pH 21 pH/mV meter, foi calibrado com soluções tampão comerciais de pH=7,01 e pH=4,01.

Devido à pasta de azeitona ser um produto que compreende fases líquidas e sólidas, misturou-se cerca de 2g de amostra em proporção igual de água destilada medindo-se o pH diretamente desta solução. Quando se obteve um valor constante na escala do pHmetro a medição foi dada como concluída.

5.6 Determinação da atividade de água

A atividade de água das pastas de azeitona sem qualquer tratamento, com tratamento térmico e tratamento ultrassónico foi realizado em triplicado a 25 °C no equipamento Decagon Devices (EUA), modelo Aqualab 4TE seguindo as

recomendações da norma AOAC 978.18 (1978) referente à determinação da atividade de água em vegetais pelo ponto de orvalho.

5.7 Contagem total de aeróbios mesófilos em placa

Utilizou-se o método horizontal para a enumeração de microrganismos - contagem de colónias a 30°C (ISO 4833:2003). O procedimento foi realizado para ambos os métodos utilizados na formulação da pasta de azeitona, em triplicado.

Tendo por base a ISO 6887-1 (1999), Silva et al. (2010), recomenda que a primeira diluição (solução-mãe ou inicial) seja de 1:10 (10^{-1}), Adicionando-se m gramas da amostra para $9 \times m$ mililitros do diluente. Aplicou-se assim 25g de pasta de azeitona em 225 mililitros de água salina peptonada (H_2O_{SP}), diluentes recomendados, juntamente com 10% de polisorbato 80, recomendado para homogeneizar soluções gordurosas.

Em relação a temperatura de incubação a mesma autora recomenda com base nas normas internacionais, a utilização de meio de cultura PCA, com incubação a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ durante $48 \pm 2\text{h}$.

Segue assim abaixo o procedimento esquematizado que foi utilizado.

- a) Preparação da solução mãe;
- b) A partir da solução-mãe realizaram-se 2 diluições decimais sucessivas em 9 mL da mesma solução;
- c) Inoculação de 0,1mL de cada diluição em placas de Petri com meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA), segundo o método de contagem de placas.
- d) Incubação a 30°C durante 48h.

- e) Contagem das colónias presentes em cada placa e expressão dos resultados.

5.8 Contagem total de bolores e leveduras em placas.

A contagem de bolores e leveduras em placas seguiu o procedimento descrito por Silva et al. (2010). Este método segue as recomendações do American Public Health Association (APHA). Aplicou-se assim 25g de pasta de azeitona a 225 mililitros de água salina peptonada (H_2O_{SP}), diluentes recomendados para a preparação da solução-mãe e diluições. Neste caso foi ainda adicionado à proporção de 10% de Polisorbato 80, utilizado para homogeneizar soluções gordurosas.

- a) Preparação da solução mãe;
- b) A partir da solução-mãe realizaram-se 2 diluições decimais sucessivas em 9 mL da mesma solução;
- c) Inoculação de 0,1mL de cada diluição em placas de Petri com meio de cultura *Agar dicloran rosa de bengala cloranfenicol (DRBC)*
- d) Incubação a 25°C durante 5 dias.
- e) Contagem das colónias presentes em cada placa e expressão dos resultados.

5.9 Análise do perfil de textura

O perfil de textura foi analisado utilizando o texturômetro (figura 14) *Stable Micro System*, TA.HD.Plus, Godalming, UK) com uma célula de carga de 5 kg. Utilizaram-se parâmetros e *probe* que correspondessem o mais aproximado as características da pasta de azeitona.



Figura 14- Texturômetro *Stable Micro Systems*, TA.HD.Plus, Godalming, UK, utilizado na análise do perfil de textura.

A análise instrumental da textura foi realizada à temperatura de 15 °C para as pastas de azeitona antes de qualquer tratamento, após o tratamento térmico e das sete amostras do planejamento fatorial em triplicata, utilizando exatamente 10g de amostra em um copo com as seguintes medidas (8x5x3,5 cm), visível na figura 15, uniformizando-se a superfície de cada amostra.



Figura 15- Copo utilizado na avaliação das propriedades da textura das pastas de azeitonas.

Após testes preliminares, utilizou-se o *probe* Cylinder Derlin Radiused (figura 16) para a avaliação das propriedades da textura (dureza, adesividade, coesividade e elasticidade), movendo-se o *probe* a uma velocidade de pré-teste de 5,00 mm/seg; velocidade de teste de 5,00 mm/seg; velocidade de pós-teste de 10,0 mm/seg; distância da amostra de 15,00 mm; distância de penetração na amostra de 40 mm com uma força aplicada de 5 g. Para cada amostra foram realizadas três medições (triplicata) perfazendo um total de 39 medições, compreendendo a amostra padrão (pasta de azeitonas sem qualquer tipo de tratamento), bem como as amostras pasteurizadas e sonificadas. Os resultados foram expressos em gramas para a força máxima necessária para a incisão das amostras.



Figura 16- Probe Cylinder Derlin Radiused, utilizado durante a medição da textura.

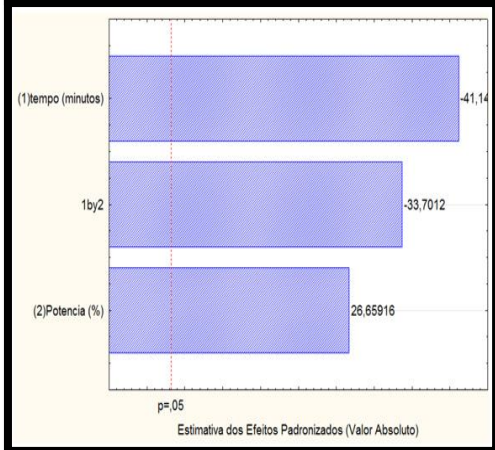
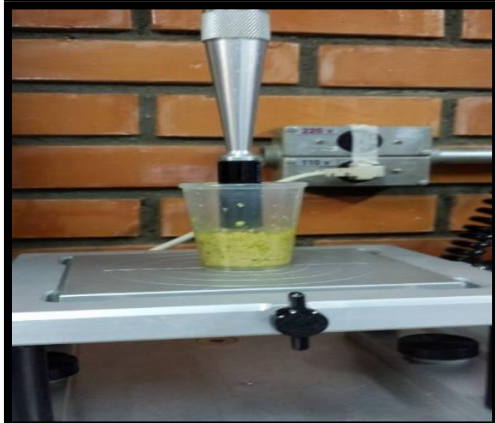
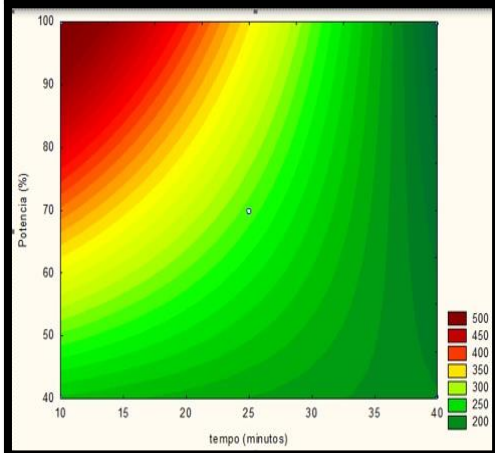
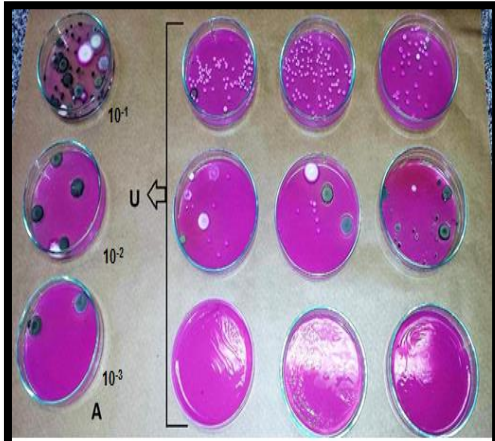
5.10 Determinação das características cromáticas de acordo com o modelo CIElab.

A cor é uma das características mais importantes levada em consideração pelo consumidor no ato da compra.

As cores das amostras de pasta de azeitona foram avaliadas através do sistema de leitura de três parâmetros, o CIElab, proposto pela Comissão Internationale de l'Eclairage (CIE) em 1971, utilizando-se um colorímetro Minolta CR400 (Minolta Corporation, Ramsay, NJ, USA). Os parâmetros estudados por este método são o L^* , a^* e b^* , em que L^* define a luminosidade ($L^* = 0$ preto e $L^* = 100$ branco) e a^* e b^* são responsáveis pela cromaticidade ($+a^*$ vermelho e $-a^*$ verde, $+b^*$ amarelo e $-b^*$ azul) (adaptado de OSAWA et al., 2008).

5.11 – Tratamento estatístico dos dados

As análises estatísticas, tanto no planejamento fatorial completo, como a comparação das diferentes amostras pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) foram executadas utilizando o software Statistica 7.1 (Statsoft inc.).



Capítulo 6

Resultado e discussões

6.1 Composição química

As composições químicas das pastas de azeitona antes dos tratamentos, após tratamento e após sonificação encontram-se na tabela 6.

Tabela 6– Composição química das pastas de azeitona antes dos tratamentos, após tratamento térmico e após sonificação

	Antes	Após tratamento térmico	Após sonificação *
Humidade (%)	75,42 ± 0,89 ^a	75,76 ± 0,20 ^a	74,69 ± 0,81 ^a
Proteínas (%)	1,08 ± 0,05 ^a	0,93 ± 0,09 ^a	1,14 ± 0,05 ^a
Lípidos (%)	14,40 ± 0,50 ^a	14,75 ± 0,08 ^a	15,21 ± 0,21 ^a
Cinzas (%)	1,21 ± 0,03 ^b	1,31 ± 0,01 ^a	1,27 ± 0,02 ^{a,b}
Hidratos de carbono (%)	7,89 ± 1,27 ^a	7,25 ± 0,25 ^a	7,70 ± 0,73 ^a

• **Experimento 4 (Tabela 5), M±DP, n=3, teste de Tukey nas linhas com p<0,05.**

Observa-se que as composições químicas das pastas de azeitona se mantiveram estatisticamente iguais ($p>0,05$) para as três situações, exceto para as cinzas que apresentou resultado ligeiramente superior às amostras antes da pasteurização ($p<0,05$).

A água é o componente maioritário das pastas de azeitonas, com valores de humidade em torno de 75%. Estes elevados valores de humidade estão principalmente relacionados com os tratamentos tecnológicos que as azeitonas de mesa sofrem. Estes tratamentos aumentam a pressão osmótica que levam a um aumento do teor em água e reduzem os demais componentes. (MALHEIRO et al., 2011).

Os resultados encontrados neste trabalho encontram-se bastantes próximos aos expostos por diversos autores. Por exemplo, Ünal;Nergiz (2003) reporta valores de humidade de 64,84±0,20% para azeitonas de mesa verdes. Também Montañó et al. (2010) reporta para o mesmo estilo de azeitonas valores entre 61,0%-80,6%.

Os lípidos são o segundo componente mais abundante nas pastas de azeitonas, apresentando valores em torno de 15%. A quantidade em lípidos está

intimamente relacionada com a variedade das azeitonas e o tempo de colheita. Como as azeitonas de mesa são colhidas normalmente ainda verdes, fica explicado a grande discrepância entre a percentagem de humidade e gordura (MALHEIRO et al., 2011).

Para pastas de azeitonas produzidas com azeitonas de mesa fermentadas ao natural com adição de orégãos, foram reportados valores de lípidos de $19,25 \pm 0,97\%$ (RODRIGUES, 2012), resultados muito próximos aos apresentados neste estudo.

A percentagem de hidratos de carbono está ao redor de 8%, resultados muito próximos aos obtidos em pastas produzidas com azeitonas de mesa de origem transmontanas (Portugal) (RODRIGUES, 2012).

As pastas de azeitonas apresentaram valores baixos (aproximadamente 1,3) na percentagem de cinzas. Normalmente em azeitonas de mesa que foram colhidas ainda verdes, a percentagem de cinzas tende a ser baixa. Em “*alcaparras*” (azeitonas de mesa verdes) o valor de cinzas variou entre 1,6%-1,9% (MALHEIRO et al., 2011) valores estes muito próximos ao obtidos com pastas de azeitonas sonificadas.

Os valores de proteínas das azeitonas e consequentemente das pastas de azeitonas tem uma relação direta com a cultivar. Contudo estas pequenas percentagens de proteínas podem também estar relacionadas com o processo fermentativo. Os valores de proteínas estão ao redor de 1%, resultados estes que também foram reportados em trabalhos com variedade de azeitona *Intosso d’Abruzzo* (LANZA,2013).

6.2 pH

O pH é um dos fatores intrínsecos dos alimentos que mais influencia o crescimento microbológico. Logo torna-se crucial o controle deste parâmetro de modo a garantir a segurança dos géneros alimentícios.

Independentemente do tipo de microrganismo patogénico e da sua origem, normalmente não é observável o seu crescimento a pH próximo de 4,0

(JAY,1998). Na tabela 7 encontram-se representados os valores de pH obtidos para as pastas de azeitonas antes de qualquer tratamento térmico, após tratamento térmico e ultrassónico.

Tabela 7- Valores de pH das pastas de azeitonas antes de tratamento, após tratamento térmico e após sonificação.

Análise	Antes de tratamento	Tratamento Térmico	Após sonificação
pH	(3,90 ±0,01) ^a	(3,91±0,02) ^a	(4,037 ±0,005) ^b

• **Experimento 4 (tabela 5), M±DP, n=3.**

Observa-se que o pH das pastas de azeitona antes de tratamento e após tratamentos térmico se mantiveram estatisticamente iguais ($p>0,05$) e que o pH das pastas de azeitonas sonificadas foram estatisticamente diferente das mencionadas anteriormente ($p<0,05$). Contudo estas diferenças são devidas ao rigor dos testes realizados, ou seja em termos reais todas as pastas apresentam valores de pH próximos de 4,0. Os mesmos resultados foram também reportados por López-López (2006), apontando um pH entre 3,46–4,07 para azeitonas de mesa verdes. Contudo, outros trabalhos realizados com azeitonas de mesa verde reportam valores de pH mais altos entre 3,6-5,70 (ÜNAL;NERGIZ, 2003).

Os valores baixos de pH estão relacionados com a adição de sumo de limão. Pode-se afirmar que a adição do sumo de limão aumentou a acidez das pastas e diminuiu o seu pH, aumentando desta forma a sua segurança microbiológica (RODRIGUES, 2012).

Em suma, pode afirmar-se que os valores de pH obtidos nas experiências foram inibitórios a grande parte dos microrganismos patogénicos, podendo assim se considerar as pastas de azeitonas sonificadas seguras, sendo que estas afirmações serão confirmadas a posteriori pelas análises microbiológicas realizadas.

6.3 Atividade de Água (Aw)

O ecossistema microbiano das azeitonas de mesa fermentadas é afetado por diversos fatores intrínsecos prevalentes na salmoura, tais como o pH, a atividade da água, difusão de nutrientes a partir das drupas (dependendo da estrutura da pele da azeitona) e níveis de compostos antimicrobianos tais como oleuropeína e outros polifenóis (NYCHAS et al., 2002).

Na tabela 8 encontram-se representados os valores da atividade de água obtidos para as pastas de azeitonas antes de qualquer tratamento térmico, após tratamento térmico e ultrassónico.

Tabela 8- Valores de atividade de água das pastas de azeitonas antes de tratamento, após tratamento térmico e após sonificação.

Análise	Antes de tratamento	Tratamento Térmico	Após sonificação *
Aw	(0,998 ±0,004) ^a	(0,9924±0,003) ^a	(0,9885 ±0,004) ^a

- **Experimento 5,6,7 (tabela 5), M±DP, n=3.**

As pastas de azeitona antes de tratamento, após tratamento térmico e após sonificação apresentam valores de Aw entre 0,99-1,00. Também Tofalo (2012), em estudos realizados com azeitonas de mesa fermentadas de cultivares italianas reportam valores de atividade de água entre 0,971–0,989 bastante próximos ao obtidos no presente trabalho e aos apresentados para azeitonas de mesa verdes fermentadas (Aw=0,97) por Agyri (2014). Apesar de elevadas atividades de água serem sinónimos de proliferação de microrganismos, é necessário ter em consideração de que forma esta água está ligada à matriz do alimento, visto que apenas a água livre (não-ligada à matriz alimentar) pode ser usada pelos microrganismos para se desenvolverem.

As pastas de azeitonas são um produto que derivam diretamente das azeitonas de mesa, logo, se o processo de fermentação das azeitonas de mesa é adequado, com um pH por volta de 4,0 juntamente com a adição de sal, diminui efetivamente a água disponível ao microrganismo (RODRÍGUEZ-GÓMEZ et al.,

2012) garantindo-se assim a segurança e qualidade microbiológica do produto final (PANAGOU;NYCHAS;SOFOS, 2013).

6.4 Microbiologia

Os microrganismos têm um papel essencial na diversificação dos produtos disponíveis ao consumidor. Contudo é necessário que exista um controle efetivo da qualidade microbiológica de modo a garantir, produtos que mantenham uma elevada qualidade nos parâmetros físico-químicos, mas nunca comprometendo a saúde dos consumidores.

Segundo o *Codex Alimentarius* (1995) é necessário estabelecer limites máximos (MLS) de contaminantes em produtos alimentares de modo a garantir que mesmo que consumidos em grande escala não existam riscos efetivos para a saúde dos consumidores. Em 2012, o *Codex Alimentarius*, revisando as normas para produção de azeitonas de mesa, diz que a preparação destes produtos deve seguir também as recomendações de higiene propostas pelo (CAC/RCP 1- 1969, revisto em 2003) de modo a garantir-se produtos seguros.

Em relação às pastas de azeitonas, não existem limites estabelecidos de contaminantes, contudo deve-se partir do princípio de que um alimento com uma contagem microbiana superior a 10^6 UFC/g, deve ser considerado suspeito e eliminado da cadeia alimentar (SILVA,2002).

Os principais grupos de micro-organismos que crescem em azeitonas de mesa e conseqüentemente em pastas de azeitonas são as *Enterobacteriaceae*, bolores e leveduras (HEPERKAN, 2013; RANDAZZO et. al, 2012; ARROYO-LÓPEZ et. al, 2010).

No presente trabalho foi analisado o efeito do ultrassom em micro-organismos indicadores do tempo de prateleira, de modo a comprovar a eficiência desta tecnologia na conservação dos géneros alimentícios.

Na tabela 9 são apresentados os resultados das análises microbiológicas para as pastas de azeitona antes de qualquer tratamento, após tratamento térmico e após sonificação (ensaios 5, 6 e 7 da tabela 4).

Tabela 9-Resultados das análises microbiológicas antes de tratamento, após tratamento térmico e após sonificação.

	Antes de tratamento	Tratamento Térmico	Após sonificação *
Bactérias Mesófilas (UFC/g)	$(3,3 \pm 1,2) \cdot 10^3$ a	$(4,7 \pm 1,2) \cdot 10^2$ a,b	$< 10^2$ b
Bolores e Leveduras (UFC/g)	$(6,6 \pm 1,2) \cdot 10^3$ a	$(4,9 \pm 1,0) \cdot 10^3$ a,b	$(1,9 \pm 0,9) \cdot 10^3$ b

* Ensaio 5, 6 e 7 (tabela 5), M±DP, n=3, teste de Tukey nas linhas com p<0,05.

Observa-se na tabela 9 que as bactérias mesófilas foram eliminadas da amostra após o tratamento por ultrassom, que comprova a eficiência deste tipo de tecnologia na redução de bactérias mesófilas. O tratamento térmico reduziu as mesófilas em um ciclo logarítmico quando comparado com a amostra antes do tratamento, porém os tratamentos são iguais estatisticamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A indústria alimentar tem ao longo do tempo recorrido quase exclusivamente a processos utilizando elevadas temperaturas para a eliminação de bactérias e enzimas de modo a preservarem os alimentos. Contudo o tempo e a temperatura utilizada são proporcionais perda de nutrientes nos alimentos.

O ultrassom utiliza um mecanismo diferenciado da pasteurização para eliminar os microrganismos, designado por cavitação acústica. O colapso assimétrico de uma bolha produzida pelo efeito de cavitação conduz a formação de um jato de líquido que percorre o centro de colapso da bolha. A velocidade desse micro jato é de centenas de metros por segundo. Devido a esta alta velocidade tem-se verificado a corrosão em superfícies sólidas e como os micro-organismos têm superfícies hidrófobas, vai levar a um rebentamento das bolhas na superfície das paredes celulares dos micro-organismos, levando à eliminação e consequente inativação do microrganismo (CHANDRAPALA et. al, 2012).

Se for feita uma comparação individualizada entre os resultados obtidos entre antes e após pasteurizar, e antes e após sonificar, é claramente visível a maior eficiência do ultrassom no processo de inativação de bactérias mesófilas. Estes resultados foram atingidos em outros trabalhos. Por exemplo, no estudo dos efeitos do ultrassom em sumos de mirtilos foi possível confirmar que o

ultrassom atingiu melhor resultados do que a pasteurização na inativação de bactérias lácticas (MOHIDEEN, 2014), já Herceg (2013) após estudar o efeito da pasteurização e do ultrassom na inativação de suspensões microbiana de *Escherichia coli* 3014 e *Salmonella sp.* 3064, conclui que o ultrassom é mais eficiente na eliminação destes microrganismos.

Em relação às análises de bolores e leveduras (tabela 9) todas as amostras apresentam resultados na ordem de 10^3 UFC/g, apesar disso o ultrassom apresenta melhores resultados segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). Apesar disso, pode-se afirmar que nem o tratamento térmico nem o tratamento por ultrassom mostraram grande eficiência na redução de bolores e leveduras, visto que apresentam a mesma magnitude de valores do que a pasta antes de qualquer tratamento (10^3). Após analisar-se separadamente bolores e leveduras, é possível chegar a algumas conclusões. Ao observar-se a figura 17, representando a comparação entre a amostra antes de qualquer tratamento e o tratamento ultrassônico é claramente visível a eficiência do ultrassom na eliminação de bolores. Esta afirmação fica ainda mais clara na última diluição (figura 18), em comparação com o método tradicional de pasteurização. Em oposição a pasteurização foi mais eficiente na eliminação de leveduras.

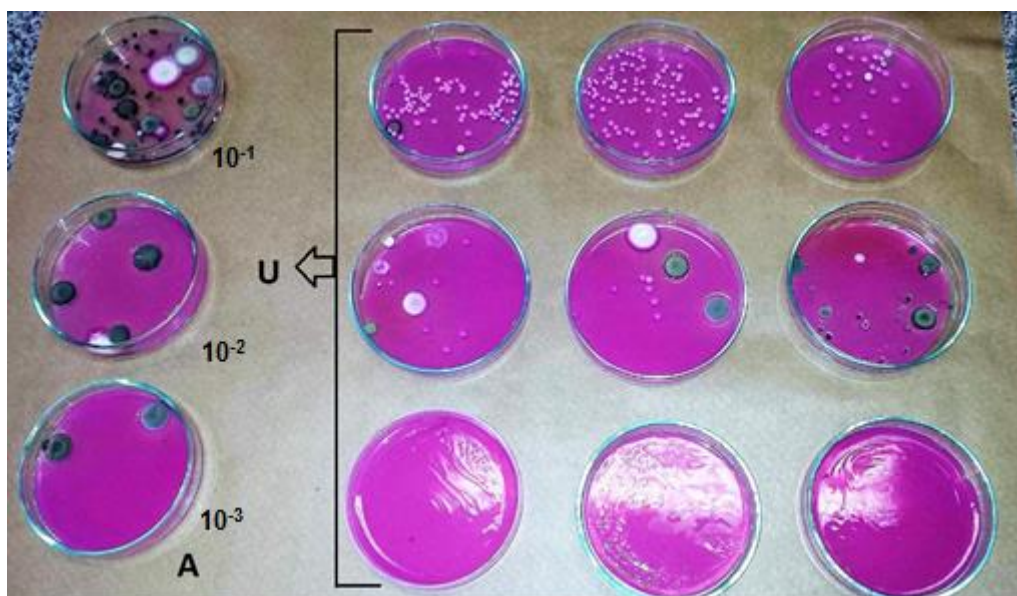


Figura 17- Placas de bolores e leveduras em triplicata nas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em que A representa pastas de azeitonas sem qualquer tipo de tratamento U representa pastas de azeitona sonificadas do ponto central do planejamento fatorial (tabela 4).

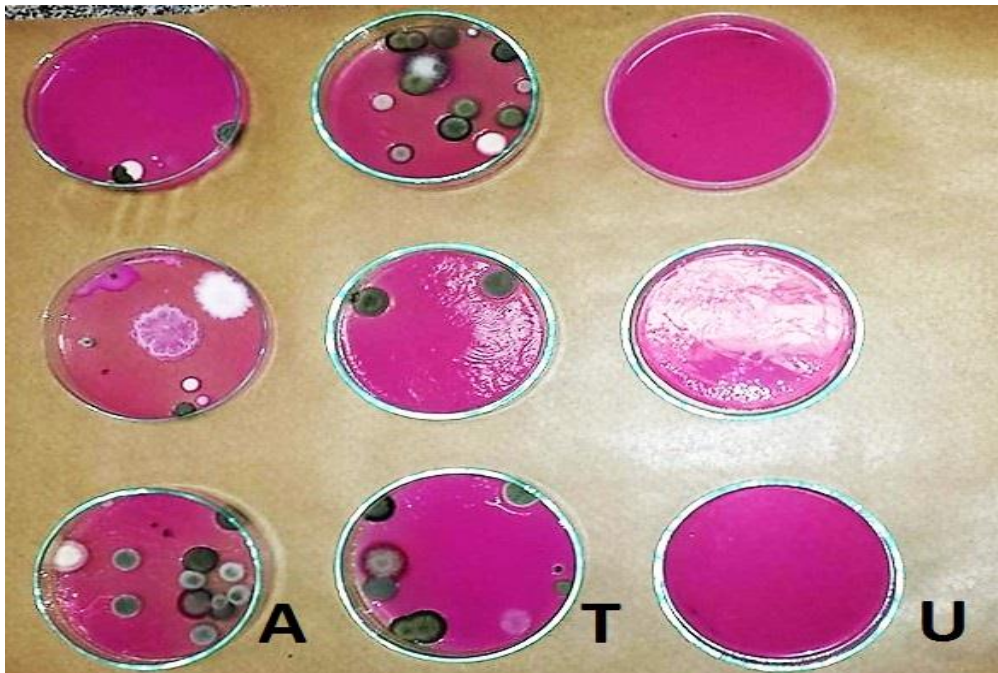


Figura 18- Placas de bolores e leveduras em triplicata na diluição 10^{-3} em que A representa pastas de azeitonas sem qualquer tipo de tratamento, T representa pastas de azeitonas pasteurizadas e U representa pastas de azeitona sonificadas no ponto central (5,6,7).

Após a análise dos ensaios, pode-se afirmar que todas as pastas realizadas, independentemente do método utilizado, apresentam resultados consistentes entre 10^2 UFC/g e a 10^3 UFC/g mantendo-se bastante abaixo do limite considerado suspeito, 10^9 UFC/g (*Codex Alimentarius*, 2015) podendo assim ser consumidas sem que haja qualquer risco para a saúde do consumidor.

6.5 – Textura

Na tabela 10 são apresentados os resultados das análises de textura para as amostras antes dos tratamentos, para os tratamentos térmicos e para os tratamentos com ultrassom (ensaios 5, 6 e 7 da tabela 5).

Tabela 10– Análise de textura da pasta de azeitona antes de tratamento, após tratamento térmico e após tratamento com ultrassom

Análises	Antes	Após tratamento térmico	Após sonificação *
Dureza (g)	218 ± 27 ^b	256 ± 38 ^a	274 ± 6 ^a
Adesividade (g.s)	-68 ± 16 ^a	-71 ± 8 ^a	-88,7 ± 0,6 ^a
Elasticidade (%)	0,998±0,003 ^a	0,997±0,001 ^a	0,996±0,001 ^a
Coabilidade (%)	0,49 ± 0,09 ^a	0,51 ± 0,06 ^a	0,62 ± 0,04 ^a

* Ensaio 5, 6 e 7 (tabela 5), M±EP, n=3, teste de Tukey nas linhas com p<0,05.

Os resultados da tabela 10 indicam que estatisticamente as propriedades elasticidade, coabilidade e adesividade não diferiram entre si ($p>0,05$), contudo a dureza do produto sonificado foi estatisticamente superior à dureza do produto antes de qualquer tratamento ($p<0,05$) e estatisticamente igual ao produto após tratamento térmico, devido principalmente a separação do azeite da pasta, o que lhe conferiu uma maior dureza.

A necessidade de utilizar novas alternativas na produção de alimentos, utilizando tecnologias verdes é cada vez mais uma preocupação da indústria alimentar.

O ultrassom é claramente uma tecnologia que pode ser utilizada para garantir produtos diferenciados mantendo uma elevada qualidade nas características finais dos géneros alimentícios.

Os resultados apresentados na tabela 10 indicam claramente que é possível produzir pastas de azeitonas com ultrassom, sem que haja alterações significativas nas principais propriedades texturais da mesma. A dureza foi a única propriedade em que se verificou alterações em relação à pasta de azeitona de referência. Contudo esta propriedade pode ser controlada pela potência de ultrassom como será discutido ao longo do trabalho. Estes resultados podem ser explicados pelo fenómeno de cavitação, visível na figura 19. Quando as bolhas produzidas pela cavitação colapsam são geradas forças que conseguem fragmentar a matriz alimentar em tamanhos microscópicos, aumentando a superfície de contacto entre os líquidos e sólidos a serem misturados, maximizando assim o processo de emulsificação (MANCOSKY;MILLY, 2011).

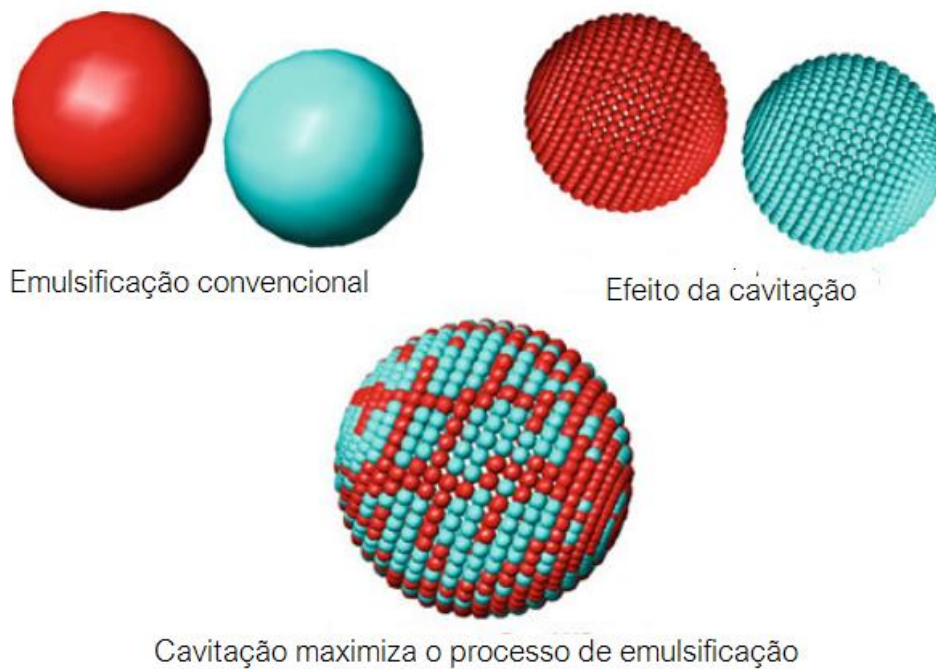


Figura 19- Comparação entre emulsificação entre métodos convencionais e ultrassom.
Fonte: MAncosky;Milly, 2011.

Em trabalhos realizados com produção de óleo de sementes de urucum estabilizado com biopolímeros, foi possível comprovar-se que o uso do ultrassom aumentou a estabilidade e a eficácia de emulsificação, bem como distribuições monomodais e gotículas de óleo mais pequenas, indicando assim um processamento uniforme em comparação com os métodos de agitação mecânica (SILVA et al., 2015).

Para além desta característica o ultrassom evita o uso de temperaturas elevadas características da pasteurização que acarretam perdas significativas na atividade antioxidante e nas propriedades nutricionais dos produtos, principalmente nas vitaminas. Em trabalhos realizados com pêssego, foi possível comprovar-se que o uso da pasteurização diminui efetivamente a quantidade de carotenoides (OLIVEIRA; PINTADO; ALMEIDA, 2012), em oposição em estudos realizados com sumos de frutas foi possível confirmar-se que o ultrassom não causa efeitos significativos na atividade antioxidante (TIWARI et al., 2008). Já em relação às vitaminas, Peng et al. (2015), concluíram que o uso de

temperaturas elevadas causa a perda de vitaminas em vegetais, sendo que a vitamina C é a mais afetada.

Em grande parte dos casos o ultrassom aumenta o tempo útil de vida dos produtos, sem afetar as propriedades da textura, por exemplo, num estudo realizado com morangos foi possível concluir que o ultrassom usando potência entre 30W a 40W, potência próxima à utilizada na produção de pastas de azeitonas sonificadas, aumentou consideravelmente o tempo de vida do produto, sem que houvesse alterações significativas nas análises de TPA realizadas antes e depois do tratamento ultrassônico (ADAY et al., 2013). Estes resultados foram também alcançados em outros trabalhos, por exemplo, em estudos realizados com gel de amido foi possível confirmar-se que comparando o gel de amido tratado com os métodos tradicionais com o gel de amido tratado por banho ultrassom não existiram alterações significativas nas propriedades texturais (dureza, adesividade, elasticidade, coesividade) (HERCEG et al., 2010).

6.6 – Análise dos efeitos do tempo e potência do banho de ultrassom (Planeamento Fatorial).

A realização da análise da textura instrumental é um método de grande valor para a indústria alimentar, visto que permite quantificar parâmetros que são essenciais para o consumidor no ato de compra. Para além disso, se a análise da textura instrumental for realizada corretamente normalmente apresenta correlações bastante positivas com a análise sensorial da textura.

Durante a realização das análises nas pastas de azeitona, foi possível verificar-se que a textura varia com a temperatura, contudo é difícil afirmar se há uma relação positiva ou negativa, visto que o aumento da temperatura está também associado a perda de homogeneidade da amostra, ou seja, quando a amostra sofre um aquecimento mesmo que com variações pequenas o azeite tem tendência a ficar no topo da pasta, dificultando a análise da textura. Sendo assim para se obter resultados objetivos foi necessário garantir que a temperatura estivesse sempre próxima dos 15°C, visto que esta temperatura

está entre a média da maior dos frigoríficos comerciais e a temperatura ambiente, garantindo-se assim que a textura analisada corresponde a textura que o consumidor ingerirá a amostra.

Na tabela 11 encontram-se os resultados obtidos durante a execução do planejamento fatorial completo descrito na tabela 5.

Tabela 11– Resultados do planejamento fatorial completo com variáveis independentes tempo e potência do ultrassom.

Experi- mentos	Bactérias Mesófilas (UFC/g)	Bolores e Leveduras (UFC/g)	Dureza (g)	Adesivi- dade (g.s)	Elastici- dade (%)	Coesivi- dade (%)
1	<10 ²	7,0.10 ³	226	-73	0,9967	0,57
2	<10 ²	1,0.10 ⁴	188	-71	0,9967	0,63
3	<10 ²	8,7.10 ³	526	-92	1,0983	0,71
4	<10 ²	8,5.10 ³	153	-81	0,9970	0,61
5	<10 ²	1,7.10 ³	278	-89	0,9960	0,59
6	<10 ²	1,9.10 ³	267	-89	0,9970	0,60
7	<10 ²	2,0.10 ³	277	-88	0,9973	0,66

Nas variáveis analisadas para as bactérias mesófilas, bolores e leveduras, adesividade, elasticidade e coesividade não foi encontrado relação significativa ($p>0,05$) em função das variáveis independentes tempo e potência do ultrassom no intervalo de estudo. Somente para a variável resposta dureza foi encontrado efeitos significativos (figura 20).

Em relação aos efeitos do ultrassom na microbiologia das pastas de azeitonas como já anteriormente referido, é possível afirmar que o ultrassom é extremamente eficaz na eliminação de bactérias mesófilas, contudo é menos eficiente na eliminação de leveduras. Durante a análise das placas de DRBC (figura 20) referente a bolores e leveduras é possível visualizar a extrema eficácia contra bolores mas não contra leveduras. Aparentemente as leveduras tem capacidade de produzir um biofilme durante o processo fermentativo das azeitonas de mesa (NYCHAS, 2002), fazendo com que seja mais difícil a sua eliminação utilizando o ultrassom.

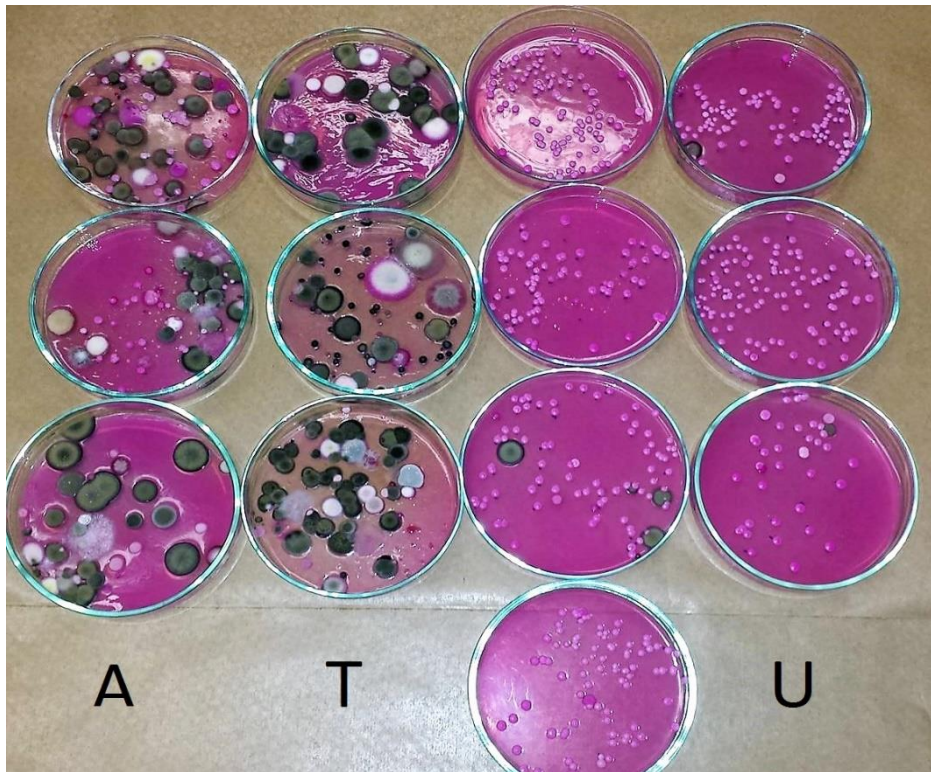


Figura 20- Placas de bolores e leveduras em triplicata na diluição 10^{-1} em que A representa pastas de azeitonas sem qualquer tipo de tratamento, T representa pastas de azeitonas pasteurizadas e U representa pastas de azeitona sonificadas representando o planeamento fatorial (tabela 4)

A adesividade é um parâmetro que avalia a quantidade de força necessária para sobrepor as forças de atração entre a superfície do alimento e a superfície em contacto com este, ou seja, num contexto real, por exemplo, indica a capacidade de o produto aderir à embalagem onde se encontra armazenado. Em relação à adesividade das pastas de azeitonas pode-se afirmar que estas apresentam pouca aderência (-71 g.s a -92g.s) com a superfície de contato se comparadas por exemplo, com doce de leite que apresenta uma adesividade extremamente elevada entre -409 g.s a -700,9 g.s (ROCHA et al., 2012).

A adesividade tem uma relação direta com o teor de sólidos (SINGH et al., 2013), ou seja, como as pastas de azeitonas possuem teores de humidade elevados, paralelamente apresentam teores em sólidos baixos. Esta relação permite explicar a baixa adesividade encontrada nas pastas de azeitonas tratadas por ultrassom.

A elasticidade é a capacidade de um material deformado retornar à sua condição não deformada após a força de deformação ser removida. Neste parâmetro as pastas de azeitonas apresentam valores próximos dos 1% um pouco superiores aos reportados por Habibi et al. (2016) para azeitonas de mesa verdes tratadas em banho ultrassônico ($0,464 \pm 0,044\%$). Contudo estes resultados podem ser explicados pelo processo tecnológico das pastas de azeitonas. A trituração e adição de azeite podem ter aumentado a capacidade de a pasta voltar à sua condição original após ser deformada.

A coesividade refere-se à força das ligações internas e ao grau de dificuldade em quebrar a estrutura interna (ADAY et al., 2013). Neste parâmetro a coesividade apresentou valores entre 0,57 % e 0,66 %. Também Habibi et al. (2016) no estudo de remoção da oleuropeína em azeitonas de mesa utilizando ultrassom estudou a coesividade reportando valores por volta dos $0,362 \pm 0,006$ %. A maior coesividade das pastas de azeitonas pode estar relacionado com a adição de azeite na formulação das mesmas.

Os resultados obtidos neste parâmetro sugerem que as pastas de azeitonas apresentam uma natureza viscoelástica com dominância viscosa (HABIBI et al. 2016).

A dureza ou firmeza foi a única propriedade da textura que foi afetada pelo ultrassom ($p < 0,01$). A análise da figura 21 indica que o tempo de tratamento no ultrassom reduz a dureza da pasta de azeitona (efeito negativo), enquanto a combinação da potência do ultrassom com o tempo também causa uma redução da dureza, porém com uma intensidade menor. Observa-se também que a potência do ultrassom possui um efeito positivo na dureza da pasta de azeitona. Estes efeitos também podem ser visualizados na figura 22 que mostra as curvas de contorno da dureza em função da potência e tempo.

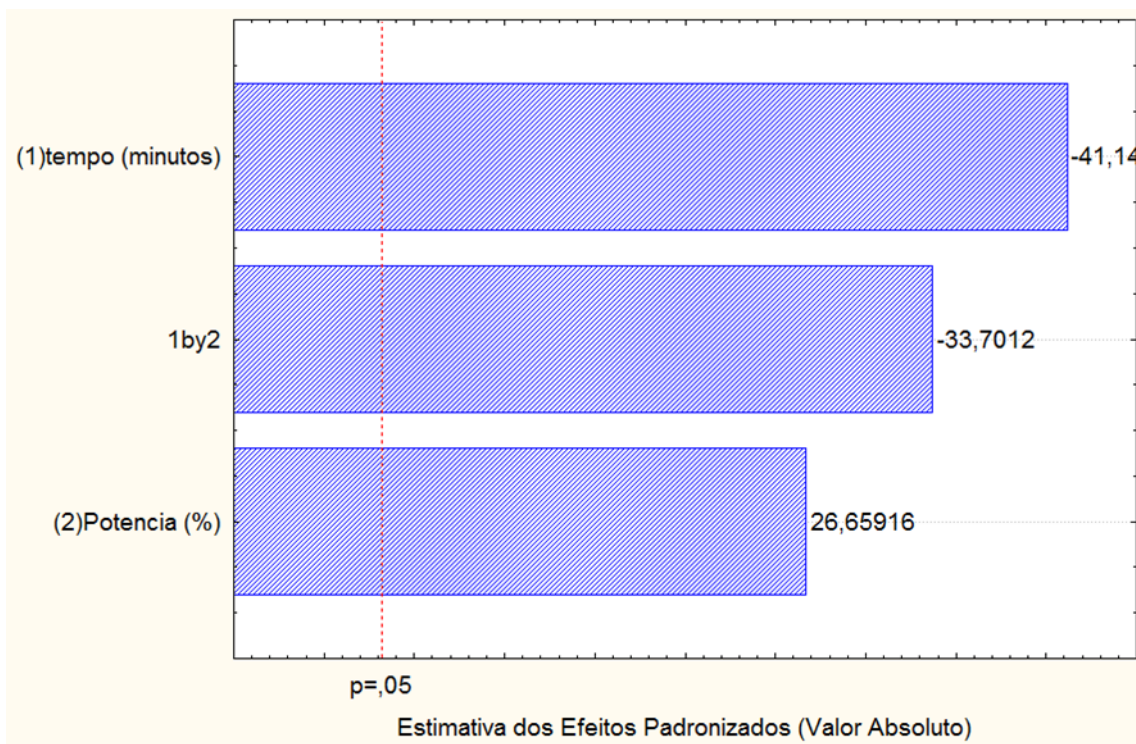


Figura 21- Efeito das variáveis tempo e potência na dureza da pasta de azeitona.

A dureza ou firmeza está relacionada com a capacidade de resistência da estrutura alimentar sob condições de compressão. Esta propriedade está intimamente relacionada com o teor de humidade e o teor de pectinas. Ou seja, quanto maior o teor de humidade menor será a dureza, em oposto quando maior o teor de pectinas maior será a dureza (SINGH et al., 2013; HABIBI et al., 2016).

Se compararmos a dureza e a humidade das pastas de azeitonas, em que a humidade se encontra entre os 75% e a dureza entre 153g e 526g com a humidade do presunto por volta dos 48,7% e uma dureza de 1910g (BENEDINI et al.,2012) é claramente evidente e passível de afirmar que para além das pastas de azeitonas apresentarem uma estrutura que não oferece grande resistência sob condições de compressão, essa falta de resistência está associada aos elevados índices de humidade. Já Habibi et al., 2016 apresenta resultados mais próximos aos obtidos no presente trabalho para azeitonas de mesa tratadas com ultrassom reportando valores de dureza por volta $377,41 \pm 47,97$ g, ainda assim valores superiores aos encontrados no presente trabalho com exceção do experimento 3 do planeamento fatorial. Estas diferenças podem

ser explicadas pelo processo de produção das pastas de azeitonas. O processo de trituração leva a perda de turgescência por parte das células devido à desorganização da membrana citoplasmática e à repartição das ligações entre pectinas e polissacarídeos. Contudo pode ainda também ter acontecido a desesterificação das pectinas. Esse processo aumenta drasticamente a densidade de carga das cadeias pécticas devido aos grupos carboxilos livres. A presença destas cargas negativas poderia conduzir a uma desestabilização da estrutura da parede, que afeta a sua conformidade, criando assim um obstáculo a criação de estruturas de géis que seriam responsáveis pela firmeza das pastas de azeitona (JIMÉNEZ et al.,1995). Em alguns estudos tem-se verificado uma correlação positiva entre a adição de óleos vegetais e o aumento da dureza (PERINA et al., 2015) ou seja, pode-se também concluir que a adição de azeite na produção das pastas de azeitona permitiu manter alguma resistência, mesmo que pequena, na estrutura do produto, devido provavelmente à capacidade deste produto em efetuar a ligação entre os vários componentes.

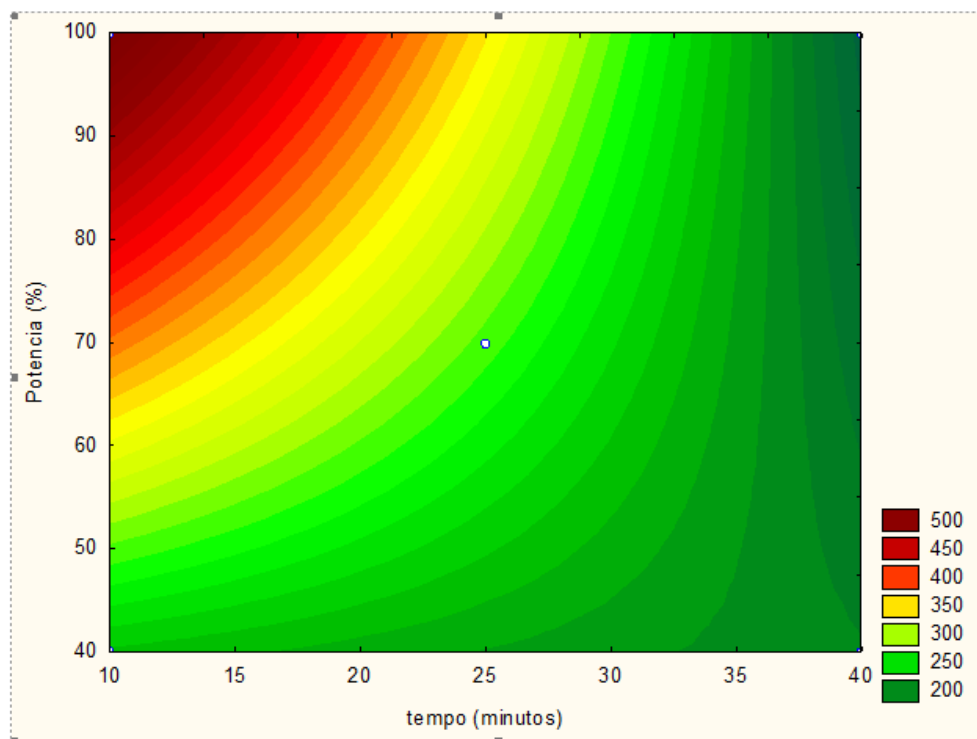


Figura 22- Curva de contornos de dureza (g) em função do tempo e potência.

Da figura 22 observa-se que a combinação onde se tem maior dureza é na região de menor tempo e maior potência aplicada na amostra, possuindo valores perto de 500 g. Do lado oposto, a região de maior tempo (40 minutos) combinado com maior potência produz as amostras com menor dureza (ao redor de 200 g). Estes resultados podem ainda estar relacionados com a separação da fase sólida e líquida, ou seja quanto maior a potência aplicada maior a probabilidade de o azeite surgir no topo da pasta, aumentando assim a sua dureza.

6.7 – Cor

Os resultados de cor no espaço $L^*a^*b^*$ estão expressos na tabela 12 para as pastas antes de qualquer tratamento, após o tratamento térmico e após o tratamento com ultrassom.

Tabela 12– Medidas de cor no espaço $L^*a^*b^*$ das pastas de azeitona antes do tratamento, após tratamento térmico e após tratamento com ultrassom.

Análise	Antes	Após tratamento térmico	Após sonificação *
L^*	58,7±0,9 ^a	59,6±0,3 ^a	59,6±0,3 ^a
a^*	-4,7±0,2 ^a	-4,6±0,1 ^a	-4,7±0,1 ^a
b^*	37,3±1,5 ^a	39,1±0,7 ^a	37,7±0,3 ^a

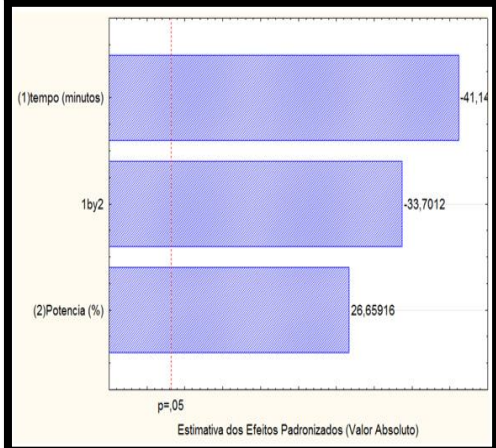
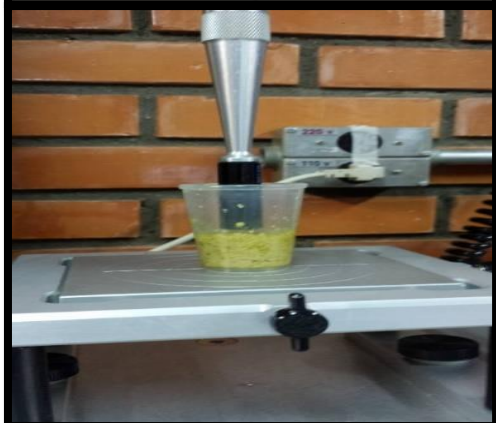
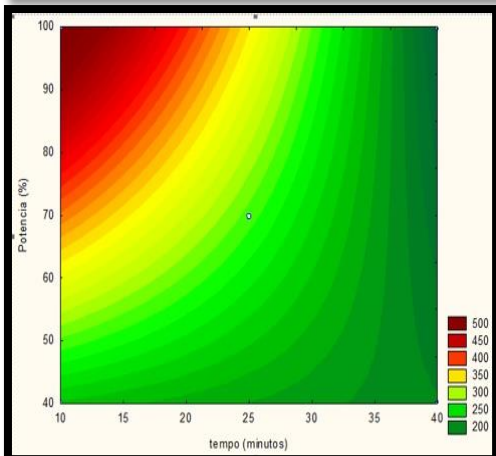
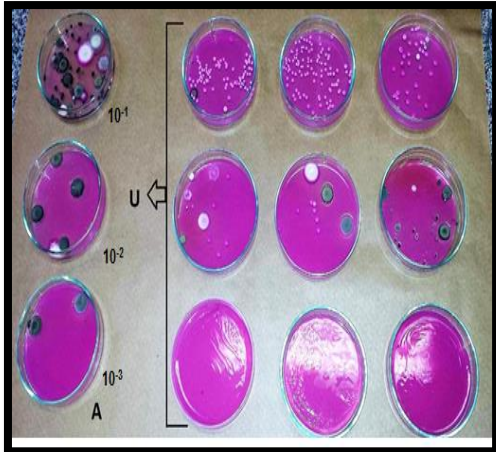
* Ensaio 5, 6 e 7 (tabela 5), $M \pm DP$, $n=3$, teste de Tukey nas linhas com $p < 0,05$.

Observa-se na tabela 12 que o tratamento térmico e com ultrassom apresentaram estatisticamente (teste de Tukey com $p > 0,05$) os mesmos resultados de medida de cor no espaço $L^*a^*b^*$, indicando que ambos os tratamentos não alteram estes parâmetros de cor da pasta de azeitona.

As azeitonas possuem na sua composição clorofilas a e b (verde), carotenoides (amarelo) e antocianinas (roxo-preto). As antocianinas são solúveis

em água, enquanto que os pigmentos responsáveis pela cor verde e amarela são solúveis em óleo, (KAILIS; HARRIS, 2007), sendo que estas características dependem do grau de maturação do fruto e do tipo de transformação que as azeitonas sofrem.

O parâmetro L^* que representam a luminosidade da amostra estão dentro dos valores reportados por outros autores, por exemplo, para azeitonas de mesa verdes fermentadas da variedade *cv Nocellara etnea*, o parâmetro de L^* encontrava-se entre $53,79 \pm 3,01$ (ROMEO et al., 2009), valor muito próximo dos obtidos no presente trabalho. Contudo em relação à coordenada cromática a^* , que representa a oposição entre o verde e o vermelho, o mesmo trabalho reporta um valor de $-1,75 \pm 1,72$ (ROMEO et al., 2009), apresentado assim uma diferença significativa quando comparado com os valores obtidos nas amostras estudadas neste trabalho. Estas diferenças podem ser explicadas tanto pelo processo de produção das pastas de azeitonas, como pela variedade de azeitonas usadas. A quantidade e retenção de pigmentos varia com a variedade de azeitonas e o estado de maturação a quando da colheita do fruto (CRIADO; MOTILVA; ROMERO, 2007). Logo a variedade utilizada neste trabalho apresenta um verde mais saturado, podendo representar uma cultivar que apresente frutos com um verde mais escuro ou ser representativa de uma colheita mais tardia do fruto. Contudo esta variação pode também estar relacionada com o modo de preparação das pastas, visto que a exposição ao ar durante o processo de fabrico é inevitável podendo ter acontecido a oxidação de alguns compostos, sendo que este fenómeno aliado a presença dos orégãos resultou num verde mais saturado. Já em relação em parâmetro b^* que representa a diferença entre amarelo e azul, os resultados obtidos neste trabalho, foram extremamente próximos aos reportados por Romeu et al. (2009), que para o parâmetro b^* das azeitonas de mesa da variedade *cv Nocellara etnea* cita um valor de $36,32 \pm 2,93$.



Capítulo 7

Conclusões

No presente trabalho analisou-se o efeito do ultrassom em pastas de azeitonas produzidas com azeitonas de mesa fermentadas sob o estilo sevilhano.

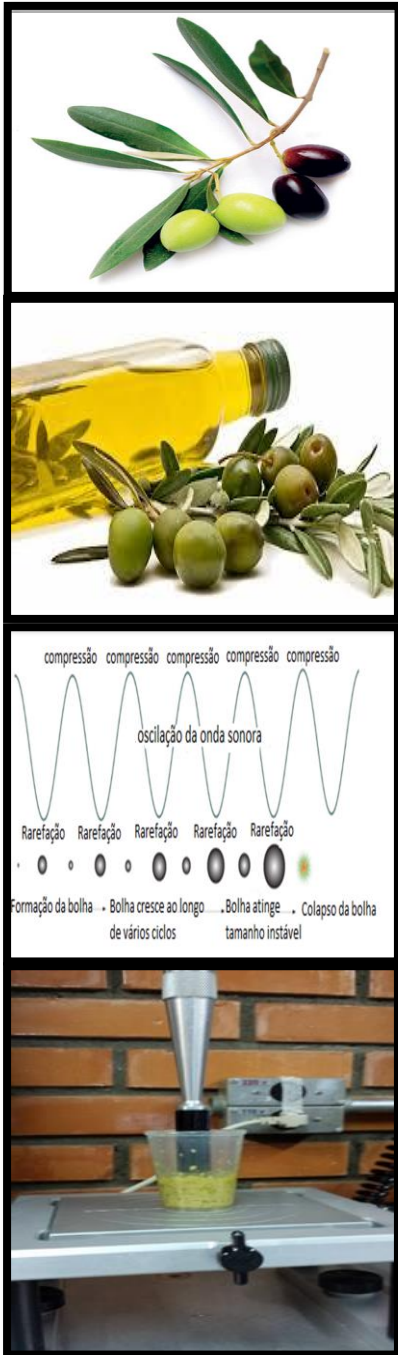
Existe uma crescente necessidade em utilizar-se tecnologias consideradas “verdes” e que causem o mínimo de alterações nos produtos, principalmente no que toca à composição nutricional.

O ultrassom demonstrou excelentes resultados na eliminação microbiana das pastas de azeitonas, sem que deste resultado existisse qualquer alteração na composição química, atingindo melhores resultados na eliminação das bactérias mesófilas do que o método tradicional de pasteurização, indicando que o uso de ultrassom é uma tecnologia viável na substituição das elevadas temperaturas (que geram perdas consideráveis na atividade antioxidante e na quantidade de vitaminas) produzidas pela pasteurização. Foi possível também comprovar-se a extrema eficiência do ultrassom na eliminação de bolores.

Apesar deste produto apresentar uma elevada atividade de água, como o pH é ácido (ao redor de 4,0) fica garantido a inibição da maioria dos microorganismos patogénicos.

Em relação a textura, foi possível comprovar-se que as pastas de azeitonas apresentam uma dureza relativamente baixa, e que esta é afetada principalmente pelo tempo de tratamento ultrassônico. Contudo numa perspetiva industrial este efeito pode ser positivo, visto que permitirá criar uma gama variada de textura, podendo-se atender assim aos mais variados interesses do consumidor. Os resultados sugerem também que as pastas de azeitonas apresentam uma natureza viscoelástica com dominância viscosa.

Finalizando, o ultrassom demonstrou ser uma tecnologia alternativa para a produção das pastas de azeitonas, permitindo controlar algumas propriedades das mesmas, sem que existam alterações significativas na maioria dos parâmetros analisados durante o trabalho, tendo ainda a vantagem de não utilizar temperaturas elevadas, que normalmente estão associadas a perdas nutricionais e à produção de compostos indesejáveis e prejudiciais à saúde humana. Futuramente seria ainda interessante comprar que não se verificam as mesmas alterações a nível sensorial.



Capítulo 8

Referências

ADAY, M. TEMIZKAN, R. BYYUKCAN, M. CANER, C. An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound. **LWT - Food Science and Technology**, V. 52, pp. 93-101, 2013.

ALVES, A.D.L. CICHOSKI, A.J. BARIN, J.S. RAMPELOTTO, S.B. DURANTE, E.C. O ultrassom no amaciamento de carnes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.8, p.1522-1528, ago, 2013.

ANGEROSA, F. CAMPESTRE, C. GIANANTE, L. Analysis and Authentication. **Olive oil chemistry and technology**, second edition, p. 114-122, 2006.

ANTHOULA, A. ARGYRI, A. LYRA, E. EFSTATHIOS, Z. PANAGOU, B. CHRYSOULA, C. TASSOU, A. Fate of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes* during storage of fermented green table olives in brine. **Food Microbiology**, V.36, pp. 1-6, 2013.

AOAC nº 920.152. Official Methods of Analysis. **Protein in fruit products Kjeldahl Method**. Maryland, 2005.

AOAC nº 978.18. Official Methods of Analysis. **Water activity of canned vegetables**. Arlington, VA, USA, 1978

AOAC, nº 940.26. Official Methods of Analysis. **Ash of Fruits and Fruit Products-Methods**. Arlington, VA, USA, 2000.

AOAC, nº 948.22. Official Methods of Analysis. **Fat (crude) in nuts and nut products**. Arlington, VA, USA, 2000.

AOAC, nº 968.30. Official Methods of Analysis. **Canned Vegetables-Drained Weight Procedure**. Arlington, VA, USA, 1968.

ARGYRI, A.A. NISIOTOU, P. PRAMETAFTAKI, A.I. DOULGERAKI, E.Z. PANAGOU, E.Z. TASSOU C. Preservation of green table olives fermented with lactic acid bacteria with probiotic potential under modified atmosphere packaging. **LWT - Food Science and Technology**. pp 1-8, 2014.

ARROYO-LÓPEZ, F.N. et al. Predictive microbiology and table olives. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, v.II, n.13, p.1452-1461, 2010. Disponível em: <<http://www.formatex.info/microbiology2/1452-1461.pdf>>. Acesso em: 8 out. 2015.

ARROYO-LÓPEZ, F.N. ROMERO-GIL, V. BAUTISTA-GALLEGO, F. RODRÍGUEZ-GÓMEZ, R. JIMÉNEZ-DÍAZ, R. GARCÍA-GARCÍA, P. QUEROL, A. GARRIDO-FERNÁNDEZ, A. Yeasts in table olive processing: Desirable or spoilage microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**. V. 160, pp. 42–49, 2008.

BENEDINI, R. PAROLARI, G. TOSCANI, T. VIRGILI, R. Sensory and texture properties of Italian typical dry-cured hams as related to maturation time and salt content. **Meat Science**. V. 90, pp. 431-437, 2012.

BARNES, H.A. HUTTON J.F. WALTERS, K. **An introduction to rheology**. Elsevier science publishers B.V, 1º edition, pp. 12-25, 1989.

BERTONCINI, E. TESTA, U. Análise sensorial de azeites de oliva. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 35, n. 282, p. 58 - 65, 2014.

BOSKOU, D. BLEKAS, B. TSIMIDOU, M. olive oil composition. **Olive oil chemistry and technology**, second edition, p. 41, 2006.

BOSKOU, D. Characteristics of the Olive Tree and Olive Fruit. **Olive oil chemistry and technology**, second edition, p. 2-4, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012. Estabelece o Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva na forma da presente Instrução Normativa e os limites de tolerância constantes dos seus Anexos I, II, III e IV. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2 fev. 2012. Seção 1, p. 5-8. Disponível em: <http://pt.slideshare.net/ruralbr/instruo-normativa-define-padres-para-classificao-do-azeite-de-oliva-e-do-leo-do-bagao-de-oliva>. Acesso em: 10 de out. 2015.

BROOKFIELD, D. The Role Of Texture Analysis In Food Manufacturing. **Food online**, 2009. Disponível em: <http://www.foodonline.com/> acesso em: 15 de mar., 2016.

BOX, G. E. P. WOODALL, W.H. Innovation, Quality Engineering, and Statistics. **Quality Engineering**. V.24, pp. 20-29, 2012.

CAPPATO, L. FERREIRA, E. ROSENTHAL, A. Azeitonas de mesa no Brasil: mercado, tecnologia e aspectos legais. **Ciências rurais**. 2014.

ÇENGEL, Y.A. CIMBALA, J.M. **mecânica dos fluidos: fundamentos e aplicações**. McGraw-Hill, pp. 35-44, 2007.

CHANDRAPALA, J. OLIVER, C. KENTISH, S. ASHOKKUMAR, M. Ultrasonics in food processing- Food quality assurance and food safety. **Trends in Food Science & Technology**. V.26, pp. 88-98, 2012.

CHAUDHARI, B. SUNEETA, J. P. PINTO, V. Ultrasound Technology for Dairy Industry. **National Seminar on “Indian Dairy Industry - Opportunities and Challenges**, 2015.

CHEMAT, F. KAHAN, M. ZILL-E-HUMA. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry** v.18, pp.813–835, 2011.

CHEN, L. OPARA, U. Texture measurement approaches in fresh and processed foods — A review. **Food Research International** pp. 823–835, 2013.

CIPRIANI, G. MARRAZZO, M.T. MARCONI, R. TESTOLIN, A. Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. **Theoretical and applied genetics** pp. 223, 2012.

Codex alimentarius. Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed (codex stan 193-1995). 1995. Disponível em:

<http://www.codexalimentarius.org/>. acesso em: 4 de mai., 2016.

Codex alimentarius. Codex standard for tables olives (codex stan 66-1981).

2012. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.org/>. acesso em: 9 de out., 2015.

Codex alimentarius. AC/RCP 1-1969, rev. 2003. Recommended internacional code of practice general principles of food hygiene. 2003. Disponível em:

<http://www.codexalimentarius.org/>. acesso em: 4 de mai., 2015.

COI (INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL). **Preliminary draft guide for extra virgin olive oil quality competitions**. Agosto, 2015.

COI (INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL). Statistic of table olive's world production, 2014. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/132-world-table-olivefigures>>.

Acesso em: 10 de out., 2015.

COI (INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL). Statistic of olive's oil world importations, 2014A. Disponível em:

<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>.

Acesso em: 10 out., 2015.

COI (CONSEIL OLEICOLE INTERNATIONAL). **Trade standard applying to table olives**. Dezembro, 2004.

CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) Nº 1513/2001. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**. Junho, 2001.

CONSELHO DA UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) Nº 1989/2003. **Jornal Oficial da União Europeia**. 2003.

DONNELL, C. P. TIWARI, B.K. BOURKE, P. CULLEN P.J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **School of Food Science and Environmental Health**, 2010.

CRIADO, M.N. MOTILVA, M. GONI, J. M., ROMERO, M.P. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. **Food Chemistry**, V.100, pp. 748–755, 2007.

FERNÁNDEZ, A. G. DÍEZ, M. J. F. ADAMS, M. R. Table olives. Production and Processing. **Chapman & Hall**. UK, 1997.

FERNANDEZ, A. Trade standard applying to table olives. **COI/OT/NC**. Dec. 2004.

FOX, R. W. McDONALD, A. T. **Introdução à Mecânica do Fluidos**. 5. ed. Rio de Janeiro, pp.40-53. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2001.

GUZMÁN, Ediguer Enrique Franco E.E.F. **Medição das propriedades viscoelásticas de líquidos por ultrassom**. 2010, 95 f. Tese (Doutoramento

em engenharia) - Tese apresentada a Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção de título de doutor em engenharia. 2010.

HABIBI, M. GOLMAKANI, M. FARAHNAKY, A. MESBAHI, G. MAJZOBI, M. NaOH-free debittering of table olives using power ultrasound. **Food Chemistry** V.192, pp.775-781, 2016.

HEPERKAN, D. Microbiota of table olive fermentations and criteria of selection for their use as starters. **Front. Microbiol.** V.4, pp.143, 2013.

HERCEG, I. HERCEG, L. JAMBRAK, A. SUBARIC, D. BRNCIC, M. BRNCIC, S. BADANJAK, M. TRIPALO, B. JEZEK, D. NOVOTNI, D. HERCEG, Z. Texture and Pasting Properties of Ultrasonically Treated Corn Starch. **Czech J. Food Sci.** V. 28, pp. 83-93, 2010.

HERCEG, Z. MARKOV. K, SABOTA, B. VUKU, T. KALITERNA, J. JAMBRAK, A. High Intensity Ultrasound against Spoilage Bacteria. **Food Technol. Biotechnol** V.51, pp. 352–359, 2013.

HURTADO, A. REGUANT, C. BORDONS, A. ROZÈS, N. Lactic acid bacteria from fermented table olives. **Food Microbiology** V.31, pp. 1-8, 2012.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Fruit and vegetable products- Determination of pH.**, nº 1842, 1991. Disponível em: <https://law.resource.org/pub/eac/ibr/eas.41.5.2000.pdf> Acesso em 4 de mai. 2016.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Colony-count technique at 30 °C.**, nº 4833, 2003. Disponível em: <https://law.resource.org/pub/eac/ibr/eas.68.1.2006.pdf>. Acesso em 23 de out. 2015.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Sensory analysis-Methodology-Texture profile.** Nº 11036, 1994. Disponível em: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=19016 acesso em: 12 de mar. de 2016.

JAY, James. **Modern food microbiology.** LCT- livros técnicos e científicos S.A. 5º edition, 1998.

JIMÉNEZ, A. GUILLÉN, R. SÁNCHEZ, C. FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J, HEREDIA, A. Changes in Texture and Cell Wall Polysaccharides of Olive Fruit during “Spanish Green Olive ”Processing. **J. Agric. Food Chem.** V. 43, pp.2240-2246, 1995.

WANG, J. WAN, W. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. **Internacional journal of hydrogen energy.** V.34 pp.235-244, 2009.

KAILIS, S. G. HARRIS, D. J. Producing Table Olives. **Landlinks Press,** 2007.

KAL TSA, A. MICHON, B. YANNIOTIS, S. MANDALA, A. Ultrasonic energy input influence on the production of sub-micron o/w emulsions containing whey

protein and common stabilizers. **Ultrasonics Sonochemistry** v. 20 pp. 881–891, 2012.

LANZA, B. Nutritional and Sensory Quality of Table Olives. **Olive Germplasm**. pp. 334-372, 2013.

LAU, M.H. TANG, J. PAULSON A.T. Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. **Food Research International** pp. 665-671, 2000.

LEONG, T. ASHOKKUMAR, M. KENTISH, S. The fundamentals of power ultrasound- a review. **Acoustics Australia** p.54, v.39, nº2. 2011.

LÓPEZ-LÓPEZ, A. **Composición y valor nutricional de la aceituna de mesa**. PhD Thesis, University of Seville, Spain, 2006.

MAJID, I. NAYIK, G. NANDA, V. Ultrasonication and food technology: A review. **FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY** pp. 2-5, 2015.

MALHEIRO, R. CASAL, S. Sousa, A. GUEDES DE PINHO, P. PERES, A.M. DIAS, L.G. BENTO, A. PEREIRA, J.A. (2012). Effect of cultivar on sensory characteristics, chemical composition and nutritional value of stoned green table olives. **Food and Bioprocess Technology**, 5, 1733-1742. 2011.

MANCOSKY, D. MILLY, P. Controlled Cavitation for Scale-Free Heating, Gum Hydration and Emulsification in Food and Consumer Products. **Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing**, 2011.

MASON, T. PANIWNYK, L. LORIMER. J. P. L. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry** v. 3, pp. S253-S260. 1996.

MEDINA, E. GARCIA, A. ROMERO, C. CASTRO, A. BRENES, M. Study of the anti-lactic acid bacteria compounds in table olives. **International Journal of Food Science and Technology** V. 44, pp. 1286–1291, 2009.

MONTAÑO, A. SÁNCHEZ, A. LÓPEZ-LÓPEZ, A. CASTRO, A. REJANO, L. Chemical Composition of Fermented Green Olives: Acidity, Salt, Moisture, Fat, Protein, Ash, Fiber, Sugar, and Polyphenol. **Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention**. pp. 292-297, 2010.

NISHINARI, K. KAORU, K. KUMAGAI, H. FUNAMI, T. BOURNE, M. Parameters of Texture Profile Analysis. **Food Sci. Technol. Res.** pp 519 – 521, 2013.

Nogueira, Filipa. **Contribuição para a caracterização de “Azeitonas de mesa mistas ao natural” produzidas de forma tradicional em Trás-os-Montes: aspectos morfológicos, químicos e microbiológicos**. 2012, 98 f.

Dissertação (mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior Agrária de Bragança. Bragança, 2012.

NYCHAS, G. J. E. PANAGOU, M. L. WALDRON, K. W. TASSOU, C. C. Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. **Letters in Applied Microbiology**, V.34, pp. 173-177, 2002.

OLIVEIRA, A. PINTADO, M. ALMEIDA, D. Phytochemical composition and antioxidant activity of peach as affected by pasteurization and storage duration. **LWT - Food Science and Technology**, V. 49, pp. 202-207, 2012.

OSAWA, C.C. FERRARI, C.C. SIQUEIRA, P.B. BRITO, C.K. SANVIDO, G.B. BOTELHO, A.P. ALVES, L.R. CARDOSO, C.F. MOAIS, V.H. MELO, L.L.M.M. RIBEIRO, A.P.B. BOLINI, H.M.A. Avaliação do perfil sensorial de chá light sabor pêssego. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, pp. 102-108, dez. 2008.

PANAGOUE, E. Z. KATSABOXAKIS, C. Z. Effect of different brining treatments on the fermentation of cv. Conservolea green olives processed by the Spanish-method. **Food Microbiology**, V.23, pp. 189-206, 2006.

PANAGOUE, E. Z. NYCHAS, G. SOFOS, N. Types of traditional Greek foods and their safety. **Food Control**. V. 29, pp. 32-41, 2013.

PEREIRA, A.P. PEREIRA, J.A. BENTO, A. ESTEVINHO, L. Controlo microbiológico de pastas de azeitona processadas com diferentes especiarias e temperos. **Simpósio nacional de olivicultura**. Santarém, 2009.

PERINA, N.P. GRANATO, D. HIROTA, C. CRUZ, A.G. BIGSAN, C.S.B. OLIVEIRA, M.N. Effect of vegetal-oil emulsion and passion fruit peel-powder on sensory acceptance of functional yogurt. **Food Research International**. V. 70, pp.134–141, 2015.

PENG, J. TANG, J. BARRETT, D. SABLANI, S. ANDERSON, N. POWERS, J. Thermal Pasteurization of Vegetables: Critical Factors for Process Design and Effects on Quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 2015.

PESTANA-BAUER, V. GOULARTE-DUTRA, ZAMBIAZI, F. caracterização do fruto da oliveira (variedade carolea) cultivada na região sul do Brasil. **Alim. Nutr.**, Araraquara v. 22, n. 1, p. 79-87, jan./mar. 2011.

PINGRET, D. FABIANO-TIXIER, A. BOURVELLEC, C. RENARD, C. CHEMAT. F. Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. **Journal of Food Engineering** 111 pp. 73 – 81, 2012.

POLYMEROU-KAMILAKIS, A. The culture of the olive tree. **Olive oil chemistry and technology**, second edition, p. 1, 2006.

ROCHA, L. PIMENTA, C. REZENDE, D. OLIVEIRA, R. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE DOCE DE LEITE ELABORADO COM EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA E SORO DE LEITE SABOR CAFÉ. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, V.14, n.3, pp.251-259, 2012.

RAHMAN, M.S. AL-FARSI, S.A. Instrumental texture profile analysis (TPA) of date flesh as a function of moisture content. **Journal of Food Engineering**. V. 66 pp. 505–511, 2005.

RANDAZZO, C. RIBBERA, A. PITINO, A. ROMEU, F. CAGGIA, C. Diversity of bacterial population of table olives assessed by PCR-DGGE analysis. **Food Microbiology**. V. 32, pp. 87-96, 2012.

RODRIGUES, N. J.A. PEREIRA, J.A. BENTO, A. RAMALHOSA, E. Controlo microbiológico de pastas de azeitona processadas com diferentes especiarias e temperos. VI Simpósio Nacional de Olivicultura, Mirandela. **Atas Portuguesas de Horticultura**, Nº 21, 2012.

RODRIGUES, Nuno. **Preparação de Pastas com “Azeitona de Mesa Transmontana**. 2012, 84 f. Dissertação (mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior Agrária de Bragança. Bragança, 2012.

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F. BAUTISTA-GALLEGO, J. ROMERO-GIL, V. ARROYO-LÓPEZ, F.N. GARRIDO-FERNÁNDEZ, A. GARCÍA-GARCÍA P. Effects of salt mixtures on Spanish green table olive fermentation performance. **LWT - Food Science and Technology**. V. 46, pp.56-63, 2012.

ROMEO, F. Microbiological Aspects of Table Olives, Chapter 15. **Intech**, 2012.

ROMEO, F. DE LUCA, S. PISCOPO, A. PERRI, E. POIANA, M. Effects of post-fermentation processing on the stabilisation of naturally Fermented green table olives (cv Nocellara etnea). **Food Chemistry**, V. 116, pp. 873-878, 2009.

ROSENTHAL, A.J. texture profile analysis- how important are the parameters. **Journal of Texture Studies** V. 41 pp. 672–684, 2010.

SCHIOZER, Dayr. **mecânica dos fluidos**. LCT- livros técnicos e científicos S.A. 2ª edição, p. 1-8. 1996.

SINGH, V. GUIZANI, N. AL-ALAWI, A. CLAEREBOUDT, M. RAHMAN, M.S. Instrumental texture profile analysis (TPA) of date fruits as a function of its physico-chemical properties. **Industrial Crops and Products**. V. 50 pp. 866-873, 2013.

SILVA, E. GOMES, T. HUBINGER, M. CUNHA, R. MEIRELES, A. Ultrasound-assisted formation of annatto seed oil emulsions stabilized by biopolymers. **Food Hydrocolloids**. V. 47, pp. 1-13, 2015.

SILVA, Maria. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com utilização de metodologias convencionais e do sistema SIMPLATE**. 202, 75 f. Dissertação (mestrado em Ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002.

SILVA, N. JUNQUEIRA, V.C.A. SILVERIA, N.F.A TANIWAKI, M.H. SANTOS, R.F.S. GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de Análise microbiológica de Alimentos e Água**. 4 ed. p.33-99. LIVRARIA VARELA. 2010.

SIMUNEK, M. JAMBRAK. A, DOBROVIC, S. HERCEG, Z. VUKUSIC. T. Rheological properties of ultrasound treated apple, cranberry and blueberry juice and nectar. **Journal food and science technology**. 2013.

SOUSA, A. CASAL, S. BENTO, A. MALHEIRO, R. BEATRIZ, M. OLIVEIRA, P.P. PEREIRA, J.A. Chemical Characterization of “Alcaparras” Stoned Table Olives from Northeast Portugal. **Molecules**, 16, 9025-9040. 2011.

SPYROPOULOU, K.E. CHORIANIPOULOS, N.G. SKANDAMIS, P.N. NYCHAS, G. Survival of Escherichia coli O157:H7 during the fermentation of

Spanish-style green table olives (conservolea variety) supplemented with different carbon sources. **International Journal of Food Microbiology** V. 66, pp. 3-11, 2001.

STOKES, J.R. BOEHM, M.W. BAIER, S.K. Oral processing, texture and mouthfeel: From rheology to tribology and beyond. **Current Opinion in Colloid & Interface Science** V. 18, pp. 349–359, 2013.

SZCZESNIAK, A.S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference** V. 13, pp. 215–225, 2002.

TEÓFILO, F.R. FERREIRA, M.M. Planejamento fatorial aplicado à digestão de amostras de feijão assistida por radiação microondas. **Quim. Nova**, Vol. 29, pp.149-152, 2006.

TERAMOTO, J. BERTONCINI,E. PRELA-PANTANO,A. Mercados dos produtos da oliveira e os desafios brasileiros. **Informações Econômicas, SP**, v. 43, pp. 24-27. mar./abr. 2013.

TIWARI, B.K. O'DONNELL, C.P. MUTHUKUMARAPPAN, K. Effect of ultrasound processing on the quality and nutritional properties of fruit juices. **Stewart Postharvest Review**. pp.3-6, 2008.

TOFALO, R. SCHIRONE, M. PERPETUINI, G. ANGELOZZI, G. SUZZI, G. CORSETTI, A. Microbiological and chemical profiles of naturally fermented table olives and brines from diferente Italian cultivars. **Antonie van Leeuwenhoek** V.102 pp.121-131, 2012.

ÜNAL, K. NERGİZ, N. The effect of table olive preparing methods and storage on the composition and nutritive value of olives. **Grasas y Aceites**, V.54, pp. 71-76, 2003.

VELASCO, J. DOBARGANES, C. Oxidative stability of virgin olive oil. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** pp. 661–676, 2002.

VISIOLI, F. POLI, A. GALLI, C. Antioxidant and Other Biological Activities of Phenols from Olives and Olive Oil. **Medicinal Research Reviews**, Vol. 22, No. 1, pp. 65-75, 2002.

WANG, J. WAN. W. Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. **International journal of hydrogen energy**. V. 3 4, pp, 235-244, 2009.

WINOPAL, D. DROBNY, L. SCHNEIDER-HÄDER, B. Instrumental sensory testing in the food industry. **DLG**, 2015. Disponível em: <http://www.dlg.org/>. Acesso em: 15 de mar. de 2016.

ZAMPOUNIS, Vassilis. Olive Oil in the World Market. Olive Oil. **Chemistry and Technology**. Second Edition, p. 21-35. 2006.