

Preparação de Pastas com “Azeitona de Mesa Transmontana”

Nuno Miguel de Sousa Rodrigues

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

Orientado por

Prof. Doutor José Alberto Cardoso Pereira

Prof. Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa

**Bragança
2012**

O traballo que se presenta teve o apoio financeiro de:

Proxecto: *AGRINNDIF-"Mejora de la competitividad del sector agrario de Castilla y León y Norte de Portugal através de la innovación y el desarrollo de productos diferenciados de alto valor"*. POCTEP, 0452_AGRINNDIF_2_E



UE
FEDER
Investimos no seu futuro

Aos meus pais

À minha irmã

Agradecimentos

Ao entregar este trabalho, é com enorme prazer e satisfação que agradeço a todos aqueles que, de alguma maneira contribuíram para a sua realização e conclusão.

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus orientadores. Ao Professor Doutor José Alberto Pereira, da Escola Superior Agrária, por toda a ajuda prestada na realização do trabalho laboratorial e escrito, pelo constante incentivo e disponibilidade, pela sua grande paciência e conselhos fornecidos, pela exigência e rigor, pela confiança e acima de tudo por toda a amizade.

À Professora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa, da Escola Superior Agrária, pela disponibilidade e ajuda, pelas sugestões e ensinamentos prestados na realização deste trabalho.

À Professora Doutora Ermelinda Pereira, da Escola Superior Agrária, pelos conhecimentos transmitidos na parte da caracterização microbiológica, pela sua disponibilidade e apoio.

Ao Professor Doutor Albino Bento, da Escola Superior Agrária, pela simpatia e esforço para garantir condições materiais e financeiras para o bom desenvolvimento do trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, Anabela Sousa, Ivo Oliveira, Ricardo Malheiro e Teresa Gomes pelo apoio, pela perseverança incentivo, auxílio, boa disposição e amizade, pelos conselhos e companhia, pela paciência e conhecimentos transmitidos ao longo do decorrer do trabalho, pois sem eles eu não teria conseguido alcançar os objetivos definidos.

Aos meus amigos Hugo Lamas, Ana Alves, Filipa Nogueira, Patrícia Mendes, Thays Borges e Vanessa Paula pela sua ajuda, pelo seu apoio, boa disposição e amizade, por todo o carinho prestado e por todos os momentos de companheirismo que permitiram completar todo este trabalho e a todos os restantes colegas que de alguma forma contribuíram de alguma maneira.

Por fim, mas nunca em último, agradeço aos meus pais pelo esforço realizado, que permitiu que eu chegasse aqui, pelo seu constante apoio, incentivo e pelo seu amor.

À minha irmã por me animar em todos os momentos e me ter ajudado quando mais precisei.

ÍNDICE

RESUMO	XIII
ABSTRACT.....	XV
CAPÍTULO 1.	
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2.	
BREVE REVISÃO SOBRE O TEMA	7
2.1 PRINCIPAIS TIPOS DE AZEITONAS DE MESA	9
2.1.1 <i>Fermentação natural</i>	10
2.1.2 <i>Estilo Espanhol ou Sevilhano</i>	11
2.1.3 <i>Estilo Californiano ou Americano</i>	11
2.1.4 <i>Outros tipos de preparações</i>	12
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	13
2.3 ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	14
2.4 PASTAS DE AZEITONA.....	14
2.5 ASPETOS A CONSIDERAR NO DESENVOLVIMENTO DE PASTAS DE AZEITONA	17
CAPÍTULO 3.	
MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1 MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS E SUA CARACTERIZAÇÃO	21
3.2. PREPARAÇÃO DAS PASTAS DE AZEITONA.....	23
3.3. PARÂMETROS DE QUALIDADE AVALIADOS NAS PASTAS DE AZEITONA	25
3.4. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PERFIL FENÓLICO.....	27
3.4.1. <i>Preparação dos extratos</i>	27
3.4.2. <i>Determinação do Poder Redutor</i>	27
3.4.3. <i>Determinação do efeito bloqueador dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)</i>	28
3.4.4. <i>Determinação do perfil fenólico</i>	28
3.5. DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS	29
3.5.1. <i>Contagem total de microrganismos</i>	30
3.5.2. <i>Bactérias Lácticas</i>	30
3.5.3. <i>Bolores e Leveduras</i>	30
3.5.4. <i>Coliformes totais e Escherichia coli</i>	30

3.5.5. <i>Clostrídios sulfito-redutores</i>	30
3.5.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	31
3.5.7. <i>Salmonella spp.</i>	31
3.6. AVALIAÇÃO SENSORIAL	32
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
CAPÍTULO 4.	
<i>RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	37
4.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AZEITONAS DE MESA	39
4.2. <i>Caracterização físico-química das pastas de azeitona</i>	40
4.2.2 <i>Acidez Total</i>	42
4.2.3 <i>pH</i>	43
4.2.4 <i>Cor</i>	44
4.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E PERFIL FENÓLICO DAS PASTAS DE AZEITONA	47
4.3.1 <i>Rendimento de extração</i>	47
4.3.2. <i>Poder-redutor</i>	47
4.3.3. <i>Efeito bloqueador dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)</i> 49	
4.3.4 <i>Identificação e quantificação de compostos fenólicos</i>	50
4.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS PASTAS DE AZEITONA	54
4.5 CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL DAS PASTAS DE AZEITONA	56
CAPÍTULO 5.	
<i>CONCLUSÃO</i>	67
<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes especiarias que podem ser utilizadas na elaboração de pastas de azeitona (A - Alho; B - Louro; C - Pimentão-doce; D - Piri-piri; E - Orégãos).....	15
Figura 2. Descrição geral do procedimento seguido na elaboração de pastas de azeitona.	24
Figura 3. Apresentação pastas antes de se proceder à sua homogeneização (A - Pasta de azeitona; B - Louro; C - Pimentão-Doce; D - Piri-piri; E - Azeite; F - Limão; G - Orégãos e H - Alho).....	25
Figura 4. Resultado positivo (imunobanda em forma de U) para a <i>Salmonella</i> da Biocontrol®.....	31
Figura 5. Prova de análise sensorial.	32
Figura 6. Provas organoléticas realizadas.	33
Figura 7. Folha de registo utilizada na avaliação organolética das pastas de azeitona.	34
Figura 8. Valores da acidez total, expressa em % de ácido láctico, determinados nas pastas de azeitona analisadas no presente trabalho.	42
Figura 9. Valores de pH das diferentes pastas de azeitona elaboradas no presente trabalho.	43
Figura 10. Cor das diferentes pastas de azeitona elaboradas: A - Limão; B - Louro; C - Piri-piri; D - Orégãos; E - Pasta (controlo); F - Azeite; G - Alho; H - Pimentão-Doce. .	45
Figura 11. Valores de absorvância a 700 nm determinados no ensaio do poder redutor das diferentes pastas de azeitona em função da concentração de extrato.....	48
Figura 12. Valores do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (%) obtidos para diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes pastas de azeitona.....	49
Figura 13. Perfil cromatográfico de uma pasta de azeitona, obtido por HPLC-DAD ..	50
Figura 14. Estruturas químicas dos compostos fenólicos identificados nas pastas de azeitona.....	51
Figura 15. Comparação entre os cromatogramas obtidos por HPLC-DAD de quatro pastas de azeitona (Preto - Limão; Verde - Louro; Azul - Azeite; Vermelho - Controlo).	54
Figura 16. Resultados obtidos para os parâmetros avaliados nas diferentes pastas pelos consumidores.....	64

Figura 17. Respostas dadas pelos consumidores à questão de comprarem ou não as pastas de azeitona elaboradas. 66

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Composição química da azeitona de mesa.	13
Quadro 2. Composição nutricional da azeitona de mesa	39
Quadro 3. Composição química (gramas por 100 g de peso fresco) e valor energético (kcal por 100g de peso fresco) de pastas de azeitona preparadas com diferentes especiarias e temperos (média ± desvio padrão).	41
Quadro 4. Valores médios dos parâmetros L, a, b e L*, a*, b* determinados nas diferentes pastas de azeitona.....	46
Quadro 5. Rendimentos de extração e valores de EC ₅₀ (mg/mL) determinados nos ensaios do poder redutor e do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH de extratos preparados a partir das pastas de azeitona.	47
Quadro 6. Perfil fenólico (mg/kg de peso fresco) das diferentes pastas de azeitona. ...	53
Quadro 7. Contagens de microrganismos presentes nas diferentes pastas de azeitona elaboradas (UFC/g).	55
Quadro 8. Classificação organolética das pastas de azeitona avaliadas no primeiro dia de prova (1º painel).....	57
Quadro 9. Classificações atribuídas pelos provadores de ambos os sexos às características avaliadas nas pastas de azeitona.	58
Quadro 10. Classificação organolética das pastas de azeitona avaliadas no segundo dia de prova (2º painel).....	60
Quadro 11. Avaliação geral das pastas para os dois dias de prova.	63

Resumo

Face às dificuldades que o setor da olivicultura atualmente enfrenta para escoar os produtos, é necessário encontrar alternativas para reduzir as perdas e ao mesmo tempo valorizar o produto em causa. Assim sendo, esta indústria precisa de estar constantemente a inovar de forma a dar resposta às necessidades dos produtores e satisfazer os desejos de um maior número de consumidores. Em Portugal, e concretamente em Trás-os-Montes, são produzidas azeitonas de mesa de excelente qualidade, havendo uma grande tradição na sua produção. As pastas de azeitona elaboradas a partir de azeitonas de mesa transmontanas podem ser uma forma de as valorizar. Neste sentido, com o presente trabalho pretendeu-se avaliar o efeito da adição de diferentes especiarias/temperos nas características físico-químicas, biológicas, microbiológica e sensoriais de pastas de azeitona. Para tal elaboraram-se pastas de azeitona com diferentes especiarias/temperos e procedeu-se à determinação dos parâmetros físico-químicos (humidade, gordura total, proteína total, cinzas e hidratos de carbono, valor energético, acidez total, pH e cor), controlo microbiológico, avaliação sensorial e atividade antioxidante das mesmas, através dos métodos do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH e Poder Redutor. Em paralelo fez-se a quantificação da fração fenólica por HPLC/DAD.

Na composição físico-química verificou-se que as pastas de azeitona apresentaram valores de humidade entre os 66,7 e 71,8%, teores em gordura entre os 13,5 e 21,0%, proteína entre os 2,4 e 3,8%, e hidratos de carbono entre os 5,6 e 7,6%, com um valor energético entre os 163,4 e 224,8 kcal/100g.

A acidez mais baixa foi observada nas pastas de azeitona controlo e a com adição de azeite, ambas com uma acidez de 0,25% de ácido láctico, apresentando as restantes valores superiores de acidez. Quanto ao pH observou-se o inverso da acidez, tendo as pastas de azeitona controlo e a com adição de azeite valores de pH mais elevados (3,80 e 3,95, respetivamente). Contudo, todos os valores foram inferiores a 4,0, indicando que as pastas de azeitona elaboradas são seguras sob o ponto de vista microbiológico. Em relação à cor, a pasta de azeitona controlo e a pasta de azeitona com adição de azeite apresentaram os mais baixos valores de luminosidade, sendo mais escuras.

Na avaliação da atividade antioxidante pelo método do poder redutor as amostras que mais se destacaram foram as pastas de azeitona com adição alho (EC_{50} igual a 1,18 mg/mL) e louro (EC_{50} igual a 1,24 mg/mL). Enquanto no método do efeito bloqueador dos radicais livres do DPPH, as pastas que apresentaram o maior efeito bloqueador foi a pasta de azeitona com adição de azeite (EC_{50} igual a 0,50 mg/mL) e a de controlo (EC_{50} igual a 0,57 mg/mL). Esta atividade estará seguramente relacionada coma fração fenólica onde foram identificados e quantificados sete compostos, designadamente hidroxitirosol glicol, hidroxitirosol, tirosol, ácido clorogénico, ácido sirínico, rutina e a luteolina. Os mais abundantes nas pastas da azeitona foram o hidroxitirosol, tirosol e a luteolina.

As diferentes pastas de azeitona revelaram qualidade microbiológica adequada, sendo consideradas seguras para o consumidor. Estes resultados refletem a boa qualidade da matéria-prima inicial e mostram que as condições de higiene durante o processamento das mesmas e o tratamento térmico aplicado foram os adequados.

Sensorialmente e em termos de apreciação global, as pastas de azeitona mais apreciadas pelos consumidores foram as com azeite, pimentão-doce e orégãos, ao contrário das com piri-piri e alho. No entanto, a pasta de azeitona com alho em relação ao sabor a fruto, sensação bucal e acidez foi a preferida. No que respeita à vontade de compra das pastas de azeitona, os consumidores manifestaram maior preferência pela pasta de azeitona com pimentão-doce, seguida pelas pastas de azeitona com orégãos, louro e azeite.

Palavras-Chave: pastas de azeitona; composição nutricional; atividade antioxidante; análise microbiológica; análise sensorial.

Abstract

Due to the difficulties that olive industry currently faces, alternative ways to reduce producer's losses and at the same time valorize the olive products, are needed. Therefore, one of the key principles of this industry must be innovation, either to respond to producers needs or consumers desires. In Portugal, and more specifically, in the Trás-os-Montes region, olives of excellent quality are produced, with a great tradition in the production of table olives. The production of olive paste using table olives from Trás-os-Montes may be a way to increase the values of such olives. In this way, the present study intended to evaluate the effect of adding different spices and seasonings in the physico-chemical, biological, microbiological and sensory characteristics of olive pastes. For that purpose, several olive pastes were prepared, using different spices and seasonings, and different parameters were evaluated. Thus, several physico-chemical parameters (moisture, total fat, total protein, ash and carbohydrates, energetic value, total acidity, pH and color) of different olive pastes were determined, as well as it was evaluated the microbiological, sensory and antioxidant activities, evaluating the scavenging effect on DPPH free radicals and reducing power assays. In parallel it was performed the quantification of the phenolic compounds by HPLC/DAD.

Regarding physico-chemical composition, it was found that the olive pastes presented humidity contents between 66.7 and 71.8%, fat contents between 13.5 and 21.0%, protein contents between 2.4 and 3.8%, and carbohydrates between 5.6 and 7.6%, with energetic values between 163.4 and 224.8 kcal/100g. After determining the acidity of the samples, the control olive paste and the one with olive oil were those that showed the lowest acidity values, both with an acidity of 0.25% lactic acid. The other olive pastes analyzed presented higher acidity values. In regarding to pH, it was observed an inverse behavior compared to acidity. The control olive paste and the one with olive oil presented the highest pH values (3.80 and 3.95, respectively). However, all values were less than 4.0, indicating that the olive pastes prepared are safe, from a microbiological point of view. Regarding color, the control olive paste and the one with olive oil were those that showed the lowest luminance values, thus presenting a darker color.

In determining the antioxidant activity by the reducing power method, the samples that stood out were the olive pastes garlic (EC₅₀ equal to 1.18 mg/mL) and laurel (EC₅₀ equal to 1.24 mg/mL). Regarding the scavenging effect on DPPH free radicals, the olive pastes that showed the highest blocking effect was the one with added olive oil (EC₅₀ equal to 0.50 mg/mL) and control (EC₅₀ equal to 0,57 mg/mL). this activity is probably related to the phenolic fraction identified and quantified, that include seven compounds, namely, hydroxytyrosol glycol, hydroxytyrosol, tyrosol, chlorogenic acid, syringic acid, rutin and luteolin. Among these compounds, those which were found in greater quantities were hydroxytyrosol, tyrosol and luteolin.

All olive pastes revealed appropriate microbiological quality, being therefore considered safe for the consumer. These results reflect the good quality of the raw material, and also show the adequacy of the hygienic conditions during the preparation of the pastes and the thermal treatment applied during processing. Regarding sensory analysis and in terms of overall assessment, the most appreciated olive pastes were those with olive oil, paprika and oregano, unlike those with chilli and garlic. However, in what concerns to fruit flavor, mouthfeel and sourness, the olive paste with garlic was the preferred. With regard to willingness to buy the olive pastes, the consumers expressed greater preference for those with paprika, followed by olive pastes with oregano, laurel and olive oil.

Keywords: olive pastes, nutritional composition, antioxidant activity, microbiological analysis, sensory analysis.



Capítulo 1

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Em Portugal, a olivicultura é uma atividade de grande importância económica e vasta tradição. Em 2010, a produção de azeitona foi de 217 341 toneladas (FAOSTAT, 2010), destinada quer à extração de azeite quer à preparação de azeitona de mesa. Para a última campanha, os dados provisórios apontam para uma produção de 72 mil toneladas de azeite e 11 mil toneladas de azeitona de mesa (COI, 2011).

Nos últimos anos a azeitona de mesa tem ganho importância. Assim, pode definir-se azeitona de mesa como o produto preparado a partir de frutos são de variedades da oliveira (*Olea europaea* L.), escolhidos de acordo com o seu volume, forma, firmeza, relação polpa/caroço, sabor e facilidade de desprendimento do caroço, que os tornam adequados para processamento, de modo a remover o seu amargor e a torná-los edíveis (COI/OT/NC nº1, 2004).

Existem vários tipos de preparações de azeitona de mesa, sendo as que envolvem fermentação natural das mais importantes. Em termos gerais, neste tipo de preparação os frutos são colhidos e transportados para uma unidade industrial, onde são escolhidos e calibrados. Posteriormente, as azeitonas são lavadas com água e colocadas em salmoura com uma concentração de sal de 6 a 10%, ou ligeiramente inferior (Nychas et al., 2002). De seguida ocorre uma fermentação conduzida predominantemente por leveduras (Nout & Rombouts, 2000). Trata-se de um processo lento devido à presença de oleuropeína e à lenta difusão dos açúcares e de outros compostos solúveis dos frutos para a salmoura.

De acordo com o estado de maturação do fruto, podem produzir-se azeitonas mistas ao natural quando existem frutos de diferentes estados de maturação desde o esverdeado até ao negro, ou azeitonas pretas ao natural quando as azeitonas são colhidas em estado de maturação avançado. No caso das azeitonas pretas ao natural, no fim do processo de fermentação estas são expostas ao ar para ocorrer uma melhoria da cor.

No nosso país a produção de azeitona de mesa tem uma grande tradição. As principais regiões produtoras de azeitona de mesa são Trás-os-Montes, Beira Interior, Ribatejo e Alentejo.

A qualidade das azeitonas de mesa produzidas no nosso país levou a que fossem criadas até ao momento duas Denominações de Origem Protegida (DOP), designadamente a “Azeitona de mesa Negrinha de Freixo” e a “Azeitona de Conserva de Elvas e Campo Maior”. A primeira das DOP referida tem por base a cultivar

“Negrinha de Freixo” e tem a sua produção delimitada às regiões de Vila Nova de Foz Côa, Freixo de Espada à Cinta, Torre de Moncorvo, Alfândega da Fé, Vila Flor, Mirandela e Macedo de Cavaleiros. Por sua vez, as Azeitonas de Conserva de Elvas e Campo Maior são processadas com azeitonas das cultivares Azeiteira, Carrasquenha, Redondil e Conserva de Elvas e a sua área de produção é delimitada aos concelhos de Elvas e Campo Maior (Regulamento (CEE) N°2081/92 do Conselho "Azeitonas de Conserva de Elvas e Campo Maior").

Contudo, apesar do reconhecimento da sua excelente qualidade, a DOP de “Azeitonas de mesa Negrinha de Freixo” nunca foi efetivada.

Em Trás-os-Montes, existem diferentes tipos de azeitonas de mesa, entre as quais as azeitonas verdes descaroçadas em pedaços, que na região são apelidadas de “alcaparras”, as únicas da região que se encontram caracterizadas (Sousa et al., 2006; 2008; 2011; Malheiro et al., 2011a; 2011b; 2012). Os trabalhos desenvolvidos tiveram como objetivo por um lado contribuir para a caracterização deste produto e estudo dos fatores que a afetam a sua composição e por outro contribuir para a sua valorização.

Na região Transmontana, as azeitonas de mesa são produzidas com recurso a diferentes cultivares, sendo que a *cv.* Negrinha de Freixo a mais importante. Contudo, nos últimos anos a utilização de frutos da *cv.* Cobrançosa tem ganho grande expressão. No entanto, as azeitonas processadas com outras cultivares que não a Negrinha de Freixo, ou em mistura, não podem ser classificadas como DOP “Azeitona de Mesa Negrinha de Freixo”, sendo um dos motivos porque não existem azeitonas com certificação de qualidade na região de Trás-os-Montes. A situação apontada é um dos motivos para que a DOP “Azeitona de Mesa Negrinha de Freixo” não se encontre implementada e se esteja a trabalhar na criação de uma nova DOP “Azeitonas de Mesa Transmontanas”.

Além dos aspetos mencionados, o setor da azeitona de mesa por vezes encontra dificuldades em escoar os frutos de baixo calibre, fisicamente danificados ou com defeito, sendo por isso fundamental encontrar alternativas para evitar ou minimizar perdas a nível económico. Assim sendo, a indústria alimentar precisa de inovar constantemente, a fim de escoar produtos ou matérias-primas que possuam algum defeito ou até que não sejam vendidos (Escudero-Gilete et al., 2009), devendo ser encontradas alternativas que adicionem uma mais-valia aos produtos obtidos. Assim, a inovação surge como resposta à deteção e satisfação de novas necessidades e desejos de

potenciais clientes, utilizando para tal as capacidades, recursos e competências das empresas (Grunert et al., 1997).

Neste sentido a criação de pastas de azeitona através de “Azeitonas de Mesa Transmontanas” contribuirá para a inovação, desenvolvimento e diversificação de produtos da região, acrescentando-lhes valor. Este tipo de produtos tem vindo a ganhar popularidade como produtos *Gourmet*.

As pastas de azeitona são uma boa alternativa de entre os produtos barráveis, os quais na maioria dos casos apresentam propriedades nutricionais muito mais desfavoráveis que as azeitonas, dos quais se destacam os elevados teores em colesterol presentes nas margarinas, cremes, manteigas, patês, entre outros, muito utilizados tanto para acompanhar as refeições ou serem consumidos como entradas (Schmidt-Hebbel et al., 1992).

Assim, os objetivos do presente trabalho foram:

- Elaborar pastas de azeitona com diferentes sabores através da adição de diferentes especiarias/temperos;
- Verificar o efeito da adição das diferentes especiarias/tempero na composição físico-química;
- Verificar o efeito da adição das diferentes especiarias/tempero nos compostos bioativos;
- Avaliar a segurança alimentar das pastas de azeitona elaboradas;
- Avaliar a aceitabilidade do produto por parte de um grupo de consumidores.

O trabalho encontra-se estruturado em quatro partes distintas, isto é, na próxima secção faz-se uma breve abordagem aos tipos de azeitona de mesa, à sua composição e atividade biológica, referindo-se também os trabalhos existentes acerca de pastas de azeitona (Capítulo 2). O terceiro capítulo é destinado ao material e métodos, sendo que no quarto capítulo são apresentados os resultados do presente trabalho, procedendo-se à sua discussão. Apresentam-se também, as conclusões (Capítulo 5) e apontam-se sugestões para a possível continuação do trabalho no futuro.



Capítulo 2

*Breve revisão
sobre o tema*

2. BREVE REVISÃO SOBRE O TEMA

2.1 Principais tipos de azeitonas de mesa

A produção de azeitona de mesa é uma prática antiga e com tradição um pouco por todo o mundo. Segundo a Norma Portuguesa NP-3034 (2012), entende-se por “Azeitonas de mesa” o produto preparado a partir de frutos de variedades apropriadas da espécie *Olea europaea* L., em estado de maturação conveniente, submetidos a tratamentos e operações que assegurem as suas características e boa conservação. Na escolha da matéria-prima para elaboração de azeitona de mesa devem ter-se em conta alguns fatores que poderão definir a qualidade final do produto, tais como a escolha das cultivares, o volume e forma do fruto, a boa proporção de polpa em relação ao caroço, e as características da polpa, nomeadamente sabor, firmeza e facilidade de separação do caroço. Deve ainda ter-se em consideração a utilização de frutos não tratados com substâncias químicas, como o caso de pesticidas ou outros resíduos, que possam por em causa a saúde humana.

Contrariamente à maioria dos outros frutos, as azeitonas necessitam de sofrer uma série de alterações físico-químicas até estarem em condições de serem consumidas. Nesse sentido, são submetidas a vários processos para remoção de amargura dos frutos por hidrólise dos compostos fenólicos, especialmente da oleuropeína (Fernandez-Diez, 1983; Gómez et al., 2006) e assim tornar edíveis as azeitonas de mesa.

Atualmente podem encontrar-se no mercado vários tipos de azeitonas de mesa que se distinguem pela sua cor, forma de apresentação, tipo de preparação entre outros fatores. Segundo o *Codex Alimentarius* (2010) e o Conselho Oleícola Internacional (COI, 2004), podem considerar-se três tipos de azeitona de mesa, consoante o grau de maturação dos frutos:

Azeitonas verdes: Frutos colhidos durante o período de amadurecimento (no início do Outono) e que tenham atingido o tamanho normal. A cor do fruto pode variar de verde a amarelo-palha.

Azeitonas mistas: Frutos colhidos antes de atingirem a completa maturação, no Inverno, com uma cor variável entre tons rosados e acastanhados.

Azeitonas pretas: Frutos colhidos em plena maturação ou ligeiramente antes. A cor do fruto pode variar de negro-avermelhado a castanho-escuro, passando por tons violáceos, atendendo à zona de produção e época de colheita.

Para além da cor do produto final, as azeitonas podem ainda ser classificadas de acordo com o método de preparação. De entre as diferentes formas de preparação de azeitona de mesa, provavelmente as de maior importância são o estilo espanhol, seguido do estilo californiano e, por fim, o estilo por fermentação natural, também conhecido como estilo grego (Fernández Díez et al., 1985; Garrido-Fernández et al., 1997; Gómez et al., 2006). O estilo utilizado para produção de azeitona de mesa varia muito de acordo com a região. Na região de Trás-os-Montes o que predomina é por fermentação natural. De seguida, aborda-se de forma resumida estes tipos de preparação.

2.1.1 Fermentação natural

Para este tipo de preparação, os frutos normalmente podem ser colhidos em diversos estados de maturação, nomeadamente verde, amarelo palha e/ou maduros, mas não em demasia, uma vez que as azeitonas colhidas no final da campanha, apesar de apresentarem uma excelente coloração, adquirem uma textura não suficientemente firme após processamento (Gómez et al., 2006). Em termos gerais, os frutos são transportados para a unidade industrial, onde são escolhidos, calibrados e posteriormente lavados com água para remover a sujidade superficial (Fernández et al., 1997). Depois de lavados são colocados em salmoura com uma concentração de sal de 6 a 10% (Nychas et al., 2002; Gómez et al., 2006). De seguida, ocorre uma fermentação, onde diversos microrganismos desempenham um papel importante (Bautista-Gallego et al., 2011). Diversos grupos de microrganismos estão envolvidos na fermentação da azeitona, determinando a qualidade e sabor do produto final, sendo as *Enterobacteriaceae*, as bactérias lácticas e leveduras as mais relevantes (Garrido-Fernandez et al., 1997). A fermentação é um processo muito lento devido à presença de oleuropeína, açúcares e outros compostos solúveis. As leveduras no processo de fermentação assumem um papel muito importante porque estão associadas à produção de álcoois, acetato de etilo, acetaldeído e ácidos orgânicos, compostos que são relevantes para o desenvolvimento de sabor e aroma e para as características de preservação das azeitonas de mesa (Hernández et al., 2007; Arroyo-López et al., 2008).

Após estas etapas as azeitonas são classificadas e embaladas em nova salmoura (Fernández et al., 1997).

2.1.2 Estilo Espanhol ou Sevilhano

Neste processo a preparação é feita a partir de azeitonas verdes ou verde-amareladas. Quando os frutos chegam à unidade industrial, são escolhidos e calibrados, sendo depois submetidos a um tratamento anaeróbio com uma solução de 2 a 5% de hidróxido de sódio para remover quimicamente o amargor e a adstringência da azeitona. A concentração adequada de hidróxido de sódio a usar depende de vários fatores, tais como: temperatura, cultivar e grau de maturação dos frutos aquando do momento da colheita (Fernández et al., 1997).

As azeitonas são posteriormente lavadas várias vezes com água, por períodos de tempo variáveis, para remover o excesso de hidróxido de sódio presente (De Castro & Brenes, 2001). Após lavagem, as azeitonas são colocadas em salmouras com uma concentração de NaCl de aproximadamente 10%, onde se inicia uma fermentação láctica (Gómez et al., 2006). A duração da fermentação depende essencialmente das características do tratamento alcalino prévio, da cultivar, da temperatura e da população microbiana existente no meio. Este tipo de azeitonas tem diversas apresentações comerciais, desde inteiras, descaroadas e recheadas com diversos ingredientes.

A azeitona verde é um produto típico da bacia do Mediterrâneo, sendo o seu teor lipídico muito elogiado e caracterizado pelo predomínio de ácidos gordos insaturados (principalmente o ácido oleico), contribuindo para considerar as azeitonas de mesa como sendo um produto muito saudável (Escudero-Gilete et al., 2009).

2.1.3 Estilo Californiano ou Americano

O método californiano é um tratamento que inclui várias etapas (Marsilio et al., 2001). Para este tipo de processamento o momento ótimo de colheita é mais lato, podendo incluir todos os frutos obtidos após a colheita das azeitonas destinadas ao processamento sevilhano e antes da colheita dos frutos destinados ao processo por fermentação natural (Fernández et al., 1997), desde que possuam uma polpa rija.

Durante três dias consecutivos as azeitonas sofrem tratamentos com soluções de hidróxido de sódio de forma a penetrarem a pele e polpa até que se atinja o caroço

(Fernández et al., 1985). Durante os intervalos, entre os tratamentos de NaOH, as azeitonas são imersas em água através da qual é borbulhado ar (Brenes et al., 1992; Garcia et al., 1992). As concentrações de NaOH podem variar de acordo com a maturação dos frutos, a cultivar, a temperatura do tratamento, e da penetração e velocidade desejada (Fernández et al., 1997; Gómez et al., 2006). As azeitonas escurecem progressivamente com o passar dos tratamentos, tanto a polpa como a superfície, até ao último em que já se obtém a cor pretendida. Após o último tratamento, as azeitonas sofrem sucessivas lavagens para remover o excesso de NaOH e baixar o pH da polpa para valores próximos de 8 (Fernández et al., 1985). Em seguida são adicionados sais de ferro (gluconato ferroso e de lactato ferroso) para melhorar o desenvolvimento da cor e evitar a descoloração (Garcia et al., 1986; Brenes et al., 1995). Os sais ferrosos são adicionados à última água de lavagem numa concentração de 100 ppm em ião ferro. A difusão do ferro na polpa estará completa após 10 horas de contacto, mas a etapa é prolongada e concluída após 24 horas (Garcia et al., 2001). A partir deste ponto as azeitonas são calibradas e embaladas em diferentes recipientes e colocadas em salmoura com cerca de 2 a 4% de NaCl e entre 10 a 40 ppm de ferro de forma a prevenir a deterioração da cor (Garrido et al., 1995). Também podem ser adicionados sais de cálcio, de modo a melhorar a firmeza dos frutos (García et al., 1994; Romero et al., 2004). Uma vez que o produto final apresenta uma acidez baixa, a preservação deste tipo de azeitonas de mesa pode passar pela adição de ácido, como o ácido láctico ou ácido glucónico e pela aplicação de um processamento térmico, tais como a pasteurização (Gómez et al., 2006).

2.1.4 Outros tipos de preparações

A Norma Portuguesa - NP 3034 (2012) apenas classifica três tipos de azeitonas de mesa com ou sem tratamento alcalino. Contudo, existem outros métodos que podem ser utilizados na produção de azeitonas de mesa. A grande maioria destes processos alternativos pode ser considerada de importância regional ou local, sendo muitos deles processos de fabrico artesanal, doméstico e tradicional.

Em relação às azeitonas de pequeno calibre e azeitonas com defeito, estas podem ser submetidas a processos que favoreçam a sua preservação. Estas azeitonas devem ser tratadas da mesma forma da referida anteriormente para produzir azeitonas de mesa

curadas, mas posteriormente serão usadas para outros fins, como é o caso da produção de pasta de azeitona.

2.2 Composição química

As azeitonas de mesa são um componente importante da dieta mediterrânea (Anniva & Tsimidou, 2009). A sua qualidade é resultado de um grande número de fatores que influenciam, de um modo geral, a composição química e as propriedades físicas das azeitonas. Esses fatores, como as condições climáticas, as cultivares utilizadas e o estado de maturação no momento da colheita (Conde et al., 2008), vão determinar a composição final da azeitona e contribuem para a qualidade do produto final. O processamento da azeitona de mesa é outro fator que determina a qualidade do produto, sobretudo no que diz respeito ao tratamento alcalino e à fermentação, os quais provocam alterações físico-químicas no fruto, afetando os seus constituintes lipídicos, fenóis, açúcares e sais (Sousa et al., 2011), provocando também o aumento dos teores de água e sal, resultado da penetração do NaCl no fruto, bem como, uma redução no teor em hidratos de carbono. Em termos químicos as azeitonas de mesa são constituídas de acordo com o descrito no Quadro 1.

Quadro 1. Composição química da azeitona de mesa.

Composição química	Teores	Referências Bibliográficas
Humidade (%)	60 a 75	1; 3; 4; 5; 6; 7
Gordura (%)	12 a 20	5; 6
Cinzas (%)	1 a 4	6;
Proteína (%)	2 a 3,5	2; 5
Hidratos de Carbono (%)	3 a 5	5; 6;
Valor Energético (Kcal/100g)	150 a 205	4; 5; 6;

1- Cardoso et al., 2010; 2- Conde et al., 2008; 3- Fernández et al., 1997; 4- Sousa et al., 2011; 5- Nogueira, 2012; 6- Malheiro et al., 2012; 7- Romeo et al., 2012;

Estes são apenas alguns dos principais constituintes da azeitona de mesa, existindo outros, tais como ácidos gordos, compostos fenólicos e açúcares que também têm um papel importante. A qualidade do produto final depende, assim, da presença de

todos estes compostos e das mudanças que podem ocorrer durante a preparação e armazenagem.

2.3 Atividade Biológica

As azeitonas de mesa apresentam na sua composição compostos biológicos de grande importância, como é o caso dos compostos fenólicos e dos tocoferóis, responsáveis por importantes características e propriedades, como cor, sabor, textura (Marsilio et al., 2001), propriedades antioxidantes (Sousa et al., 2006; Ben Othman et al., 2009) e atividade antimicrobiana (Sousa et al., 2006). Os benefícios do consumo de azeitona de mesa estão associados à sua gordura monoinsaturada e aos compostos fenólicos (Simopoulos, 2001). A fração fenólica das azeitonas de mesa é muito complexa, podendo variar, tanto na qualidade como na quantidade de compostos fenólicos (Uccella, 2001).

De entre os compostos fenólicos presentes em grande quantidade nas azeitonas de mesa refira-se o tirosol, hidroxitirosol e o ácido oleanólico. A concentração destes compostos varia de acordo com o grau de maturação e o método de tratamento (Blekas et al., 2002; Romero et al., 2002; Owen et al., 2003; Romero et al., 2004a).

As azeitonas processadas por fermentação natural apresentam um maior conteúdo em compostos fenólicos e uma maior capacidade antioxidante em relação a azeitonas submetidas a outros métodos (Pereira et al., 2006). Pelo contrário as azeitonas pretas oxidadas (estilo Californiano) são as que apresentaram menor teor em compostos fenólicos e menor capacidade antioxidante (Pereira et al., 2006). Já as azeitonas processadas segundo o estilo sevilhano apresentaram valores intermédios de compostos fenólicos e de atividade antioxidante, em comparação com os dois outros estilos.

2.4 Pastas de Azeitona

A pasta de azeitona é uma pasta moída 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.

De acordo com o Conselho Oleícola Internacional (1980) as pastas de azeitona têm por base a polpa de azeitona de mesa moída, onde pode ocorrer a incorporação de

ingredientes e aditivos para a sua valorização e conservação. Alguns dos ingredientes incluem especiarias, como por exemplo, alho, louro, pimentão-doce, piri-piri e orégãos (Figura 1), e temperos, como o azeite e o sumo de limão.

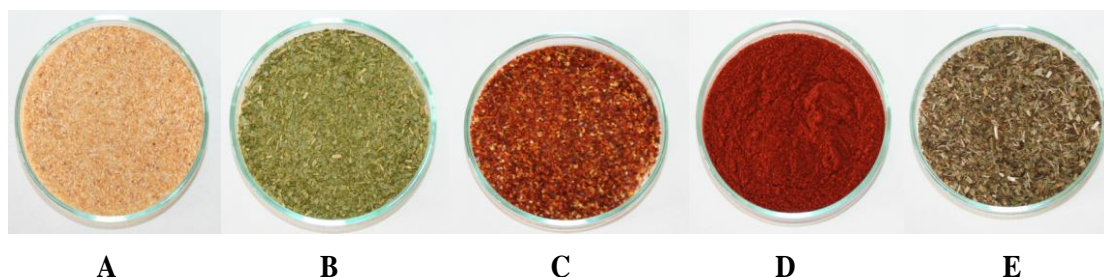


Figura 1. Diferentes especiarias que podem ser utilizadas na elaboração de pastas de azeitona (**A** - Alho; **B** - Louro; **C** - Pimentão-doce; **D** - Piri-piri; **E** - Orégãos).

Os temperos e especiarias poderão influenciar a composição e a qualidade das diferentes pastas de azeitona devido às suas propriedades. Em relação a esses fatores, refiram-se os seguintes:

Azeite Virgem, conhecido pela sua atividade biológica benéfica para a saúde humana, resultado da presença de compostos fenólicos (Owen et al., 2000; Visioli & Galli, 2001; Menéndez et al., 2007). Pode adicionar-se azeite para lubrificar a polpa e evitar a presença de bolsas de ar entre as finas partículas, evitando assim que esta oxide. A adição de azeite tem como fim reforçar o sabor, tornando-o menos amargo e azedo.

Limão (*Citrus limon* L.) possui importantes componentes químicos naturais, incluindo o ácido cítrico, ácido ascórbico, minerais, flavonóides e óleos essenciais (Vaio et al., 2010), ajudando na prevenção de doenças (Van Gils et al., 2005).

Alho (*Allium sativum* L.) possui atividade biológica (Queiroz et al., 2009), nomeadamente atividades antibacteriana (Hughes et al., 1991; Fujisawa et al., 2008; Tajkarimi et al., 2010), antioxidante (Aguirrezábal et al., 2000; Borek, 2001; Bozin et al., 2008; Janoszka, 2010) e anti trombótica. Apresenta imunomoduladores, ação anti-diabética e reduz o risco de ocorrência de doenças cardíacas e de cancro (Thomson et al., 2006; Ngo et al., 2007; Omar & Al-Wabel, 2010).

Louro (*Laurus nobilis* L.) é muito utilizado para fins medicinais, tais como asma (Loi et al., 2004), doenças cardíacas (Dall'Acqua et al., 2006), transtorno digestivo, diarreia e dores reumáticas (Bruni et al., 1997). É uma grande fonte de compostos fenólicos, demonstrando uma boa atividade antioxidante (Rice-Evans et al., 1996; Zheng & Wang, 2001).

Orégãos (*Origanum vulgare* L.) possuem compostos com propriedades antimicrobianas e antifúngicas (Elgayyar et al., 2001; Sokovic et al., 2002), bem como atividade antioxidante (Puertas-Mejia et al., 2002), e, portanto, podem ser usados como um conservante natural em alimentos (Puertas-Mejia et al., 2002) e na indústria farmacêutica. Os orégãos, devido aos seus vários efeitos biológicos, podem ser utilizados como antiespasmódicos, e no tratamento de várias doenças, incluindo distúrbios digestivos e problemas menstruais, bem como no tratamento de infecções respiratórias e da pele (Vale-Silva et al., 2012).

Pimentão-Doce (*Capsicum annuum* L.) muito apreciado pelo seu sabor e cor (Krajayklang et al., 2000). Contém compostos fenólicos (flavonóides) (Bae et al., 2012), carotenóides (Ha et al., 2007), vitamina C, vitamina E (Garcia-Closas et al., 2004) e alcalóides (Srinivas et al., 2009), que desempenham um papel importante na saúde humana. O pimentão-doce possui atividade antioxidante e atua contra certos tipos de cancro, estimula o sistema imunológico, previne a ocorrência de doenças cardiovasculares e retarda o processo de envelhecimento, entre outras atividades biológicas (Podsedeck, 2007; Chuah et al., 2008).

Piripiri (*Capsicum frutescens* L.) é uma fonte de antioxidantes (Lee et al., 1995; Matsufuji et al., 1998; Howard et al., 2000), incluindo flavonóides, ácido fenólico, carotenóides e vitaminas (Osuna-Garcia et al., 1998; Howard et al., 2000). São avaliados pelos seus atributos sensoriais de cor, pungência e aroma.

Atualmente existem vários estudos que visam a adição de antioxidantes a determinados alimentos para melhorar a sua estabilidade oxidativa e aumentar assim o seu tempo de prateleira. Existem dois tipos de antioxidantes que se podem adicionar aos alimentos: os de natureza sintética e os naturais. A utilização de antioxidantes serve para

minimizar os danos provocados pelos radicais livres, de forma a aumentar o tempo de prateleira dos produtos e minimizar a sua oxidação. Mas o uso de antioxidantes sintéticos não tem sido visto como o melhor método, uma vez que podem causar efeitos secundários indesejáveis (Lim et al., 2011) e devido à sua possível ação como promotores da carcinogénese (Namiki, 1990; Pokorny, 1991). Sendo assim, começa a existir cada vez mais uma tendência entre os consumidores para o uso de “ingredientes naturais” (Cornwell et al., 1998; Lim et al., 2011), existindo uma maior procura por antioxidantes naturais e seguros (Moure et al., 2001, Oktay et al., 2003; Kamkar et al., 2010), principalmente pelos de origem vegetal (Skerget et al., 2005; Özcan & Arslan, 2011).

2.5 Aspectos a considerar no desenvolvimento de Pastas de Azeitona

Na elaboração e desenvolvimento de pastas de azeitona muitos aspetos devem ser tidos em conta de forma a se obter um produto agradável para o consumidor. Desse modo, na criação deste produto é muito importante atender às necessidades do mercado.

A análise sensorial é um método muito utilizado para melhor compreender as características sensoriais dos alimentos e para se conhecer a aceitabilidade e as preferências dos consumidores (Abdullah & Cheng, 2001). Além disso, a análise sensorial serve para relacionar medidas sensoriais com instrumentais. É um método muito utilizado na reformulação, otimização e desenvolvimento de novos produtos e na aplicação de novas tecnologias.

No que diz respeito às questões legais, é crucial considerar a qualidade e segurança dos alimentos, bem como a sua avaliação nutricional, sensorial e comercial, entre outros aspetos (Moskowitz et al., 2005).

Hoje em dia a opinião crítica do consumidor é que decide a melhor forma de criar e desenvolver um produto (Muñoz et al., 1992; Yantis, 1992; Moldão-Martins et al., 2004), prestando as empresas muita atenção à avaliação dos atributos sensoriais dos alimentos por elas produzidos. Desse modo, a cor, sabor, textura e aparência (Coleman, 1990; Lawless & Michelle, 1993; Pecore & Kellen, 2002; González et al., 2007) assumem um papel muito importante na aceitabilidade dos produtos.



Capítulo 3

Material e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matérias-primas utilizadas e sua caracterização

No mercado local de Bragança, foram adquiridos 10 Kg de azeitona de mesa comercial proveniente da região de Trás-os-Montes. Apesar de não ter sido possível apurar a fonte das azeitonas, as características visuais e organoléticas, estavam perfeitamente enquadradas nas azeitonas de mesa que se pretende que venham a ser classificadas de “Azeitonas de mesa Transmontanas”. Foram também adquiridas especiarias desidratadas, tais como, louro, alho, orégãos, pimentão-doce e piri-piri. Em simultâneo, adquiriu-se limão e azeite virgem extra com Denominação de Origem Protegida “Azeite de Trás-os-Montes”.

Antes de iniciar a preparação das pastas de azeitona pretendeu-se caracterizar a matéria-prima utilizada de modo a se determinar os seguintes parâmetros:

3.1.1. Relação polpa/caroço

Escolheram-se ao acaso 100 azeitonas com tamanho médio para fazer a relação da polpa com o caroço. Procedeu-se à pesagem individual de cada fruto, retirando-se o caroço e pesando este após ter sido removida toda a polpa aderente. Por diferença de peso do fruto e do caroço foi obtida a quantidade de polpa de cada fruto.

3.1.2. Teor de humidade

O teor de humidade foi determinado por perda de peso, utilizando aproximadamente 5g de amostra teste. Esta foi colocada na estufa para secagem a 100 ± 2 °C até peso constante, seguindo o método AOAC 925.40 (1995). Foram realizadas duas repetições por amostra. O teor de humidade foi expresso em percentagem e calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ teor de humidade} = \frac{P_f - P_s}{\text{Toma de amostra}} \times 100$$

Sendo:

P_f = Peso do cadinho com amostra fresca

P_s = Peso final do cadinho com amostra seca

3.1.3. Teor de cinzas

A determinação do teor de cinzas foi efetuada mediante incineração em mufla a 550±15 °C até peso constante, segundo o método AOAC 940.26 (2000). A determinação foi efetuada em duplicado. O teor de cinzas foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ teor de Cinzas} = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Toma de amostra}} \times 100$$

Sendo:

Pf= Peso final do cadinho com cinzas

Pi= Peso do cadinho

3.1.4. Teor de proteína

O teor de proteína bruta foi determinado pelo método Kjeldahl de acordo com o procedimento AOAC 920.152 (2000). De forma resumida, pesou-se 1 g de amostra para um tubo de Kjeldahl, adicionou-se uma pastilha de catalisador (Kjetabs Cx com a composição de 5 g de sulfato de potássio e 0,5 g de sulfato de cobre (II)) e adicionaram-se 15 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Os tubos foram colocados a digerir num bloco digestor a uma temperatura de 400±50 °C. Após digestão completa das amostras, deixou-se arrefecer as mesmas e colocaram-se os tubos no analisador de Kjeldahl (Velp Scientifica UDK 152), onde foi feita a destilação da amónia, a sua recolha num excesso de ácido bórico e titulação do ião dihidrogenoborato com ácido clorídrico, usando-se o fator de conversão de 6,25, obtendo-se assim os valores percentuais de proteína bruta. Os valores obtidos foram expressos em percentagem de proteína bruta.

3.1.5. Gordura total

O teor de gordura total foi determinado em duplicado num aparelho de Soxhlet de acordo com o método AOAC 948.22, usando como solvente éter de petróleo com um tempo mínimo de extração de 24 horas (AOAC, 2000). O solvente foi posteriormente

retirado num evaporador rotativo e por evaporação em estufa a 100 ± 2 °C, até peso constante.

A gordura extraída foi congelada a -20 °C para posteriormente se determinar o perfil de ácidos gordos. O teor de gordura foi expresso em percentagem de gordura fresca utilizando a seguinte equação:

$$\% \text{ teor de gordura} = \frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Toma de amostra}} \times 100$$

Sendo:

Pf= Peso final do balão com gordura

Pi= Peso inicial do balão

3.1.6. Hidratos de Carbono

Após a determinação do teor em humidade, cinzas, proteína e gordura fez-se o cálculo do teor de hidratos de carbono através da seguinte equação:

$$\% \text{Hidratos de Carbono} = 100 - \% \text{Humidade} - \% \text{Cinzas} - \% \text{Proteína} - \% \text{Gordura}$$

3.1.7. Determinação do Valor Energético

Após a determinação do teor em proteína, gordura e hidratos de carbono fez-se o cálculo do valor energético expresso em kcal/100 g através da seguinte equação:

$$\text{Valor Energético} = 4 \times (\% \text{Hidratos de carbono} + \% \text{Proteína}) + 9 \times (\% \text{Gordura})$$

3.2. Preparação das Pastas de Azeitona

A elaboração das pastas de azeitona foi feita da seguinte forma: em primeiro lugar lavaram-se as azeitonas, que posteriormente foram descaroçadas e trituradas até consistência homogénea. De seguida, a polpa de azeitona foi introduzida em frascos de vidro de 100g de capacidade. A pasta foi pesada, 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) (Figura2).

É de salientar que se fizeram preparações só com pasta de azeitona, uma pasta de azeitona só confeccionada com pasta e sumo de limão, e uma pasta de azeitona só com pasta e azeite. Estes controlos foram feitos para se verificar as diferentes alterações que pudessem ocorrer com a adição dos diversos ingredientes. Após terem sido adicionados todos os ingredientes, procedeu-se à mistura da amostra, taparam-se os boiões e colocaram-se os mesmos a pasteurizar durante 10 minutos numa panela com água a ferver. O procedimento experimental seguido encontra-se descrito na Figura 2.



Figura 2. Descrição geral do procedimento seguido na elaboração de pastas de azeitona.

A Figura 3 mostra o aspeto das diferentes pastas de azeitona antes de serem homogeneizadas. Cada boião corresponde à adição de uma especiaria, algumas delas ainda bem visíveis no topo do frasco de vidro.

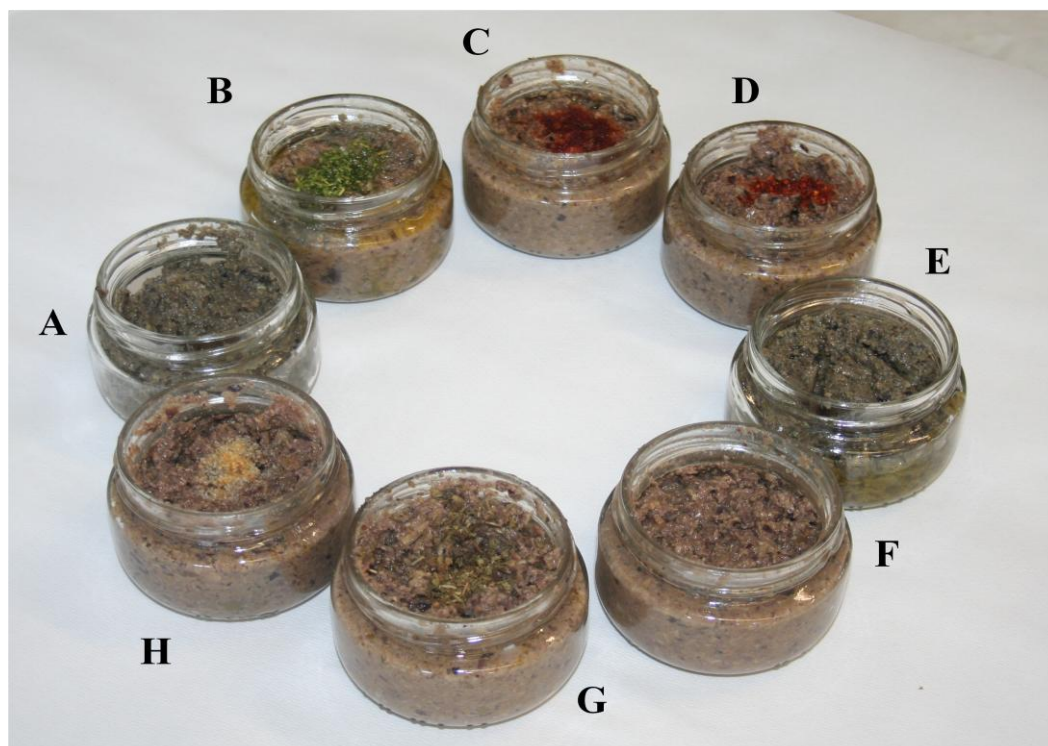


Figura 3. Apresentação pastas antes de se proceder à sua homogeneização (A - Pasta de azeitona; B - Louro; C - Pimentão-Doce; D - Piri-piri; E - Azeite; F - Limão; G - Orégãos e H - Alho).

3.3. Parâmetros de qualidade avaliados nas pastas de azeitona

Neste trabalho foram feitas algumas determinações físico-químicas para verificar se os resultados esperados estavam de acordo com os objetivos estabelecidos.

Na composição físico-química das pastas de azeitona elaboradas avaliaram-se os teores em humidade, cinzas, proteína, gordura total, hidratos de carbono e valor energético de acordo com os procedimentos descritos nas secções 3.1.2 a 3.1.7, anteriormente apresentadas. Além dessas propriedades, também se determinaram a acidez total, pH e cor das pastas de azeitona, passando-se de seguida à descrição das metodologias utilizadas.

3.3.1 Acidez total

Esta determinação foi realizada em triplicado segundo as indicações da norma portuguesa NP-1421 (1977), tendo sido feitas algumas alterações. Resumidamente, para um Erlenmeyer pesaram-se 10 g de pasta de azeitona e adicionaram-se 50 mL de uma solução de álcool:éter (1:1). Agitou-se durante 30 minutos à temperatura ambiente, filtrou-se a amostra para um balão de 50 mL, perfazendo-se o volume com a solução de álcool:éter (1:1). Em seguida, mediram-se 10 mL dessa solução e titulou-se com hidróxido de sódio a 0,1 M, usando fenolftaleína como indicador.

A acidez foi expressa em percentagem de ácido láctico e foi determinada utilizando-se a seguinte equação:

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{0,1 \times \text{volume de NaOH} \times \text{MM ácido láctico} \times 5}{\text{massa de amostra}} \times 100$$

Sendo:

MM (ácido láctico) = 90,08 g/mol

3.3.2 pH

A determinação do pH foi efetuada em triplicado por potenciometria, tendo sido a calibração do equipamento realizada com soluções tampão comerciais de pH=7,01 e pH=4,01 à temperatura ambiente. Foi utilizado o potenciómetro com eléctrodo de penetração da marca Hanna HI 99163.

3.3.3 Determinação da cor

Para a determinação da cor foi utilizado o colorímetro Minolta CR-400. O resultado foi expresso nos modos CIELAB e Hunter que são um dos sistemas de cor mais utilizados para a avaliação deste parâmetro em alimentos, tendo sido avaliadas as coordenadas L*, a* e b* (CIELAB) e L, a e b (Hunter).

O L* ou L corresponde à luminosidade, o a* ou a ao conteúdo de vermelho a verde, e o b* e b ao conteúdo de amarelo a azul.

Para determinar a cor nas pastas de azeitona utilizou-se o acessório específico para amostras líquidas, tendo-se mergulhado o adaptador na amostra para assim

determinar a sua cor. Previamente calibrou-se o aparelho através de um padrão branco de referência.

3.4. Atividade Antioxidante e Perfil Fenólico

A atividade antioxidante das amostras, foi analisada por diferentes métodos químicos: avaliação do poder redutor, avaliação do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e determinação do perfil fenólico por análise HPLC/DAD.

3.4.1. Preparação dos extratos

Para a determinação da atividade antioxidante, extratos das amostras foram preparados a partir de boiões de pasta liofilizados, pesando-se cerca de 5,0 g de pó de cada amostra, numa balança eletrônica modelo Acculab ALC-210.4. Esta amostra foi misturada com 250 mL de água destilada, levada à ebulição numa placa de aquecimento durante 45 minutos e filtrada através de papel de filtro Whatman N°. 4. Após terem arrefecido, os extratos aquosos foram congelados, liofilizados e dissolvidos em água destilada para se obter uma concentração de 50 mg/mL. A partir da concentração obtida, prepararam-se diferentes concentrações variando entre 0,01 e 5 mg/mL.

Na determinação do perfil fenólico, 1,5 g de amostra foi extraída com 50 mL de metanol durante 1 hora. O extrato foi filtrado através de papel de filtro Whatman N°. 4, repetindo-se este procedimento mais duas vezes. Os extratos combinados foram evaporados a 35 °C num evaporador rotativo (Stuart RE 3000). O resíduo foi redissolvido em 2 mL de metanol.

3.4.2. Determinação do Poder Redutor

O poder redutor foi determinado de acordo com o procedimento descrito por Berker et al. (2007). A solução de extrato (1 mL) foi misturada com 2,5 mL de tampão de fosfato de sódio 200 mmol/L (pH 6,6) e 2,5 mL ferricianeto de potássio a 1%. A mistura foi incubada a 50 °C durante 20 minutos. Após arrefecimento, foram adicionados 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (m/v) e a mistura foi centrifugada a 1000 rpm (Centorion K24OR-2003) durante 8 minutos. Retiraram-se 2,5 mL de

sobrenadante que foram misturados com 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de 0,1% de cloreto de ferro (III). A absorvância foi medida no espectrofotômetro de ultravioleta e visível (Genesys™ 10 UV) a 700 nm. Absorvâncias maiores indicam um maior poder redutor. Também se determinaram a partir do gráfico das absorvâncias a 700 nm *versus* a concentração de extrato utilizada, as concentrações que originaram uma absorvância igual a 0,5 correspondente ao valor do EC50.

3.4.3. Determinação do efeito bloqueador dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

A capacidade para bloquear os radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) foi estudada de acordo com o método descrito por Hatano *et al.* (1988). Desse modo, 0,3 mL de várias concentrações de extrato de cada amostra foram misturados com 2,7 mL de uma solução metanólica contendo radicais de DPPH (6×10^{-5} mol/L) (Alfa Aesar). A mistura foi agitada vigorosamente e colocada a repousar no escuro à temperatura ambiente durante 60 minutos, até se obterem valores estáveis de absorvância.

A redução do radical de DPPH foi medida através da leitura da absorvância a 517 nm. O efeito bloqueador do DPPH foi calculado como uma percentagem da descoloração do DPPH, usando-se a seguinte equação:

$$\% \text{ Efeito bloqueador} = [(A_{\text{DPPH}} - A_A) / A_{\text{DPPH}}] \times 100$$

em que A_A é a absorvância da solução com extrato da amostra e A_{DPPH} é a absorvância da solução de DPPH. A concentração de extrato a que corresponde 50% de inibição (EC_{50}) foi calculada a partir da representação gráfica da percentagem do efeito bloqueador em função da concentração de extrato.

3.4.4. Determinação do perfil fenólico

O perfil fenólico foi determinado por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), num módulo de separação Knauer Smartline, equipado com um amostrador automático SmartLine Knauer 3800, com um sistema de arrefecimento ajustado a 4 °C e

acoplado a um detetor DAD (Knauer). A aquisição de dados e de controlo remoto do sistema de HPLC foi realizada através do software ClarityChrom[®].

Para se proceder à separação dos compostos foi usada uma coluna C18 Spherisorb (250 mm × 4 mm id, 5 µm) (Nucleosil Macherey-Nagel), em fase reversa, mantida a 30 °C. Utilizou-se uma eluição em gradiente, tendo os solventes água/ácido fórmico (19:1) (A) e metanol (B) sido utilizados. Estas soluções foram previamente filtradas e desgaseificadas. O fluxo foi de 0,9 mL/min, com o seguinte gradiente: 5% B a 0 min, 15% B em 3 min, 25% B a 13 min, 30% B a 25 min, 35% B a 35 min, 40% B a 39 min, 45% B a 42 min, 45% B a 45 min, 47% B a 50 min, 48% B a 60 min, 50% B a 64 min e 100% B a 66 min. Todas as amostras foram filtradas através de um filtro de membrana de Nylon 0,2 µm (Whatman). Foram injetados 20 µL de cada solução e os dados cromatográficos foram registados a 280 nm. Dados espectrais de todos os picos foram acumulados na gama dos 200-400 nm. Os compostos fenólicos foram identificados por comparação dos tempos de retenção e espectros dos picos cromatográficos com os de padrões analisados sob as mesmas condições. A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada através da absorvância registada nos cromatogramas e de retas de calibração preparadas a partir de padrões externos.

3.5. Determinações Microbiológicas

Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica das pastas de azeitona foram avaliados os seguintes microrganismos: microrganismos totais, bactérias lácticas, bolores e leveduras, coliformes totais e *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, Clostrídios sulfito-redutores e *Salmonella* spp.

Para isso, 25 g de pasta foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada, obtendo-se assim a suspensão mãe. A partir desta, realizaram-se uma série de diluições decimais sucessivas em 9 mL da mesma solução. Após esta fase, procedeu-se à inoculação em meios de cultura apropriados para cada microrganismo pesquisado.

Todas as amostras foram analisadas em duplicado e os resultados expressos em unidades formadoras de colónias por grama de amostra (UFC/g).

3.5.1. Contagem total de microrganismos

Placas de Petri com meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) foram inoculadas com 1 mL de cada uma das diluições, utilizando o método de contagem em placa, de acordo com a norma ISO 4833:2003. Após incubação durante 48 horas a 35 °C, procedeu-se à contagem de colónias presentes em cada placa.

3.5.2. Bactérias Lácticas

A contagem de bactérias lácticas foi realizada através do método de contagem em placa, de acordo com a norma ISO 15214 (1998). Após preparação da suspensão mãe e da série de diluições, transferiu-se 1 mL de cada diluição para placas de Petri com o meio de cultura *Man, Rogosa and Sharpe* (MRS) agar, a pH 5,7. A leitura e contagem das colónias foi efetuada após incubação das placas durante 72 horas a 30 °C.

3.5.3. Bolores e Leveduras

A contagem de bolores/leveduras foi efetuada em meio *Potato Dextrose Agar* (PDA), com adição de 100 mg/L de cloranfenicol. A sementeira efetuou-se por incorporação de 1 mL de cada diluição decimal. Após incubação durante 3 a 5 dias a 25 °C, procedeu-se à contagem das colónias. Os resultados são apresentados em unidades formadoras de colónias por grama (UFC/g).

3.5.4. Coliformes totais e *Escherichia coli*

A pesquisa destes microrganismos foi feita com recurso ao método SimPlate[®], método oficial AOAC 2005.03. Após preparação da amostra, procedeu-se à inoculação das placas SimPlate com 1 mL de amostra e 9 mL de meio de cultura. Após incubação das placas a 37 °C durante 24 a 28 horas, procedeu-se à observação das mesmas de modo a verificar a existência de resultados positivos, o que implica a mudança de cor (rosa – coliformes totais, e azul fluorescente sob luz UV a 365 nm – *E. coli*). Através da utilização da tabela de conversão SimPlate, expressaram-se os resultados em UFC/g.

3.5.5. Clostrídios sulfito-redutores

Para a pesquisa e quantificação de esporos de *clostrídios* sulfito redutores foi utilizado o meio de cultura Agar sulfito de ferro, usando o método de incorporação do inóculo. Após preparação da suspensão mãe e série de diluições, procedeu-se ao

aquecimento dos mesmos em banho-maria a 75 °C, durante 15 minutos, para inativação das formas vegetativas. Em seguida, transferiu-se para placas de petri 1 mL de cada diluição e incorporou-se com o meio Agar sulfito de ferro. Após solidificação, adicionou-se mais uma camada de meio e incubou-se durante 48 h a 37 °C, em atmosfera de anaerobiose. Foram considerados como resultados positivos o aparecimento de colónias negras.

3.5.6. *Staphylococcus aureus*

Placas de Petri com meio de cultura Baird Parker (BP), previamente autoclavado e posteriormente enriquecido com solução de gema de ovo e telurito de potássio, foram utilizadas para a pesquisa de *Staphylococcus aureus*, de acordo com a norma NP 4400-1:2002. Após sementeira e espalhamento à superfície de 0,1 mL de cada diluição, as placas foram incubadas a 37 °C durante 48 horas. Foram consideradas colónias características as negras, convexas, brilhantes de diâmetro compreendido entre 1 e 2,5 mm de diâmetro, rodeadas de um halo transparente. As colónias características e não características foram posteriormente repicadas em meio BHI e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Após este tempo, as mesmas foram confirmadas por incubação num tubo de ensaio com 1 mL de meio BHI e de 3 mL de plasma de coelho a 37 °C durante 4 a 6 horas.

3.5.7. *Salmonella spp.*

A pesquisa deste microrganismo foi feita com recurso a um kit rápido, 1-2 Test (método oficial AOAC 989.13), da Biocontrol®, seguindo-se as instruções do fabricante. Após o período de incubação durante 24 horas a 35-37 °C, observou-se a ausência ou presença de uma banda branca em forma de U, indicativa da presença de *Salmonella* (Figura 4)



Figura 4. Resultado positivo (imunobanda em forma de U) para a *Salmonella* da Biocontrol®

3.6. Avaliação sensorial

A avaliação sensorial das diferentes pastas de azeitona decorreu numa sala de aula bem iluminada por lâmpadas fluorescentes (luz branca), com uma temperatura agradável para os provadores e com o mínimo de ruído. As amostras foram codificadas com as letras “P.A.”, seguidas de dois números que identificavam o boião e a amostra a avaliar. A avaliação das pastas de azeitona envolveu a participação de 236 consumidores durante dois dias (115 provadores no primeiro dia e 121 no segundo), devido ao elevado número de pastas que se pretendia avaliar. No primeiro dia (1º painel) foram avaliadas as amostras de pasta de louro, pasta de limão, pasta de alho e pasta de azeitona (controlo). No segundo dia (2º painel) foram avaliadas as restantes amostras, designadamente a pasta de azeite, pasta de orégãos, pasta de pimentão-doce e pasta de piri-piri.

Em ambos os painéis foi servido um prato com quatro torradinhas barradas com os diferentes tipos de pasta de azeitona, quatro pedaços de maçã partida e descascada, um copo de água, um guardanapo e as respetivas folhas de registo com as características que se pretendiam avaliar (Figura 5).

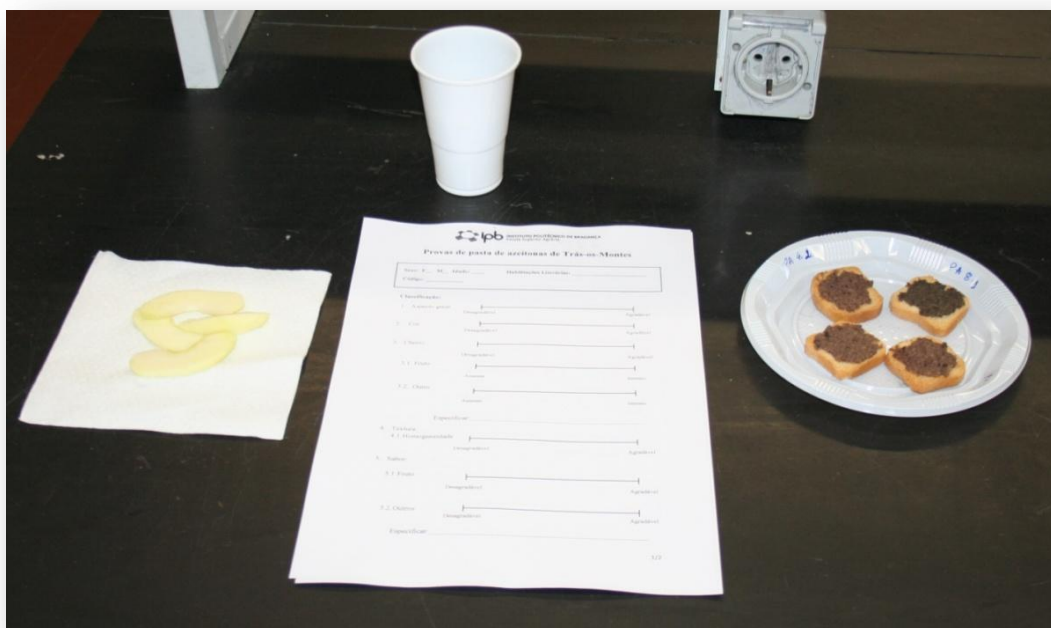


Figura 5. Prova de análise sensorial.

No início de cada prova foi dada uma pequena explicação ao provador do modo correto a proceder. Na Figura 6 são mostradas algumas fotografias das provas realizadas.



Figura 6. Provas organoléticas realizadas.

A cada tipo de pasta de azeitona proposta para prova, foi atribuído um código específico para efeitos de identificação, o qual tinha de ser inserido no cabeçalho da folha de prova por cada provador.

Nessa folha era também pedido para indicar a idade, sexo e habilitações literárias do mesmo. De seguida era solicitado para fazer uma classificação das pastas de azeitona em termos de aceitação, contendo a folha de registo uma lista de descritores, designadamente o aspeto geral, cor, textura, sabor, sensação bucal, acidez e apreciação global. Foi usada uma escala de 9 centímetros, em que 0 indicava ser muito desagradável e 9 muito agradável. A folha de registo utilizada encontra-se representada na Figura 7.

IPB INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA
Escola Superior Agrária

Provas de pasta de azeitonas de Trás-os-Montes

Nome: F. M. Idade: _____ Habilitações Literárias: _____
Código: _____

Classificação:

1. Aspecto geral: Desagradável _____ Agradável _____

2. Cor: Desagradável _____ Agradável _____

3. Cheiro: Desagradável _____ Agradável _____

3.1. Fruto: Ausente _____ Intenso _____

3.2. Outros: Ausente _____ Intenso _____

Especificar: _____

4. Textura: 4.1. Homogeneidade Desagradável _____ Agradável _____

5. Sabor: 5.1. Fruto Desagradável _____ Agradável _____

5.2. Outros Desagradável _____ Agradável _____

Especificar: _____

1/2

IPB INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA
Escola Superior Agrária

6. Sensação Bucal Desagradável _____ Agradável _____

7. Acidez Desagradável _____ Agradável _____

8. Atributos Positivos
Quais: _____

9. Atributos Negativos
Quais: _____

10. Apreciação Global Muito Mau _____ Muito Bom _____

11. Compraria este produto?
Sim Não Não sei
Porquê? _____

12. Outros aspectos a considerar

2/2

Figura 7. Folha de registo utilizada na avaliação organolética das pastas de azeitona.

Com isto pretendeu-se verificar se o produto era ou não do agrado do consumidor e quais as características ou qualidades positivas existentes, bem como aquelas que deveriam ser melhoradas.

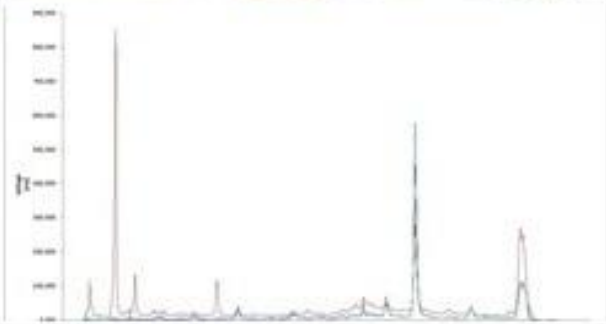
3.7. Análise estatística

Para avaliar se o tipo de pasta de azeitona (especiarias e temperos usados) afetava significativamente a avaliação dos consumidores recorreu-se à ANOVA *one-way*, seguida do teste *post-hoc* HSD de Tukey quando os pressupostos da normalidade e homogeneidade de variâncias eram cumpridos, ou com correção de Welch, no caso do requisito da homogeneidade de variâncias não se verificar, como descrito em Maroco (2010). Nesta situação quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

O pressuposto da distribuição normal da variável dependente foi avaliado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors (se $n > 50$) ou pelo teste de Shapiro-Wilk (se $n < 50$). O pressuposto da homogeneidade de variâncias foi validado

pelo teste de Levene. As análises estatísticas foram executadas no *software* SPSS (v.18, SPSS Inc, Chicago, IL) e consideraram-se estatisticamente significativos os efeitos cujo valor de p foram inferiores ou iguais a 0,05.

Na situação de se pretender avaliar um segundo fator, designadamente o sexo dos provadores, recorreu-se a uma ANOVA *two-way*, seguindo-se os passos anteriores. Neste caso estudaram-se os efeitos dos fatores principais e da sua interação.



Capítulo 4

Resultados e Discussão

4.1. Caracterização físico-química das azeitonas de mesa

Foram diversos os parâmetros determinados para avaliar a composição e qualidade quer da azeitona de mesa, matéria prima de origem, quer das pastas de azeitona elaboradas.

No caso da azeitona, e no que respeita à relação polpa/caroço, obteve-se um valor de $5,51 \pm 1,08$. Este parâmetro é de especial importância para verificar a porção edível do fruto e, portanto, o seu valor (Sakouhi et al., 2008), sendo de maneira geral, as azeitonas das cultivares com maiores relações polpa/caroço, destinadas à produção de azeitona de mesa, enquanto as que têm valores mais baixos deste parâmetro são destinadas à produção de azeite.

Para caracterizar quimicamente a azeitona de mesa foi feita a avaliação de alguns parâmetros como sejam os teores em humidade, cinzas, proteína bruta e gordura bruta, e estimado o teor em hidratos de carbono e o valor energético. Os resultados obtidos nessas determinações, expressos em percentagem, com exceção do valor energético que foi expresso em kcal/100g de amostra, encontram-se no Quadro 2.

Quadro 2. Composição nutricional da azeitona de mesa

Composição nutricional	Valores determinados
Humidade (%)	$67,52 \pm 6,44$
Cinzas (%)	$2,68 \pm 0,22$
Gordura (%)	$14,83 \pm 1,52$
Proteína (%)	$3,59 \pm 0,08$
Hidratos de carbono (%)	$11,40 \pm 8,25$
Valor Energético (kcal/100g)	$193,36 \pm 19,05$

As azeitonas de mesa são maioritariamente constituídas por água, com 67,5%, seguido pela gordura, 14,8%, e um teor em hidratos de carbono de 11,4%. No que respeita ao teor em proteína este apresentou um valor de 3,6% e um teor em cinzas de 2,7%. As azeitonas de mesa apresentaram um valor energético de 193,4 kcal/100g. Resultados semelhantes foram obtidos por Sousa et al. (2011) e Malheiro et al. (2012) para *alcaparras* e Nogueira et al. (2012) para azeitonas de mesa, os quais indicam valores de humidade de 65 a 71%, cinzas de 1,6 a 3,0%, gordura de 13,4 a 16,1%, proteína de 1,2 a 3,6%, hidratos de carbono de 8,1 a 12,5% e valores energéticos de 155 a 294 kcal/100g.

4.2. Caracterização físico-química das pastas de azeitona

4.2.1 Composição nutricional

No Quadro 3 encontra-se descrita a composição nutricional das pastas de azeitona elaboradas no presente trabalho, verificando-se a existência de alguma variabilidade entre amostras às quais foram adicionados diferentes tipos de especiarias/temperos.

No teor em humidade, observou-se que a pasta de azeitona com adição de sumo de limão foi a que apresentou o maior teor de humidade (71,8%) e a de pimentão-doce o menor teor, com 66,7%.

Em relação às cinzas, a amostra que apresentou a maior percentagem foi a pasta de azeitona com adição de orégãos (3,67%) e a menor a amostra de pimentão-doce, com 3,29%. Também neste parâmetro, as diferentes pastas foram diferentes entre si ($p < 0,001$).

Relativamente ao teor de gordura a pasta que apresentou o maior teor de gordura foi a de pimentão-doce (21,0%) e as que apresentaram o menor teor foram as pastas preparadas apenas com azeitona e sumo de limão (14,7%) e a pasta controlo (13,5%). Tal facto deve-se à não adição de azeite em ambas as amostras, apresentando estas um teor em gordura mais baixo. As restantes amostras apresentaram teores de gordura entre os 18 e os 20%, valores significativamente superiores ($p < 0,001$) aos encontrados para a pasta controlo e apenas com sumo de limão.

Na determinação de proteína as amostras que apresentaram os maiores teores foram as pastas de azeitona com adição de sumo de limão (3,8%), controlo (3,5%), alho (3,1%) e piri-piri (3,0%). Pelo contrário, as que apresentaram os menores teores foram a pasta de azeitona com louro e com pimentão-doce, com 2,4 e 2,5%, respetivamente. Por sua vez o cálculo dos hidratos de carbono, mostrou não existirem diferenças significativas entre as amostras ($p > 0,05$), sendo que os valores superiores foram obtidos nas pastas de azeitona com louro e com piri-piri, 7,6 e 7,2%, respetivamente, e os menores nas pastas de azeitona com alho (5,6%) e a de azeitona com azeite (6,3%).

Quadro 3. Composição química (gramas por 100 g de peso fresco) e valor energético (kcal por 100g de peso fresco) de pastas de azeitona preparadas com diferentes especiarias e temperos (média \pm desvio padrão).

Amostra	Humidade	Cinzas	Gordura	Proteína	Hidratos de Carbono	Valor Energético
Pasta	72,34 \pm 1,16 c	3,31 \pm 0,01 d	13,48 \pm 1,22 a	3,51 \pm 0,12 c,d	6,99 \pm 0,27	163,37 \pm 10,65 a
Azeite	68,26 \pm 0,74 a,b	3,50 \pm 0,08 a,c,d	19,14 \pm 1,32 c,d	2,82 \pm 0,03 a-c	6,28 \pm 1,33	208,68 \pm 8,13 b
Limão	71,78 \pm 0,62 c	3,34 \pm 0,06 b,c	14,68 \pm 1,15 a,b	3,83 \pm 0,27 a	6,92 \pm 0,87	172,23 \pm 7,92 a
Alho	68,72 \pm 0,80 b	3,52 \pm 0,02 a	18,51 \pm 0,77 c,d	3,11 \pm 0,41 d,e	5,58 \pm 1,61	204,23 \pm 1,00 b
Louro	67,48 \pm 0,65 a,b	3,36 \pm 0,03 a	19,26 \pm 0,74 c,d	2,36 \pm 0,01 a,b	7,59 \pm 1,25	213,13 \pm 3,03 b
Pimentão-Doce	66,73 \pm 0,62 a	3,29 \pm 0,04 a	20,99 \pm 2,42 b-d	2,49 \pm 0,31 a	6,50 \pm 3,01	224,85 \pm 10,99 b
Piripiri	68,02 \pm 0,29 a,b	3,31 \pm 0,03 a	18,44 \pm 1,39 b-d	3,01 \pm 0,17 b,c	7,21 \pm 1,67	206,86 \pm 6,45 b
Orégãos	67,89 \pm 0,54 a,b	3,67 \pm 0,302 a,b	19,25 \pm 0,97 c,d	2,63 \pm 0,33 e	6,90 \pm 0,68	211,34 \pm 6,90 b
Valor p	<0,001*	<0,001**	<0,001**	<0,001*	0,716**	<0,001**

As médias dentro de uma coluna com letras diferentes diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

*Os valores de p foram calculados a partir da Análise ANOVA *one-way* após se ter verificado os pressupostos de normalidade e de homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey.

**Os valores de p foram calculados a partir da Análise *one-way* Welch, uma vez que não se verificou a homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

Também no valor energético foram observadas diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,001$), designadamente entre as pastas que não tiveram adição de azeite (controlo e limão) comparativamente às restantes, variando este parâmetro entre 163,4 (pasta controlo) e 224,8 kcal/100g (pasta com pimentão doce).

Existe pouca informação na bibliografia relativamente à composição química de pastas de azeitona. No entanto, os resultados obtidos são semelhantes aos descritos Alvarenga et al. (2012), onde a humidade variou entre 67,2 e 72,2%, as cinzas entre 2,3 e 3,4%, e a gordura entre 10,3 e 16,7%, em pastas de azeitona verde e preta com adição de creme de origem animal e vegetal.

4.2.2 Acidez Total

A acidez é outro dos parâmetros vulgarmente avaliados para aferir a qualidade dos produtos de origem vegetal. Segundo Fernández et al. (1997), a acidez pode trazer várias vantagens, pois permite a preservação dos produtos e de matérias-primas perecíveis por um longo período de tempo. Na Figura 8 estão representados os valores de acidez das diferentes preparações de pasta de azeitona elaboradas no presente trabalho.

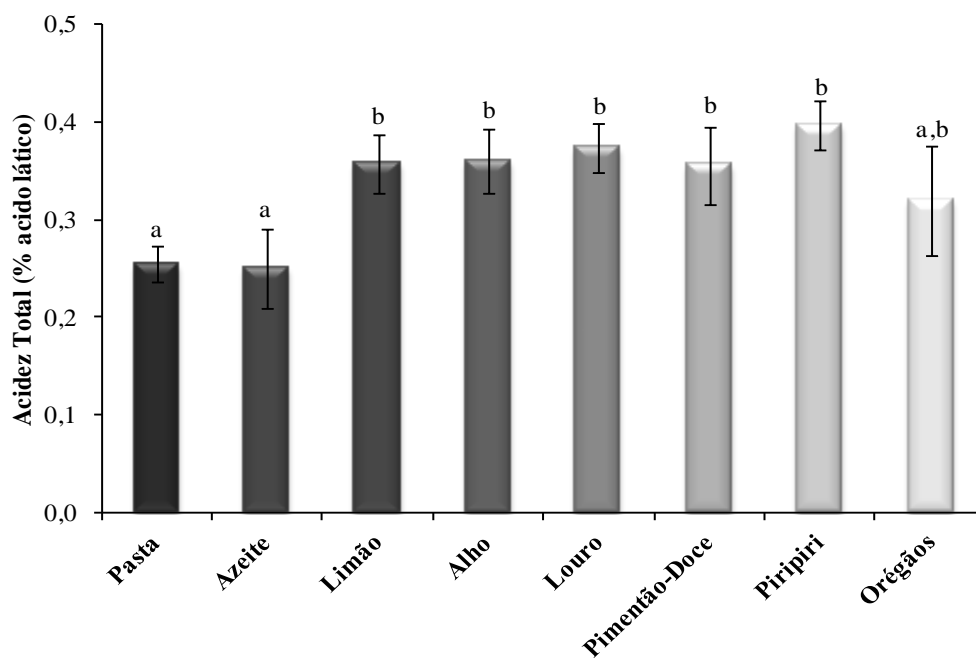


Figura 8. Valores da acidez total, expressa em % de ácido láctico, determinados nas pastas de azeitona analisadas no presente trabalho.

Verificaram-se diferenças significativas ($p < 0,001$) nos valores de acidez das diferentes pastas de azeitona. As pastas de azeitona controlo e a de azeite foram aquelas que apresentaram os valores de acidez mais baixos, com uma percentagem de 0,25% de ácido láctico. Pelo contrário, as restantes pastas apresentaram maiores valores de acidez, sendo significativamente diferentes das anteriores, com a exceção da pasta de azeitona com orégãos. Estes maiores valores de acidez devem-se possivelmente ao facto de na pasta de azeitona controlo e pasta de azeitona com adição de azeite não se adicionar sumo de limão, o qual pode acarretar um aumento nos valores de acidez.

4.2.3 pH

O pH é um parâmetro que é preciso controlar na maioria dos géneros alimentícios, porque tem uma importância fulcral no desenvolvimento microbiano. A valores de pH abaixo de 4,0, de uma maneira geral, não se observa desenvolvimento microbiológico. Na Figura 9 encontram-se representados os valores de pH determinados para as diferentes pastas de azeitona. Observou-se a existência de diferenças significativas entre as diferentes pastas ($p < 0,001$). Novamente as pastas de azeitona (controlo) e de azeite se diferenciaram das restantes, com valores de pH superiores (3,80 e 3,95, respetivamente) enquanto as restantes apresentaram valores de pH inferiores. Na generalidade das pastas os valores de pH foram inferiores a 4,0, o que dá uma garantia de segurança das pastas elaboradas.

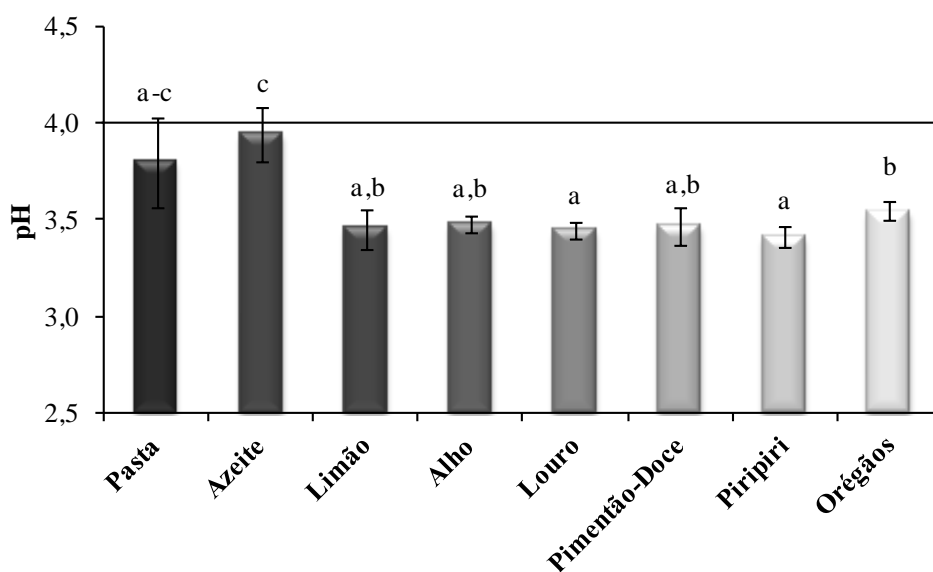


Figura 9. Valores de pH das diferentes pastas de azeitona elaboradas no presente trabalho.

As pastas preparadas com temperos apresentaram valores de pH próximos dos 3,4 (pastas de azeitona com sumo de limão, louro e piri-piri), 3,5 (pastas de azeitona com alho e pimentão-doce) e 3,6 (pasta com orégãos). O facto das pastas de azeitona com sumo de limão, alho, louro, pimentão-doce, piri-piri e orégãos terem um pH inferior em relação às pastas de azeitona controlo e com azeite, está com certeza relacionado com a adição de sumo de limão. Assim sendo, constata-se que a adição do sumo de limão aumenta a acidez das pastas e diminui o seu pH, aumentando desta forma a sua segurança microbiológica. Também Alvarenga et al. (2012) registaram valores de pH semelhantes quando avaliaram este parâmetro em pastas verdes, oscilando entre 3,24 e 3,76. Por sua vez, em pastas preparadas com azeitona negra, os mesmos autores obtiveram valores entre 4,63 e 5,61, o que acarreta maiores cuidados em termos de segurança das pastas para os consumidores.

4.2.4 Cor

A cor de um alimento é o primeiro ponto de contacto do produto com o consumidor. Na elaboração de um género alimentício deve ter-se em conta este parâmetro, de forma a torná-lo o mais atrativo para o consumidor e deste modo incentivá-lo para a compra do produto em questão. No Quadro 4 estão representados os vários parâmetros avaliados na medição da cor. A determinação da cor foi feita em triplicado através de um colorímetro, tendo sido utilizados dois campos distintos, o Hunter e o CIELAB. Os resultados obtidos (Quadro 4) indicam a existência de diferenças significativas nos valores da cor das várias pastas de azeitona ($p < 0,001$). A pasta de azeitona controlo e a pasta de azeitona com adição de azeite apresentaram os mais baixos valores de luminosidade (L, L*), mostrando, assim, uma cor mais escura. Tais resultados podem ser confirmados na Figura 10. As pastas mais escuras foram as pastas E e F, que correspondem às pastas controlo e com azeite, respetivamente. Já as restantes amostras apresentaram valores de luminosidade maiores. Estes resultados podem também estar relacionados com a adição de sumo de limão às pastas reduzindo desta forma o processo de oxidação e consequentemente escurecimento, uma vez que é conhecida a ação do ácido ascórbico (vitamina C), presente no sumo de limão, como agente antioxidante (Marín et al., 2002). Por outro lado este agente pode também ter

minimizado o escurecimento enzimático pela inibição das polifenoloxidasas (Tchone et al., 2005).

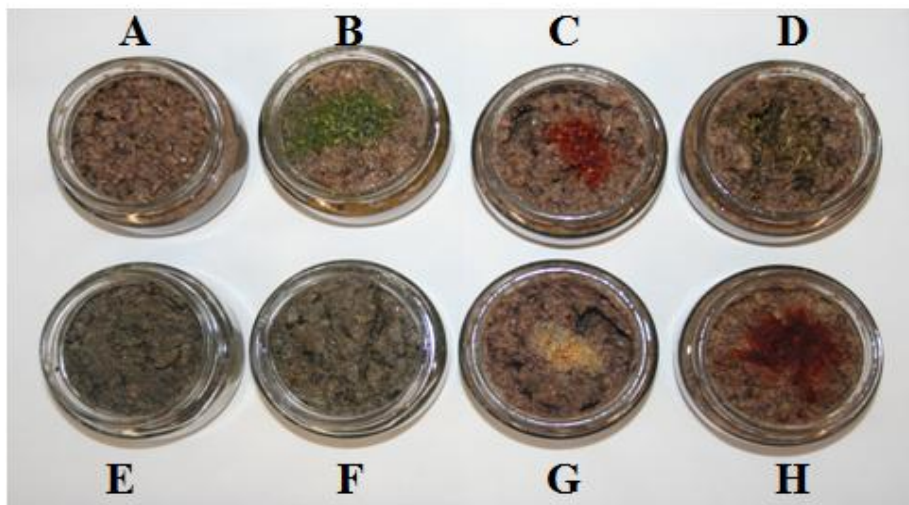


Figura 10. Cor das diferentes pastas de azeitona elaboradas: **A** - Limão; **B** - Louro; **C** - Piripiri; **D** - Orégãos; **E** - Pasta (controlo); **F** - Azeite; **G** - Alho; **H** - Pimentão-Doce.

Relativamente à coordenada “a” pôde verificar-se que as pastas de azeitona (controlo) e com azeite apresentaram os valores mais baixos neste parâmetro, relativamente às restantes (Quadro 4), indicando que as primeiras apresentam uma cor mais próxima para o tom de verde, facto facilmente observável na Figura 10 (pastas E e F). As restantes pastas de azeitona apresentaram um valor para a coordenada “a” mais elevado, indicando assim que as amostras apresentaram um tom mais avermelhado. Em relação à coordenada “b”, os valores obtidos não variaram muito entre si. Quanto mais baixo for o valor da coordenada “b”, mais o produto apresenta uma cor azulada. Pelo contrário, se os valores forem elevados, o produto tende para uma cor mais amarelada.

Quadro 4. Valores médios dos parâmetros L, a, b e L*, a*, b* determinados nas diferentes pastas de azeitona.

Amostra	Parâmetros Avaliados					
	Hunter			CIELAB		
	L	a	b	L*	a*	b*
Pasta	28,43±0,41 a	3,07±0,71 a	3,87±0,25 a,b	34,15±0,48 a	4,35±0,99 a	6,01±0,39 a,b
Azeite	28,46±0,62 a,b	2,85±0,16 a	3,57±0,67 a	34,18±0,73 a,b	4,04±0,21 a	5,52±1,08 a
Limão	29,95±0,63 a-c	6,77±0,22 c,d	4,22±0,67 a,b	35,93±0,72 b,c	9,25±0,31 c,d	6,46±1,07 a,b
Alho	30,45±1,02 c	6,96±0,24 c,d	4,51±0,52 a-c	36,49±1,18 c	9,45±0,34 c,d	6,90±0,83 a-c
Louro	30,91±0,38 c	6,06±0,14 d	5,45±0,40 c,d	37,03±0,43 c	8,24±0,19 b	8,43±0,64 c,d
Pimentão-Doce	29,98±0,87 b,c	7,25±0,22 d	5,55±0,55 d	35,95±1,01 b,c	9,87±0,24 d	8,72±0,85 d
Piripiri	29,89±1,14 a-c	6,94±0,26 c,d	4,70±0,71 b-d	35,85±1,32 a-c	9,48±0,34 c,d	7,28±1,13 b-d
Orégãos	30,47±1,16 c	6,41±0,14 b,c	4,39±0,55 a,b	36,53±1,33 c	8,73±0,33 b,c	6,69±0,81 a,b
Valor p	<0,001**	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001**

As médias com letras diferentes indicadas em cada uma das colunas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

*Os valores de p foram calculados a partir da Análise ANOVA *one-way* após se ter verificado os pressupostos de normalidade e de homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey.

**Os valores de p foram calculados a partir da Análise *one-way* Welch, uma vez que não se verificou a homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

4.3 Atividade Antioxidante e Perfil Fenólico das Pastas de Azeitona

4.3.1 Rendimento de extração

Os rendimentos de extração obtidos para as diferentes pastas de azeitona encontram-se descritos no Quadro 5. O maior rendimento foi obtido na pasta com limão (15,00±0,22%), seguida pela controlo, com 14,88±0,15%. Por sua vez, o menor rendimento de extração obteve-se na pasta de azeitona com orégãos (11,53±0,34%). As restantes amostras apresentaram rendimentos de extração entre os 12 e os 13%.

Quadro 5. Rendimentos de extração e valores de EC₅₀ (mg/mL) determinados nos ensaios do poder redutor e do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH de extratos preparados a partir das pastas de azeitona.

Amostra	% Rendimento de Extração	EC ₅₀ Poder Redutor (mg/mL)	EC ₅₀ DPPH (mg/mL)
Pasta	14,88±0,15 d	1,54±0,07 c	0,57±0,01 b
Azeite	12,12±0,51 a,b	1,34±0,06 b	0,50±0,01 a
Limão	15,00±0,22 d	1,52±0,06 c	0,72±0,05 d
Alho	12,53±0,34 b,c	1,18±0,04 a	0,63±0,05 b,c
Louro	12,80±0,21 b,c	1,24±0,14 a,b	0,71±0,06 c,d
Pimentão-Doce	12,73±0,10 b,c	1,36±0,20 a,b	0,70±0,12 a-c
Piripiri	13,07±0,28 c	1,30±0,04 a,b	0,65±0,03 c,d
Orégãos	11,53±0,34 a	1,35±0,07 b	0,70±0,04 c,d
Valor <i>p</i>	<0,001*	<0,001**	<0,001**

As médias com letras diferentes indicadas em cada uma das colunas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

*Os valores de p foram calculados a partir da Análise ANOVA *one-way* após se ter verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey.

**Os valores de p foram calculados a partir da Análise *one-way* Welch, uma vez que não se verificou a homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

4.3.2. Poder-redutor

A atividade antioxidante dos extratos das diferentes pastas de azeitona elaboradas no presente trabalho e determinada pelo método do poder redutor, mostrou existir uma relação de dependência entre a concentração de extrato e a sua atividade

biológica, aumentando esta à medida que aumentava a concentração de extrato (Figura 11).

Verificou-se que para concentrações de extrato baixas o comportamento das diferentes pastas foram muito semelhantes, não se detetando grandes variações entre elas. Só a partir da concentração de 1 mg/mL é que se observaram diferenças nos valores de absorvância para as diferentes pastas de azeitona (Figura 11).

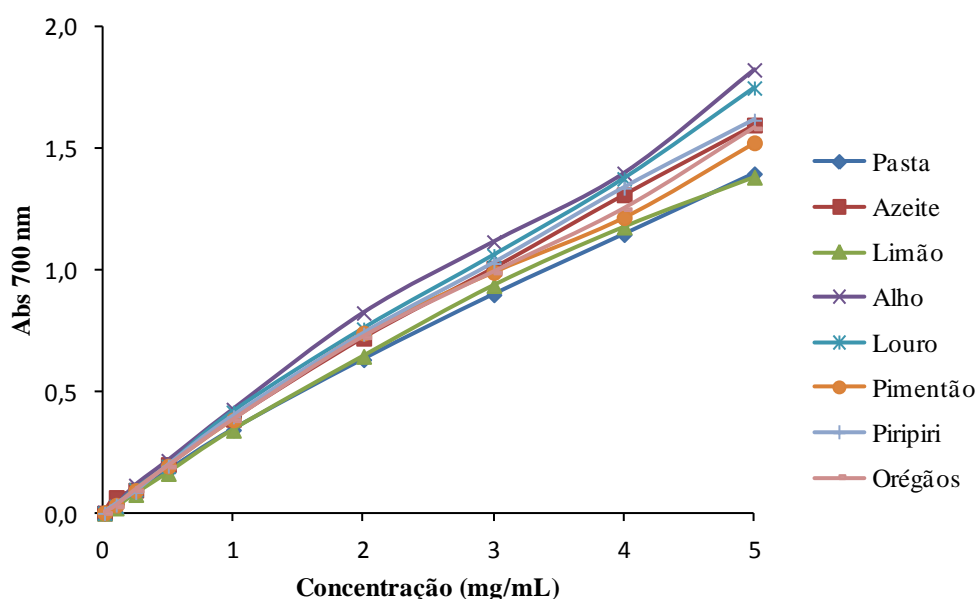


Figura 11. Valores de absorvância a 700 nm determinados no ensaio do poder redutor das diferentes pastas de azeitona em função da concentração de extrato.

Este comportamento foi idêntico ao referido para extratos preparados a partir de azeitona de mesa (Pereira et al., 2006) e alcaparras (Sousa et al., 2008; Malheiro et al., 2011a). Tendo em conta os valores de EC_{50} determinados para as diferentes pastas (Quadro 5), verificou-se que a adição de especiarias/temperos, com exceção da pasta com limão ($1,52 \pm 0,06$ mg/mL), aumentou os valores do poder redutor em relação à pasta controlo ($1,54 \pm 0,07$ mg/mL). À partida este resultado parece contraditório uma vez que o sumo de limão é rico em ácido ascórbico que é um antioxidante poderoso. Contudo, é também sabido que o ácido ascórbico é muito termolábil, e como as pastas de azeitona sofreram um processo de pasteurização, provavelmente ocorreu a destruição deste antioxidante, justificando os resultados obtidos. Por outro lado, as amostras que mais se destacaram pelo maior poder redutor (menores valores de EC_{50}) foram as pastas de azeitona com alho (EC_{50} de $1,18 \pm 0,04$ mg/mL) e louro que apresentou um valor de

EC₅₀ de 1,24±0,14 mg/mL. Estes resultados indicam que a adição de especiarias à pasta de azeitona, leva a que ocorra a incorporação de compostos com atividade antioxidante e em particular com ação redutora.

4.3.3. Efeito bloqueador dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

O efeito bloqueador de radicais livres de DPPH dos extratos preparados a partir de pastas de azeitona confeccionadas com diferentes especiarias/temperos aumentou com a concentração de extrato (Figura 12). Todos os extratos apresentaram um elevado efeito bloqueador a partir de concentrações superiores a 1,5 mg/mL, tendo os de azeite e controlo sido aqueles que apresentaram as maiores percentagens de efeito bloqueador.

Pelo contrário, o extrato de pasta com limão foi o que apresentou as menores percentagens.

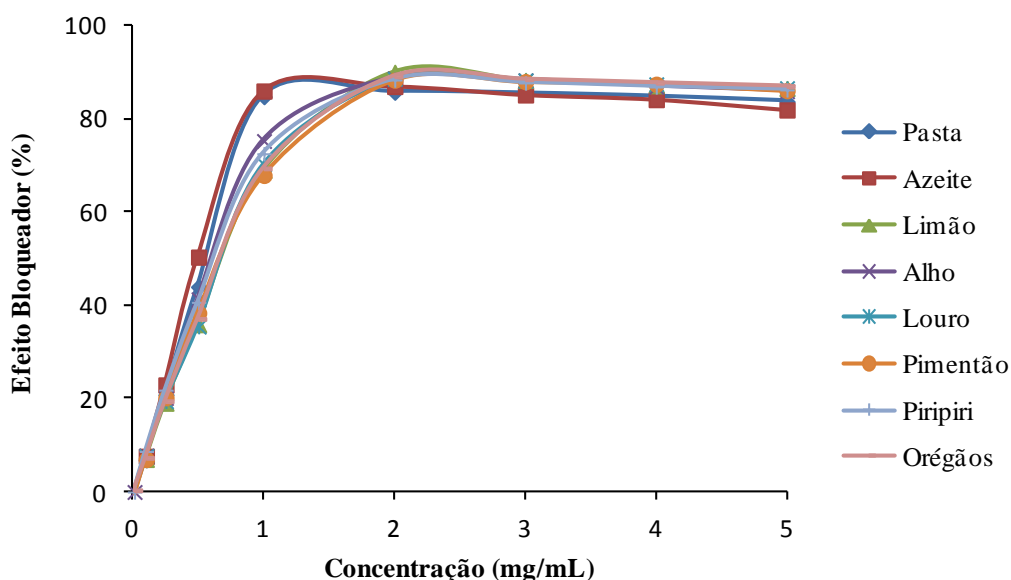


Figura 12. Valores do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH (%) obtidos para diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes pastas de azeitona.

Em relação aos valores de EC₅₀ obtidos (Quadro 5), observaram-se diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as diferentes pastas de azeitona. A amostra que apresentou maior efeito bloqueador foi a pasta de azeitona com azeite, com o valor de EC₅₀ mais baixo (0,50±0,01 mg/mL). Tal facto advém da adição de azeite poder aumentar significativamente a atividade antioxidante das pastas de azeitona. Pelo contrário, as pastas que apresentaram menores efeitos bloqueadores foram as de orégãos, pimentão-doce, louro e limão, apresentando os valores de EC₅₀ mais elevados

($0,70\pm 0,04$; $0,70\pm 0,12$; $0,71\pm 0,06$ e $0,72\pm 0,05$ mg/mL, respetivamente). Tais resultados indicam que os compostos introduzidos pela adiç3o destas especiarias n3o foram capazes de bloquear os radicais livres de DPPH.

4.3.4 Identifica3o e quantifica3o de compostos fen3licos

A composi3o fen3lica das pastas de azeitona com adi3o de diferentes especiarias/temperos foi determinada por HPLC/DAD e permitiu a separa3o e identifica3o de sete compostos, nomeadamente hidroxitirosol glicol, hidroxitirosol, tirosol, 3cido clorog3nico, 3cido sir3ngico, rutina e luteolina, apresentando-se na Figura 13 um cromatograma de uma pasta de azeitona. Na Figura 14 encontram-se representadas as f3rmulas de estrutura destes compostos. As diferentes pastas de azeitona apresentaram uma composi3o semelhante entre elas.

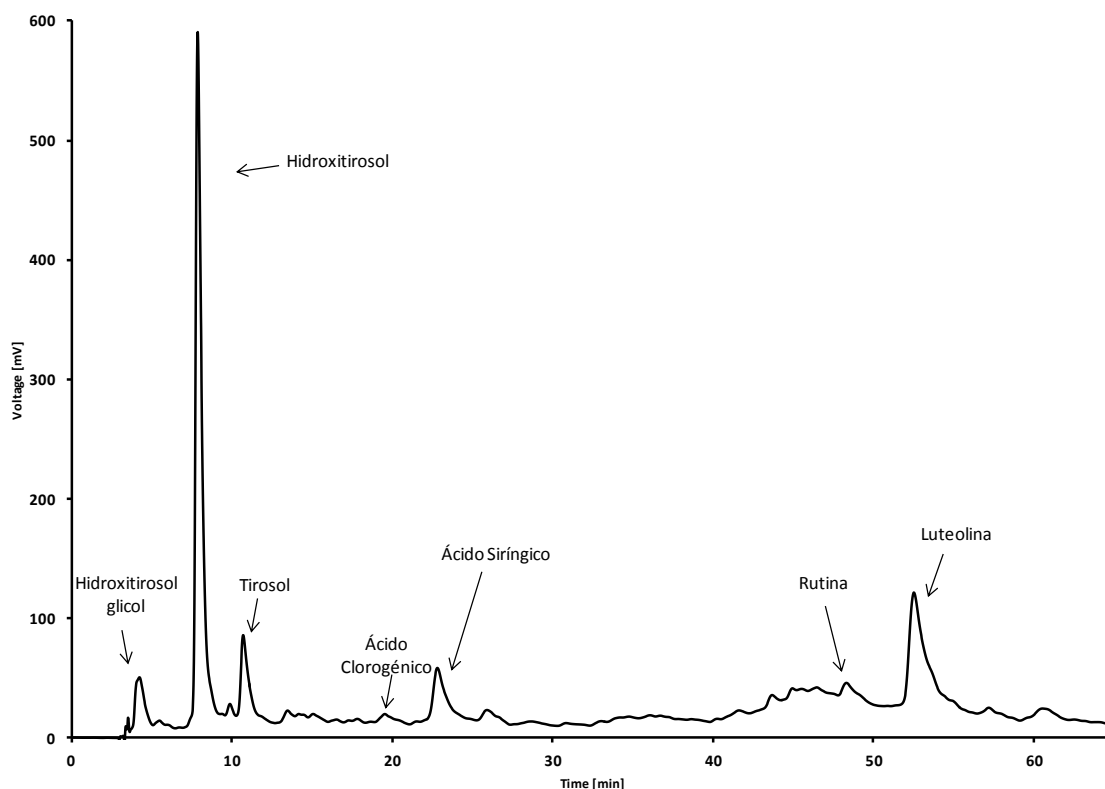


Figura 13. Perfil cromatogr3fico de uma pasta de azeitona, obtido por HPLC-DAD

Entre os compostos fen3licos identificados, os que se encontraram em maior quantidade foram o hidroxitirosol, tirosol, e luteolina, tal como indicado no cromatograma da Figura 13. Pelo contr3rio, os compostos fen3licos que se apresentaram

em menores quantidades foram o ácido clorogénico e a rutina. Resultados idênticos foram obtidos por Blekas et al. (2002) e Pereira et al. (2006).

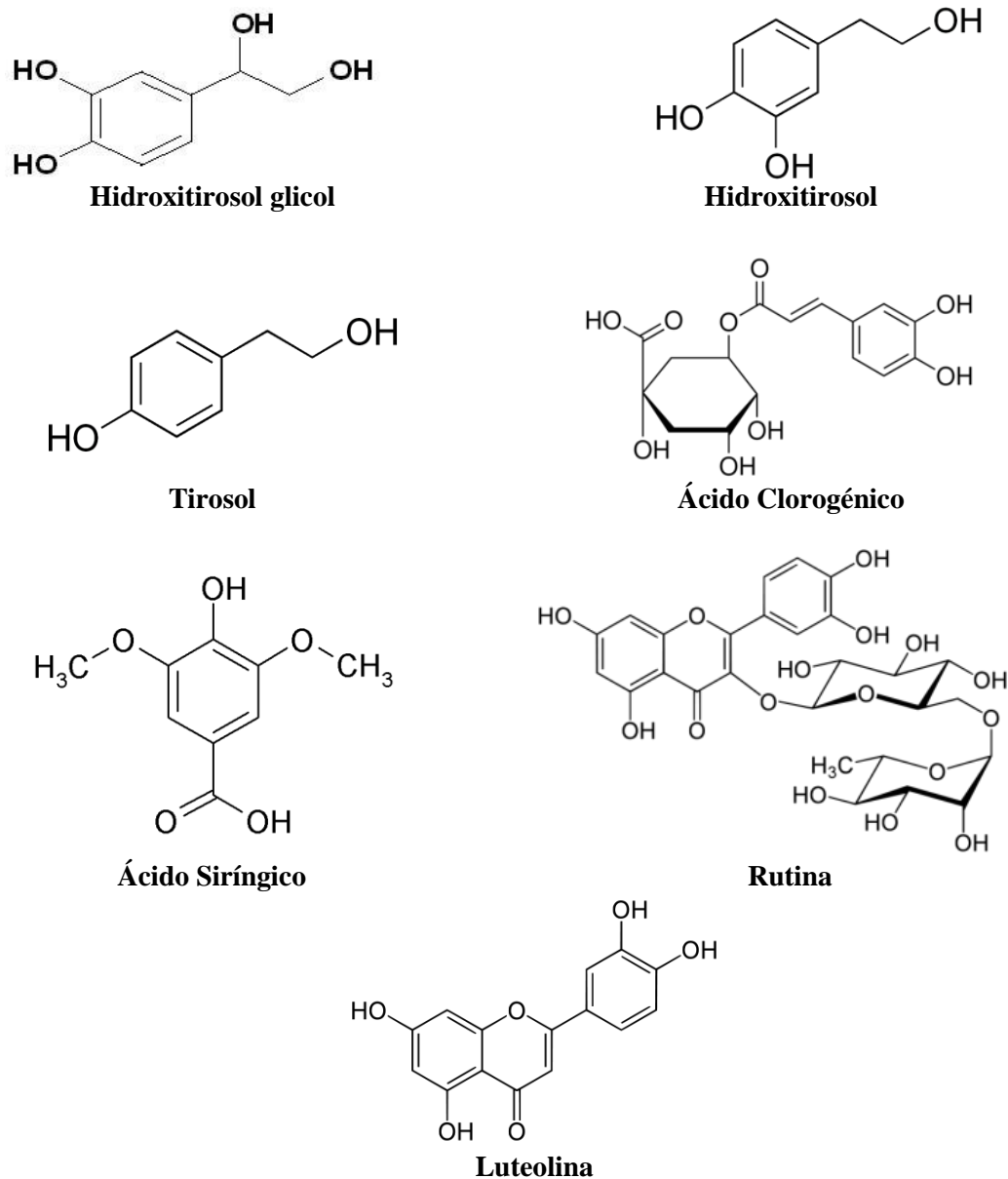


Figura 14. Estruturas químicas dos compostos fenólicos identificados nas pastas de azeitona.

Quanto à quantificação dos compostos fenólicos identificados (Quadro 6), o hidroxitirosol revelou ser o composto presente em maior quantidade em todas as pastas de azeitona, variando entre 100,92 e 447,67 mg/kg de peso fresco, representando 22,1 a 66,2% de todos os compostos fenólicos totais quantificados. Este composto encontrou-

se presente em maior quantidade na pasta de azeitona com adição de louro, $447,67 \pm 5,45$ mg/kg de peso fresco, e em menor quantidade na pasta de azeitona controlo, $100,92 \pm 2,89$ mg/kg de peso fresco. Segundo Romero et al. (2004b) e Blekas et al. (2002), o hidroxitirosol é o composto fenólico mais abundante nas azeitonas de mesa. Este composto resulta da hidrólise de oleuropeína (Brenes et al., 1995), que é o principal composto fenólico presente nos frutos frescos (Romero et al., 2004a; 2004b; Vinha et al., 2005). A oleuropeína é responsável pelo sabor amargo das azeitonas não processadas, as quais para se tornarem comestíveis, devem perder, pelo menos parcialmente, a sua amargura natural. Por conseguinte, a oleuropeína não pode ser encontrada em frutos processados (Pereira et al., 2006) porque é hidrolisada em hidroxitirosol e tirosol (Piga et al., 2001; Ferreira et al., 2002), contribuindo para a presença destes compostos nas pastas de azeitona. Verificou-se que na pasta de azeitona controlo se observou uma menor quantidade de hidroxitirosol ($100,92 \pm 2,89$ mg/kg de peso fresco), existindo, por outro lado, uma maior quantidade de hidroxitirosol glicol ($214,56 \pm 7,60$ mg/kg de peso fresco), em relação às restantes pastas. Este fenómeno ocorreu possivelmente devido à falta de antioxidantes, visto que a pasta de azeitona controlo não lhe foi adicionado qualquer tipo de especiaria/tempero, levando à conversão de grande parte de hidroxitirosol em hidroxitirosol glicol.

Um outro composto presente em maior quantidade foi a luteolina, variando a sua concentração entre as diferentes pastas. A pasta que apresentou a maior quantidade de luteolina foi a controlo, com $82,24 \pm 1,17$ mg/kg de peso fresco. As restantes pastas apresentaram em média $64,0$ mg/kg de peso fresco.

O tirosol é um dos compostos fenólicos que também apareceu em quantidades apreciáveis nas diferentes pastas de azeitona. A pasta de azeitona que apresentou a maior quantidade de tirosol foi a de louro, com $83,99 \pm 0,24$ mg/kg de peso fresco. Pelo contrário, a pasta que apresentou a menor quantidade foi a controlo, com $30,08 \pm 2,27$ mg/kg de peso fresco.

Quadro 6. Perfil fenólico (mg/kg de peso fresco) das diferentes pastas de azeitona.

Compostos Fenólicos	Pasta	Azeite	Limão	Alho	Louro	Pimentão-Doce	Piripiri	Orégãos	Valor <i>p</i>
Hidroxitirosol glicol	214,56±7,60 f	53,18±0,82 d	40,94±1,20 a,b	41,11±0,17 a,c	49,64±1,72 c-e	51,13±0,78 d	41,41±0,71 a,c	45,58±0,74 b,e	< 0,001**
Hidroxitirosol	100,92±2,89 a	311,76±2,10 b	373,9±1,63 c	402,23±3,15 d	447,67±5,45 f	421,87±1,66 e	415,74±4,42 e	374,47±2,91 c	< 0,001*
Tirosol	30,08±2,27 a	74,21±1,48 b-d	70,52±0,86 b,c	74,01±0,12 b,c	83,99±0,24 e	81,15±3,03 c-e	81,47±0,43 d	65,67±2,40 b	< 0,001**
Ácido Clorogénico	1,81±0,02 a	6,53±0,58 d	4,18±0,18 d,e	3,86±0,14 c,d	3,22±0,17 b,c	2,55±0,09 b	1,84±0,09 a	3,92±0,32 b,c,e	< 0,001**
Ácido Siringico	23,11±0,05 e	17,72±0,18 d	17,23±0,59 b-d	14,57±0,10 b,c	19,51±0,90 c-e	11,17±0,59 a	12,52±0,30 a	14,63±0,30 b	< 0,001**
Rutina	3,67±0,38 a	13,63±1,07 b	14,49±1,27 b	17,38±0,46 b	22,09±5,45 a,b	15,64±1,22 b	15,56±1,76 b	19,41±1,35 b	< 0,001**
Luteolina	82,24±1,17 d	69,54±0,19 c	58,24±0,92 a	65,14±0,24 b	72,57±1,21 c	62,06±0,80 a,b	59,79±0,52 a	65,61±0,24 b	< 0,001**
Total	456,39±13,72 a	546,57±4,53 b	579,49±6,07 c	618,31±2,62 d,e	698,69±13,86 f,g	645,57±3,39 g	628,33±2,43 e,f	589,29±7,02 c,d	< 0,001**

As médias com letras diferentes indicadas em cada uma das colunas diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

*Os valores de p foram calculados a partir da Análise ANOVA *one-way* após se ter verificado os pressupostos de normalidade e de homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey.

**Os valores de p foram calculados a partir da Análise *one-way* Welch, uma vez que não se verificou a homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

Na Figura 15 estão representados os cromatogramas de quatro pastas de azeitona diferentes, designadamente as pastas de azeitona controlo, com azeite, sumo de limão e louro. Verificou-se que os cromatogramas são idênticos, exceto o da pasta de azeitona controlo que apresentou um maior teor de hidroxitirosol glicol e uma menor quantidade de hidroxitirosol. Os restantes compostos fenólicos foram idênticos, variando apenas a sua quantidade.

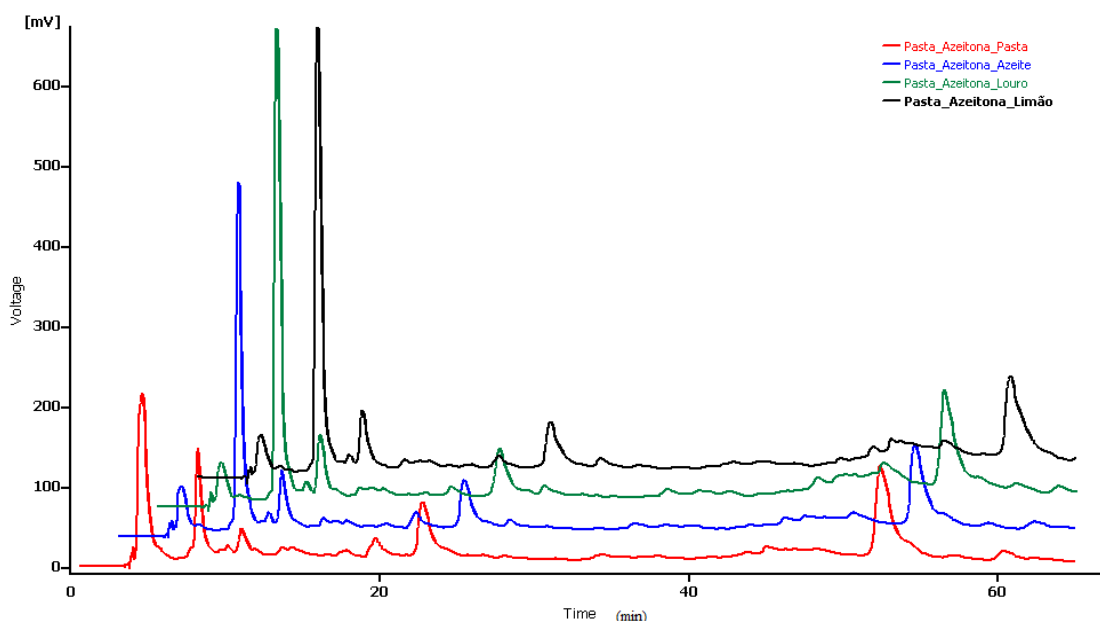


Figura 15. Comparação entre os cromatogramas obtidos por HPLC-DAD de quatro pastas de azeitona (Preto - Limão; Verde - Louro; Azul - Azeite; Vermelho - Controlo).

Em relação aos fenóis totais (Quadro 6), estes variaram entre 456,39 e 698,69 (mg/kg de peso fresco), correspondendo estes valores às pastas de azeitona controlo e louro, respetivamente.

4.4. Avaliação Microbiológica das Pastas de Azeitona

Segundo o *Codex Alimentarius* (2010) e a NP-3034 (1987), qualquer produto alimentar deve estar isento de microrganismos patogénicos e de suas toxinas, ou de qualquer outro agente contaminante que possa por em causa a saúde do consumidor.

A matéria-prima para a elaboração de pastas de azeitona são as azeitonas de mesa, as quais contêm microrganismos que estão envolvidos no processo de fermentação. Neste sentido, os microrganismos mais relevantes a ter em conta, são as

Enterobacteriaceae, bactérias ácido-láticas e leveduras (Panagou et al., 2008; Arroyo-López et al., 2010; Bautista-Gallego et al., 2011).

No Quadro 7 são apresentados os resultados da análise microbiológica realizada às diferentes pastas de azeitona elaboradas no presente trabalho.

Quadro 7. Contagens de microrganismos presentes nas diferentes pastas de azeitona elaboradas (UFC/g).

Amostra	Mesófilos	Bactérias Láticas	Bolores e leveduras	Coliformes totais	<i>E. coli</i>	Clostrídios sulfito-redutores	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>
Pasta	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente
Azeite	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente
Limão	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente
Alho	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente
Louro	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente
Pimentão-doce	2,3×10 ³	6,4×10 ²	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente
Piripiri	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente
Orégãos	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 ²	ausente

Na contagem de mesófilos verificou-se que todas as pastas de azeitona apresentaram valores <10 UFC/g, exceto a de pimentão-doce que apresentou uma contagem de 2,3×10³ UFC/g. De acordo com Santos et al. (2005), todos os valores de mesófilos determinados no presente trabalho estão dentro do considerado como satisfatório, exceto a pasta de azeitona com pimentão-doce que se encontra dentro do aceitável.

Todas as pastas de azeitona avaliadas apresentaram teores em bactérias láticas <10 UFC/g, exceto novamente a pasta de azeitona com pimentão-doce, a qual apresentou uma contagem de 6,4×10² UFC/g. Os baixos valores de bactérias láticas determinados no presente trabalho são resultado da inibição destes microrganismos em meios com concentração de NaCl superior a 8% (Quintana *et al.*, 1997), condição verificada nas pastas elaboradas.

Em relação à contagem de leveduras e bolores, obtiveram-se sempre valores <10 UFC/g, indicando que não houve uma manipulação inadequada do produto. Todos os valores obtidos estão dentro do satisfatório (Santos et al., 2005).

Os resultados obtidos também mostram a ausência de microrganismos indicadores de contaminação fecal, designadamente coliformes totais e *E. coli*, sugerindo boas condições de higiene ao longo de todo o processamento das azeitonas e das diferentes pastas de azeitona.

Em relação ao *S. aureus*, não foram detetadas colónias viáveis nas amostras analisadas, sendo todos os valores inferiores a 10^2 UFC/g. De forma idêntica, em 25 g de amostra não foi detetada a presença de *Salmonella* spp.

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

4.5 Caracterização Sensorial das Pastas de Azeitona

Em relação aos resultados obtidos em cada um dos dias de prova, realizados no presente trabalho para avaliar em termos organoléticos as pastas de azeitona elaboradas, no primeiro dia (painel 1) verificaram-se diferenças significativas em alguns dos parâmetros analisados, em relação ao sexo dos provadores e às pastas de azeitona, tal como indicado no Quadro 8, uma vez que se observaram valores de p para estes fatores < 0,05.

Verificou-se que nas pastas de azeitona de alho, limão, louro e controlo, o sexo dos provadores foi um fator significativo para os seguintes parâmetros: aspeto geral, cor, cheiro, sabor a fruto e acidez. Constatou-se que o sexo masculino atribuiu uma classificação sempre superior face ao sexo feminino (Quadro 9).

Quadro 8. Classificação organoléptica das pastas de azeitona avaliadas no primeiro dia de prova (1º painel).

Característica	Sexo	Alho	Limão	Louro	Pasta	Valor <i>p</i> <i>sexo*pastas</i>	Valor <i>p</i> <i>sexo</i>	Valor <i>p</i> <i>pastas</i>
Aspeto Geral	Masculino	6,10±1,97	6,04±1,77	6,03±1,58	5,26±1,98	0,208**	0,007*	<0,001*
	Feminino	5,74±2,02	5,81±1,95	5,75±2,08	4,04±2,21			
Cor	Masculino	6,26±1,83	6,17±2,79	5,96±1,72	4,94±2,12	0,386**	0,001*	<0,001*
	Feminino	5,85±1,99	5,63±2,13	5,56±2,12	3,70±2,29			
Cheiro	Masculino	6,11±1,93	6,26±1,94	6,54±1,52	5,95±1,94	0,817**	0,006*	0,255**
	Feminino	5,79±2,06	5,88±1,96	5,76±2,01	5,32±2,08			
Fruto	Masculino	5,88±1,94	5,54±2,30	6,39±2,04	5,71±2,09	0,493**	0,085**	0,386**
	Feminino	5,70±1,99	5,45±1,99	5,50±2,15	5,45±2,09			
Textura Homogénea	Masculino	5,91±1,81	5,92±1,67	5,59±1,70	5,76±1,93	0,560**	0,322**	0,557**
	Feminino	5,92±1,79	5,46±2,10	5,74±1,95	5,32±2,12			
Sabor Fruto	Masculino	6,11±2,03	5,77±2,13	6,22±1,98	5,92±1,83	0,557**	0,028*	0,710**
	Feminino	5,86±2,28	5,59±2,13	5,27±2,38	5,47±2,16			
Sensação Bucal	Masculino	6,18±1,80	5,54±2,05	5,89±2,04	5,80±2,04	0,760**	0,387**	0,378**
	Feminino	5,96±2,08	5,69±2,09	5,42±2,33	5,65±2,02			
Acidez	Masculino	6,18±1,80	5,47±2,14	5,52±2,25	6,02±1,82	0,435**	0,003*	0,008*
	Feminino	5,96±2,08	5,07±2,08	4,74±2,34	4,96±2,21			
Apreciação Global	Masculino	5,20±2,23	5,40±1,87	5,72±1,84	5,86±1,78	0,515**	0,243**	0,554**
	Feminino	5,22±2,10	5,46±1,84	5,42±1,96	5,19±2,06			

*-Valores significativos

**-Valores não significativos

Quadro 9. Classificações atribuídas pelos provadores de ambos os sexos às características avaliadas nas pastas de azeitona.

Característica	Sexo	
	Feminino	Masculino
Aspeto Geral	5,33±2,19	5,86±1,85
Cor	5,19±2,29	5,83±1,93
Cheiro	5,69±2,03	6,21±1,84
Sabor Fruto	5,55±2,24	6,01±1,99
Acidez	5,18±2,22	5,80±2,02

Em relação às pastas de azeitona (alho, limão, louro e controlo), avaliadas no 1º dia de provas (Quadro 8), ao considerar o aspeto geral verificou-se que o sexo masculino demonstrou preferência pela pasta de azeitona com adição de alho (6,10±1,97). Pelo contrário, o sexo feminino atribuiu a maior pontuação à pasta de azeitona com sumo de limão (5,81±1,95). No que respeita à cor, ambos os sexos atribuíram a maior classificação à pasta de azeitona com adição de alho. De referir que os provadores do sexo feminino atribuíram a segunda melhor classificação à pasta de azeitona com limão, a qual tinha sido a preferida em relação ao aspeto geral.

Em relação ao cheiro, os provadores do sexo masculino atribuíram a melhor classificação à pasta de azeitona com adição de louro (6,54±1,52), enquanto o sexo feminino atribuiu a melhor classificação à pasta de azeitona com adição de sumo de limão (5,88±1,96). Contudo, em relação a esta característica, as diferenças determinadas entre pastas não foram significativas ($p_{pastas} > 0,05$).

Na avaliação da textura das diferentes pastas de azeitona não se observaram diferenças significativas entre sexos e entre pastas, obtendo-se classificações entre 5,32 e 5,92.

Também não se verificaram diferenças significativas entre pastas no que respeita à classificação em relação ao sabor a fruto, apenas se verificando diferenças significativas entre o sexo dos provadores ($p < 0,05$). Neste parâmetro o sexo masculino classificou a pasta de azeitona com louro como sendo aquela com sabor a fruto mais agradável (6,22±1,98), enquanto o sexo oposto classificou a pasta de azeitona com alho como sendo a preferida (5,86±2,28).

Na avaliação da sensação bucal não se observaram diferenças significativas entre as diferentes pastas de azeitona e entre sexos, obtendo-se classificações entre 5,42 e 6,18.

Em termos de acidez, verificaram-se diferenças significativas entre o sexo dos provadores e as pastas de azeitona ($p < 0,05$). Para ambos os sexos, a pasta de azeitona com maior classificação foi a de alho, tendo os provadores do sexo masculino atribuído a esta característica valores sempre superiores aos indicados pelo sexo feminino, demonstrando que a acidez das pastas de alho, limão, louro e controlo, foi mais do agrado dos provadores masculinos do que femininos.

Em termos de apreciação global, não se observaram diferenças significativas entre sexo dos provadores e pastas avaliadas, tendo as classificações variado entre 5,19 e 5,86.

No segundo dia de provas foram avaliadas as outras quatro pastas de azeitona, designadamente as de azeite, pimentão-doce, piri-piri e orégãos (Quadro 10). Ao contrário do constatado no 1º dia de prova, verificou-se que para todos os parâmetros avaliados no 2º dia, não se observaram diferenças significativas entre o sexo dos provadores. Pelo contrário, observaram-se diferenças significativas entre as diferentes pastas de azeitona, em termos do aspeto geral, cor, sabor a fruto, sensação bucal, acidez e apreciação global ($p \leq 0,05$).

Em relação ao aspeto geral, verificou-se que a pasta de azeitona com orégãos foi a mais apreciada. Já no que se refere à cor, as pastas preferidas pelos provadores do sexo masculino e feminino foram as de orégãos ($5,75 \pm 1,96$) e piri-piri ($5,78 \pm 1,79$), respetivamente.

Na classificação do sabor a fruto, as pastas de pimentão-doce e de orégãos foram as preferidas pelos provadores do sexo masculino e feminino, respetivamente.

Quadro 10. Classificação organolética das pastas de azeitona avaliadas no segundo dia de prova (2º painel).

Caraterísticas Sexo	Azeite	Pimentão-doce	Piripiri	Orégãos	Valor <i>p</i> <i>sexo*pastas</i>	Valor <i>p</i> <i>sexo</i>	Valor <i>p</i> <i>pastas</i>	
Aspeto Geral	Masculino	4,74±2,12	5,65±1,85	5,34±2,02	5,84±2,12	0,996**	0,510**	0,001*
	Feminino	4,94±2,20	5,75±1,88	5,45±1,82	5,93±2,02			
Cor	Masculino	4,23±2,04	5,50±1,92	5,49±1,99	5,75±1,96	0,587**	0,460**	<0,001*
	Feminino	4,60±2,17	5,69±1,88	5,78±1,79	5,45±1,94			
Cheiro	Masculino	5,26±1,68	5,87±1,70	5,57±2,10	5,94±2,07	0,506**	0,137**	0,495**
	Feminino	5,88±1,94	5,84±2,02	6,05±1,88	5,97±1,84			
Fruto	Masculino	5,80±1,47	5,90±1,68	5,71±1,72	6,07±1,85	0,928**	0,970**	0,614**
	Feminino	5,72±2,15	5,80±2,13	5,91±1,96	6,08±1,62			
Textura Homogenia	Masculino	5,60±1,98	5,63±1,90	4,96±2,00	5,85±1,95	0,556**	0,673**	0,085**
	Feminino	5,88±1,89	5,50±1,78	5,36±1,98	5,63±1,88			
Sabor Fruto	Masculino	5,48±1,96	5,94±2,06	4,82±2,18	5,76±2,12	0,643**	0,769**	0,013*
	Feminino	5,74±2,16	5,58±2,11	5,12±2,20	5,79±2,04			
Sensação Bucal	Masculino	5,37±2,25	5,77±2,07	5,05±2,20	5,44±2,39	0,516**	0,312**	0,009*
	Feminino	5,92±1,99	5,87±1,99	4,80±2,28	5,84±1,98			
Acidez	Masculino	5,25±2,08	5,84±2,12	4,97±2,13	5,36±2,33	0,341**	0,293**	0,050*
	Feminino	5,52±1,85	5,16±2,09	4,61±2,06	5,31±1,91			
Apreciação Global	Masculino	5,34±2,01	5,73±2,16	4,83±2,12	5,56±2,27	0,694**	0,491**	0,005*
	Feminino	5,80±1,75	5,58±1,80	4,85±2,04	5,74±1,83			

*-Valores significativos

**-Valores não significativos

Na avaliação da sensação bucal, os provadores do sexo feminino atribuíram a melhor classificação à pasta de azeitona com adição de azeite ($5,92\pm 1,99$), enquanto os provadores do sexo masculino preferiram a de pimentão-doce ($5,77\pm 2,07$).

Em relação à acidez, os provadores do sexo masculino deram novamente preferência à pasta de pimentão-doce ($5,84\pm 2,12$), tendo o sexo feminino atribuído a melhor classificação à pasta de azeite ($5,52\pm 1,85$).

Na apreciação geral das pastas de azeitona de azeite, pimentão-doce, piri-piri e orégãos, os provadores do sexo feminino deram preferência à pasta de azeitona com adição de azeite ($5,80\pm 1,75$), enquanto os provadores do sexo masculino deram preferência à pasta de azeitona com pimentão-doce ($5,73\pm 2,16$).

De forma a poder comparar as pastas de azeitona elaboradas entre si, no Quadro 11 são apresentadas as classificações atribuídas às diferentes pastas de azeitona pelos dois painéis de provadores, tendo em conta os resultados dos dois sexos. No primeiro dia quando foram analisadas as pastas de azeitona controlo, alho, limão e louro, só se verificaram diferenças significativas entre elas no que se refere ao aspeto geral, cor e acidez, tal como indicado anteriormente. No que diz respeito aos restantes parâmetros, as quatro pastas não diferiram entre si. Em relação ao aspeto geral e cor, só apenas a pasta de azeitona controlo foi classificada como sendo significativamente diferente das restantes, sendo a menos preferida.

Em relação à acidez, verificou-se que a pasta de azeitona com alho foi a melhor classificada ($6,04\pm 1,98$). Contudo, esta não foi significativamente diferente da pasta de azeitona controlo ($5,34\pm 2,13$).

No segundo dia (Quadro 11) verificaram-se diferenças significativas entre as diferentes pastas de azeitona no que se refere ao aspeto geral, cor, sabor a fruto, sensação bucal, acidez e apreciação global ($p\leq 0,05$). Em relação ao aspeto geral, a pasta de azeitona com azeite foi a menos preferida dos consumidores ($4,87\pm 2,17$), ao contrário da de orégãos ($5,90\pm 2,05$). Resultados semelhantes foram obtidos para a cor, tendo a pasta de azeite sido novamente a menos preferida ($4,46\pm 2,12$). Contudo, foi a de piri-piri a que teve a melhor pontuação ($5,68\pm 1,87$) neste parâmetro. Já em relação ao sabor a fruto, a pasta com orégãos foi a melhor classificada pelos consumidores ($5,78\pm 2,06$), ao contrário da de piri-piri ($5,01\pm 2,19$). Este facto pode ter sido devido a esta especiaria “mascarar” numa maior extensão o sabor a fruto face às restantes pastas,

justificando a menor pontuação. Em termos de sensação bucal e de acidez, a pasta de azeitona com piri-piri voltou a ser a que foi pior classificada pelos provadores ($4,89 \pm 2,24$ e $4,74 \pm 2,08$), diferenciando-se das restantes ou só em relação à pasta com azeite, respetivamente. Em relação à apreciação global, novamente a pasta de azeitona com piri-piri foi a menos preferida dos consumidores ($4,84 \pm 2,26$), diferenciando-se significativamente das restantes. As pastas de azeite, pimentão-doce e orégãos foram as que tiveram melhores classificações, não se distinguindo entre si. Além disso, as pontuações obtidas para estes sabores foram superiores às observadas nas pastas de azeitona com alho, limão, louro e controlo, analisadas no primeiro dia.

Assim sendo, de um modo geral verificou-se que as pastas elaboradas se destacam entre si, no que diz respeito ao aspeto geral, cor e acidez, uma vez que nos dois dias de provas se obtiveram valores de $p \leq 0,05$ para esses parâmetros. Contudo, algumas das pastas de azeitona podem ainda diferir no sabor a fruto, sensação bucal e apreciação global.

Quadro 11. Avaliação geral das pastas para os dois dias de prova.

	Amostra	Aspetto Geral	Cor	Cheiro	Cheiro/Fruto	Text. Homog.	Sabor Fruto	Sensação Bucal	Acidez	Apreciação Global
1º Dia	Alho	5,87±2,17 b	6,00±1,94 b	5,91±2,01	5,77±2,08	5,92±1,79	5,95±2,28	6,04±1,98	6,04±1,98 b	5,21±2,14
	Limão	5,89±1,88 b	5,82±2,02 b	6,01±1,95	5,48±2,10	5,62±1,96	5,66±2,12	5,53±2,07	5,22±2,10 a	5,44±1,85
	Louro	5,85±1,91 b	5,70±1,99 b	6,04±1,88	5,83±2,15	5,68±1,86	5,61±2,28	5,59±2,24	5,02±2,33 a	5,53±1,92
	Pasta	4,49±2,20 a	4,15±2,30 a	5,55±2,04	5,54±2,09	5,48±2,06	5,64±2,05	5,70±2,02	5,34±2,13 a,b	5,44±1,98
	Valor p	<0,001	<0,001	0,227	0,553	0,389	0,602	0,356	0,002	0,659
2º Dia	Azeite	4,87±2,17 a	4,46±2,12 a	5,66±1,87	5,75±1,93	5,78±1,92	5,65±2,09 a,b	5,72±2,10 b	5,42±1,93 b	5,63±1,85 b
	Pimentão-Doce	5,71±1,86 b	5,62±1,89 b	5,85±1,91	5,84±1,97	5,55±1,82	5,71±2,09 a,b	5,84±2,01 b	5,41±2,12 a,b	5,63±1,93 b
	Piripiri	5,41±1,89 a,b	5,68±1,87 b	5,88±1,97	5,84±1,87	5,22±1,99	5,01±2,19 a	4,89±2,24 a	4,74±2,08 a	4,84±2,26 a
	Orégãos	5,90±2,05 b	5,56±1,94 b	5,96±1,92	6,08±1,70	5,71±1,90	5,78±2,06 b	5,69±2,14 b	5,33±2,06 a,b	5,68±1,99 b
	Valor p	<0,001	<0,001	0,655	0,570	0,107	0,017	0,002	0,029	0,002

As médias com letras diferentes indicadas em cada uma das colunas por dia diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

Juntando os resultados dos dois painéis (Figura 16A), verificou-se que em termos de aspeto geral, as pastas menos apreciadas foram as de azeitona controlo, com uma pontuação de 4,49, e a pasta com azeite (4,87). As restantes pastas forneceram resultados superiores a esses e idênticos entre si.

Relativamente à cor, os consumidores consideraram que as amostras que apresentaram uma cor mais desagradável foram novamente as pastas de azeitona controlo e a pasta com adição de azeite, com pontuações de 4,15 e 4,46, respetivamente. Pelo contrário, a pasta de azeitona com alho (6,00) foi a melhor classificada. Quanto ao cheiro não se observaram diferenças significativas entre as amostras (o valor de p foi superior a 0,05 para ambos os painéis e as pontuações foram idênticas).

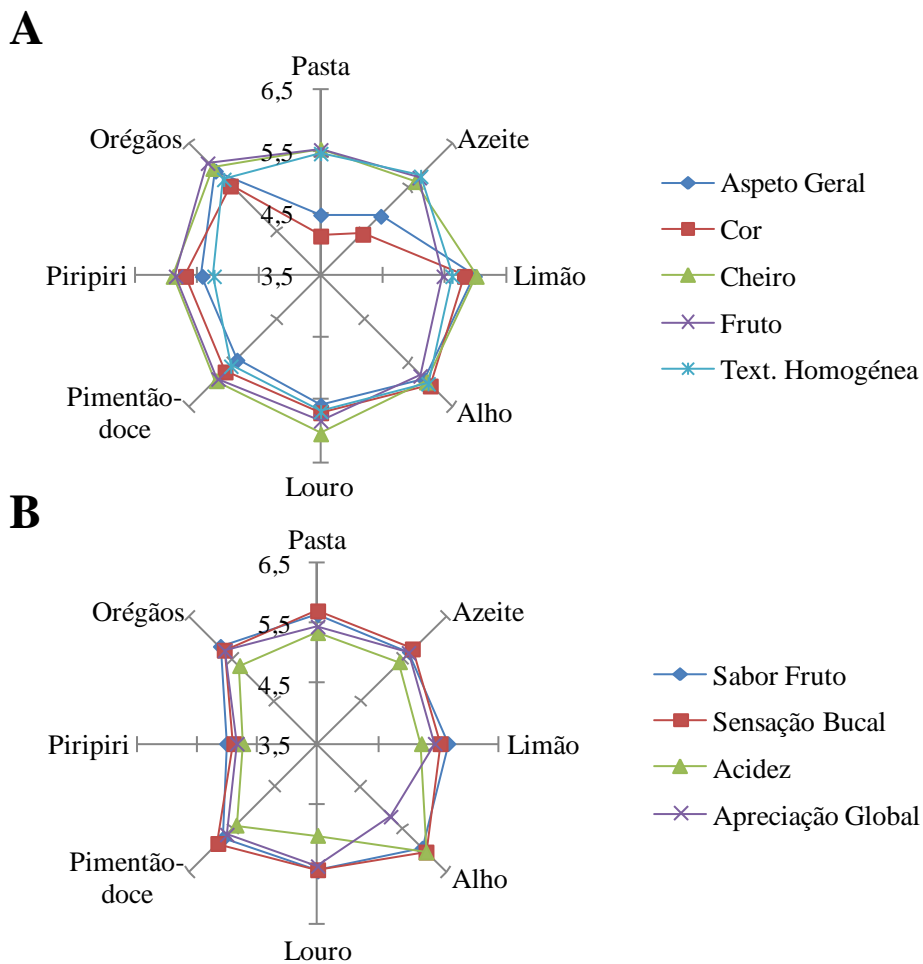


Figura 16. Resultados obtidos para os parâmetros avaliados nas diferentes pastas pelos consumidores.

Na avaliação do cheiro a fruto, a pasta com um cheiro mais agradável foi a pasta de azeitona com louro. Relativamente à textura, as diferentes pastas pouco se distinguiram entre si.

Na avaliação do sabor a fruto (Figura 16B), a pasta com o sabor mais agradável foi a pasta de azeitona com alho (5,95), ao contrário da pasta com piri-piri (5,01). Em relação à sensação bucal, as pastas mais agradáveis foram as de alho (6,04) e pimentão-doce (5,84).

Na classificação da acidez, a pasta menos apreciada pelos consumidores foi a de piri-piri, com uma pontuação de 4,74. Já as pastas de azeitona com alho (6,04) e azeite (5,42) foram as mais apreciadas.

Na apreciação global as pastas de azeitona mais apreciadas pelos provadores foram as de orégãos (5,68), pimentão-doce (5,63) e azeite (5,63), tendo sido as de piri-piri (4,84) e alho (5,21) as menos apreciadas. Em relação à classificação atribuída pelos consumidores, verificou-se que estes classificaram as pastas como gostando ligeiramente, uma vez que os valores médios rondaram o valor de 5.

Na folha de registo foi ainda pedido que os provadores dessem a sua opinião relativamente à compra das diferentes pastas de azeitona. Na Figura 17 encontram-se representados os resultados obtidos. A pasta de azeitona com pimentão-doce foi aquela que obteve a maior percentagem de compra por parte dos consumidores (57,8%), seguida pelas pastas de azeitona com louro (56,5%), orégãos e com azeite (56,2%).

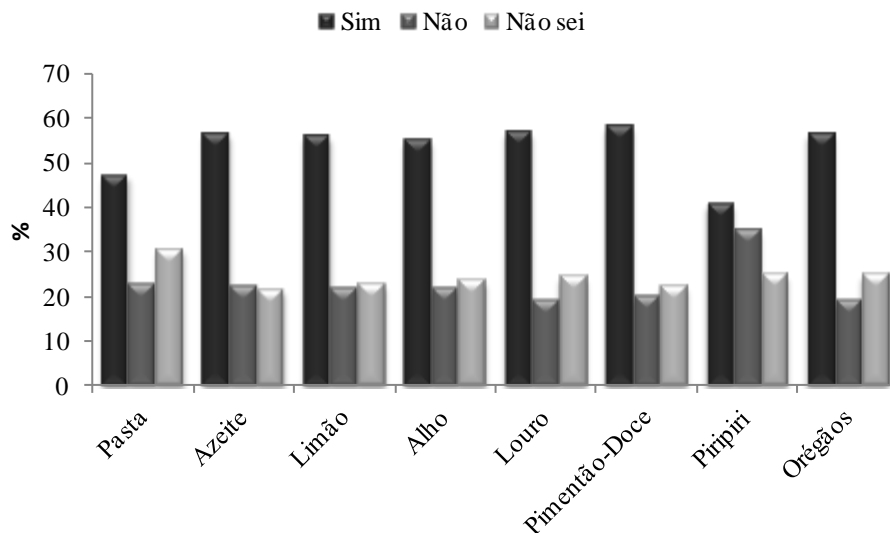
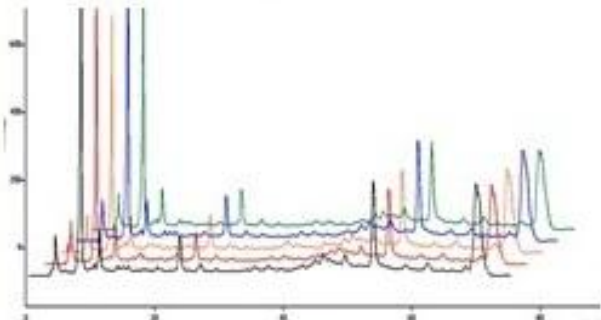


Figura 17. Respostas dadas pelos consumidores à questão de comprarem ou não as pastas de azeitona elaboradas.

Relativamente às pastas de azeitona que os consumidores indicaram não comprar, a pasta com piri-piri destacou-se face às restantes, com 34,7% de respostas negativas. Os consumidores que referiram não comprar no futuro pastas de azeitona, justificaram-se com o facto de não gostarem muito do sabor ou de não gostarem muito de azeitonas.

De entre as amostras que os consumidores responderam que não sabiam se as comprariam ou não, a pasta de azeitona controlo distinguiu-se das restantes, com 30,4% de respostas.

Os consumidores que responderam “Não Sei” à compra das pastas de azeitona, justificaram-se dizendo que até gostavam das diferentes pastas de azeitona testadas, mas que não era hábito consumir este tipo de produto, visto ser um produto recente. Referiram ainda que o seu consumo teria de se tornar um hábito do dia-a-dia.



Capítulo 5

Conclusão

5. CONCLUSÃO

No presente trabalho desenvolveram-se com sucesso diversas pastas de azeitona, tendo por base azeitonas de mesa transmontanas. Para tal utilizaram-se várias especiarias e temperos, muito utilizados na gastronomia mediterrânica, contribuindo para criar pastas com diversos sabores já conhecidos por parte dos consumidores.

Concluiu-se que a adição de sumo de limão às pastas de azeitona fez aumentar a acidez e diminuir o pH. Além disso, verificou-se que o pH de todas as pastas elaboradas foi sempre inferior a 4,0, indicando que as pastas de azeitona elaboradas inibem a germinação de qualquer esporo existente e em particular os de *Clostridium botulinum*, organismo a ter em consideração nos produtos enlatados. Adicionalmente, a adição de sumo de limão impediu que as pastas de azeitona ficassem com uma cor mais escura e menos agradável aos consumidores.

Na avaliação nutricional a pasta de azeitona que apresentou o maior valor energético foi a pasta de azeitona com pimentão-doce, enquanto a pasta de azeitona controlo foi aquela que possuiu o menor valor energético. Concluiu-se que a adição de diferentes especiarias/temperos aumentou o valor energético das pastas de azeitona, sendo o azeite o principal responsável pelo aumento do valor energético.

Na avaliação da atividade antioxidante verificou-se que a adição de especiarias/temperos aumentou o poder redutor das pastas de azeitona em relação à pasta controlo, exceto a pasta de azeitona com sumo de limão. Já na determinação do efeito bloqueador de radicais livres de DPPH, a pasta que apresentou a maior atividade antioxidante foi a pasta de azeitona com azeite, tendo sido aquela que originou o valor de EC₅₀ mais baixo. Pelo contrário as amostras que apresentaram menores efeitos bloqueadores de radicais livres de DPPH foram as pastas de azeitona com orégãos, louro e limão. Nas pastas de azeitona elaboradas foram identificados e quantificados sete compostos fenólicos, designadamente, hidroxitirosol, tirosol, luteolina, hidroxitirosol glicol, ácido clorogénico, ácido siríngico e rutina, sendo os três primeiros os mais abundantes.

Microbiologicamente as pastas de azeitona revelaram uma qualidade microbiológica adequada, sendo por isso consideradas seguras para o consumidor.

Em relação à avaliação organolética das pastas de azeitona elaboradas e tendo em conta a apreciação global, as pastas de azeitona com piri-piri e alho foram as menos

preferidas dos consumidores, diferenciando-se significativamente das restantes. As pastas de azeite, pimentão-doce e orégãos foram as que tiveram melhores classificações. Em relação à futura compra destas pastas de azeitona, os consumidores manifestaram maior preferência pela pasta de azeitona com pimentão-doce, seguida pelas pastas de azeitona com orégãos, louro e azeite. As pastas de azeitona que os provadores manifestaram menos vontade de comprar seriam as de piri-piri e a controlo.

Com a realização deste trabalho concluiu-se que a produção de pastas de azeitona pode surgir como uma alternativa a seguir pela indústria de azeitona de mesa e que pretenda criar novos produtos para aumentar a sua oferta e procurar novos públicos alvo/mercados. Por outro lado a produção de pastas de azeitona pode contribuir para reduzir as perdas causadas por matéria-prima danificada e de menor calibre, que poderá não ter saída, aumentando a rentabilidade da indústria de azeitona de mesa.

Referências Bibliográficas

- Abdullah, A. & Cheng, T.G. (2001). Optimization of reduced calorie tropical mixed fruits jam. *Food Quality and Preference*, **12**, 63-68.
- Aguirrezábal, M.M.; Mateo, J.; Domínguez, M.C. & Zumalacárregui, J.M. (2000). The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Science*, **54**, 77-81.
- Alvarenga, N.B.; Lidon, F.J.C.; Silva, A.; Martins, G.; Cruz, T.; Palma V. & Canada, J. (2012). Production and characterization of green and black olive paste using cream of animal and vegetable origins. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **24**, 12-16.
- Anniva, C. & Tsimidou, M.Z. (2009). On the quality control of “olive paste”, a specialty based on olives and olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **111**, 328–336.
- AOAC (1995), Official Methods of Analysis, 16th Ed, Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA.
- AOAC (2000), Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Ed.; Horwitz, W.; AOAC: Arlington, VA, Vol, II (1-3).
- AOAC Official Method 2005.03. Detection and confirmed quantitation of coliforms and *E. coli* in foods.
- Arroyo-López, F.N.; Querol, A.; Bautista-Gallego, J. & Garrido- Fernández, A. (2008). Role of yeasts in table olive production. *International Journal of Food Microbiology*, **128**, 189–196.
- Arroyo-López, F.N.; Bautista-Gallego, J.; Rodríguez-Gómez, F. & Garrido-Fernández, A. (2010). Predictive microbiology and table olives. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.), Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, pp. 1452-1461. Vol. II, Formatex Research Center, Badajoz, Espanha.
- Bae, H.; Jayaprakasha, G.K.; Jifon, J. & Patil, B.S. (2012). Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. *Food Chemistry*, **130**, 751-758.

- Bautista-Gallego, J.; Rodríguez-Gómez, F.; Barrio, E.; Querol, A.; Garrido-Fernández, A. & Arroyo-López, F.N. (2011). Exploring the yeast biodiversity of green table olive industrial fermentations for technological applications. *International Journal of Food Microbiology*, **147**, 89-96.
- Ben Othman, N.; Roblain, D.; Chammen, N.; Thonart, P. & Hamdi, M. (2009). Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, **116**, 662-669.
- Berker, K.; Güçlü, K.; Tor, I. & Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP) and ferricyanide reagents. *Talanta*, **72**, 1157-1165.
- Blekas, G.; Vassilakis, C.; Harizanis, C.; Tsimidou, M. & Boskou, D.G. (2002). Biophenols in table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3688-3692.
- Borek, C. (2001). Antioxidant health effects of aged garlic extract. *Journal of Nutrition*, **131**, 1010S-1015S.
- Bozin, B.; Mimica-Dukic, N.; Samojlik, I.; Goran, A. & Ijic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, **111**, 925-929.
- Brenes, M.; Garcia, P. & Garrido, A. (1992). Phenolic compounds related to the black color formed during the elaboration of ripe olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **40**, 1192-1196.
- Brenes, M.; Rejano, L.; García, P.; Sánchez, A.H. & Garrido, A. (1995). Biochemical changes in phenolic compounds during Spanish-style green olive processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **43**, 2702-2706.
- Bruni, A.; Ballero, M. & Poli, F. (1997). Quantitative ethnopharmacological study of the Campidano valley and Urzulei district, Sardinia, Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, **57**, 97-124.
- Cardoso, S. M.; Mafra, I.; Reis, A.; Nunes, C.; Saraiva, J. A. & Coimbra, M. A. (2010). Naturally fermented black olives: Effect on cell wall polysaccharides and on enzyme activities of Taggiasca and Conservolea varieties. *Food Science and Technology*, **43**, 153-160.

- Chuah, A.M.; Lee, Y.C.; Yamaguchi, T.; Takamura, H.; Yin, L.J. & Matoba, T. (2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chemistry*, **111**, 20-28.
- Coleman, C.J. (1990). Applications of qualitative research for sensory analysis and product development. *Food Technology*, **44**, 164-174.
- Conde, C.; Delrot, S. & Gerós, H. (2008). Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*, **165**, 1545-1562.
- Codex Alimentarius (2010). Proposed Draft Codex Standard for Table Olives (Revision of Codex Stan 66-1981). <http://www.cclac.org/documentos/CCPFV/2010/3%20COI>
- COI - Conselho Oleícola Internacional (1980). Norma Qualitativa unificada aplicável às azeitonas de mesa e o comércio internacional. Madrid T/TO/Doc. 1.5.
- COI - Conselho Oleícola Internacional (2004). Trade standard applying to table olives. <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/222-standards>. Acedido a 2 de Agosto de 2012.
- COI - Conselho Oleícola Internacional (2011). <http://www.internationaloliveoil.org/modules/search>. Acedido a 15 de Junho de 2012.
- Cornwell, D.G.; Jones, K.H.; Jiang, Z.; Lantry, L.E.; Southwell Keely, P. & Kohar, I. (1998). Cytotoxicity of tocopherols and their quinones in drug-sensitive and multidrug-resistant leukemia cells. *Lipids*, **33**, 295-301.
- Dall'Acqua, S.; Viola, G.; Giorgetti, M.; Loi, M.C. & Innocenti, G. (2006). Two new sesquiterpene lactones from the leaves of *Laurus nobilis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **54**, 1187-1189.
- De Castro, A. & Brenes, M. (2001). Fermentation of washing waters of Spanish-style green olive processing. *Process Biochemistry*, **36**, 797-802.
- Elgayyar M.; Draughon, F.A.; Golden, D.A. & Mount, J.R. (2001). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*, **64**, 1019-1024.
- Escudero-Gilete, M.L.; Meléndez-Martínez, A.J.; Heredia F.J. & Vicario, I.M. (2009). Optimization of olive-fruit paste production using a methodological proposal based on a sensory and objective color analysis. *Grasas y Aceites*, **60**, 396-404.
- FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2010). <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acedido a 15 de Junho de 2012.

- Fernández, A.G.; Díez, M.J.F. & Adams, M.R. (1997). *Table olives, Production and processing*, Chapman & Hall, London, UK.
- Fernández, M.J.; Castro, R.; Garrido, A.; González, F.; González, F.; Nosti, M.; Heredia, A.; Minguez, M.I.; Rejano, L.; Dúran, M.C.; Sánchez, F.; Garcia, P. & Castro, A. (1985). *Biotecnología de la aceituna de mesa*. Servicio de Publicaciones del CSIC. Madrid-Sevilla.
- Ferreira, D.; Guyot, S.; Marnet, N.; Delgadillo, I.; Renard, M.G.C.C. & Coimbra, A.M. (2002). Composition of phenolic compounds in portuguese pear (*Pyrus communis* L. Var. S. Bartolomeu and changes after sun-drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 4537-4544.
- Fujisawa, H.; Suma, K.; Origuchi, K.; Kumagai, H.; Seki, T. & Ariga, T. (2008). Biological and chemical stability of garlic derived allicin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 4229-4235.
- Garrido, A.; García, P. & Brenes, M. (1995). Olive fermentations. H.J. Rem, G. Reed (Eds.), *Biotechnology*, VCH, Weinheim, pp. 593–627.
- García-Closas, R.; Berenguer, A.; Tormo, M.J.; Sanchez, M.J.; Quiros, J.R. & Navarro, C. (2004). Dietary sources of vitamin C, vitamin E and specific carotenoids in Spain. *British Journal of Nutrition*, **91**, 1005-1011.
- García, P.; Brenes, M.; Vattan, T. & Garrido, A. (1992). Kinetic study at different pH of the oxidation process to produce ripe olives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **60**, 327-331.
- García, P.; Brenes, M. & Garrido, A. (1994). Effects of pH and salts on the firmness of canned ripe olives. *Sciences des Aliments*, **14**, 159-172.
- García, P.; Brenes, M.; Romero, C. & Garrido, A. (2001). Color fixation in ripe olives. Effect of the type of iron salt and other processing factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **81**, 1364-1370.
- Gómez, A.H.S.; García, P.G. & Navarro, L.R. (2006). Trends in table olive production, Elaboration of table olives. *Grasas y Aceites*, **57**, 86-94.
- González, M.M.; Navarro, T.; Gómez, G.; Pérez, R.A. & de Lorenzo, C. (2007). Análisis sensorial de aceituna de mesa: II, Aplicabilidad práctica y correlación con el análisis instrumental. *Grasas y Aceites*, **58**, 231-236.

- Grunert, K.; Harmsen, H.; Meulenbergh, M.; Ottowitz, T.; Declerck, F.; Traill, B. & Göransson, G. (1997). A framework for analysing innovation on the food sector. In: Traill, B. & Grunert, K. (Ed.). Product and process innovation in the food industry, pp. 1-33. Blackie Academic & Professional. London.U.K.
- Ha, S.H.; Kim, J.B.; Park, J.S.; Lee, S.W. & Cho, K.J. (2007). A comparison of the carotenoid accumulation in *Capsicum* varieties that show different ripening colours: Deletion of the capsanthin-capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper. *Journal of Experimental Botany*, **58**, 3135-3144.
- Hernández, A.; Martín, A.; Aranda, E.; Pérez-Nevaldo, F. & Córdoba, M.G. (2007). Identification and characterization of yeast isolated from the elaboration of seasoned green table olives. *Food Microbiology*, **24**, 346-351.
- Howard, L.R.; Talcott, S.T.; Brenes, C.H. & Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 1713-1720.
- Hatano, T.; Kagawa, H.; Yasuhara, T. & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**, 2090-2097.
- Hughes, B.G. & Lawson, L.D. (1991). Antimicrobial effects of *Allium sativum* (garlic), *Allium ampeloprasum* (elephant garlic) and *Allium cepa* (onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. *Phytotherapy Research*, **5**, 154-158.
- ISO 15214:1998-Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria - Colony-count technique at 30 degrees C
- ISO 4833:2003-Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms -Colony-count technique at 30 degrees C
- Janoszka, B. (2010). 7-Ketocholesterol and 7-hydroxycholesterol in pork meat and its gravy thermally treated without additives and in the presence of onion and garlic. *Meat Science*, **86**, 976-984.

- Kamkar, A.; Javan, A.J.; Asadi, F. & Kamalinejad, M. (2010). The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 1796-1800.
- Krajayklang, M.; Klieber, A. & Dry, P. (2000). Colour at harvest and post-harvest behaviour influence paprika and chilli spice quality. *Postharvest Biology and Technology*, **20**, 269-278.
- Lawless, H.T. & Michelle, R.C. (1993). Application of the central dogma in sensory evaluation. *Food Technology*, **47**, 139-146.
- Lee, Y.; Howard, L.R. & Villalon, B. (1995). Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *Journal of Food Science*, **60**, 473-476.
- Lim, H.S.; Park, S.H.; Ghafoor, K.; Hwang, S.Y. & Park, J. (2011). Quality and antioxidant properties of bread containing turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivated in South Korea. *Food Chemistry*, **124**, 1577-1582.
- Loi, M.C.; Poli, F.; Sacchetti, G.; Selenu, M.B. & Ballero, M. (2004). Ethnopharmacology of ogliastra (Villagrande Strisaili, Sardinia, Italy). *Fitoterapia*, **75**, 277-295.
- Malheiro, R.; Sousa, A.; Casal, S.; Bento, A. & Pereira, J.A. (2011a). Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives. *Food and Chemical Toxicology*, **49**, 449-456.
- Malheiro, R.; Guedes de Pinho, P.; Casal, S.; Bento, A. & Pereira, J.A. (2011b). Volatile profile of stoned table olives from different varieties by HS-SPME and GC/IT-MS. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **91**, 1693-1701.
- 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.
- Marsilio, V.; Campestre, C. & Lanza, B. (2001). Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing. *Food Chemistry*, **74**, 55-60.
- Matsufuji, H.; Nakamura, H.; Chino, M. & Takeda, M. (1998). Antioxidant activity of capsantin and the fatty acid esters in paprika (*Capsicum annuum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **46**, 3468-3472.

- Marín, F.R.; Martínez, M.; Uribesalgo, T.; Castillo, S. & Frutos, M.J. (2002). Changes in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems. *Food Chemistry*, **78**, 319-324.
- Menéndez, J.A.; Vázquez-Martín, A.; Colomer, R.; Carrasco-Pancorbo; García-Villalba, A. R. & Fernández-Gutiérrez A. (2007). Oleuropein aglycone, the bitter principle of olives and olive oil, is a potent anti-HER2 oncogene agent capable to reverse breast cancer acquired autoresistance to trastuzumab (Herceptin). *BMC Cancer*, **7**, 1-19.
- Moldão-Martins, M.; Berião-da-Costa, S.; Neves, C.; Cavaleiro, C.; Salgueiro, L. & Beirão-da-Costa, M.L. (2004). Olive oil flavoured by the essential oils of *Mentha x piperita* and *Thymus mastichina* L.. *Food Quality and Preference*, **15**, 447-452.
- Moskowitz, H.; Gofman, A. & Beckley, J. (2005). Using high-level consumer-research methods to create a tool-driven guidebook and database for product development and marketing. *Journal of Sensory Studies*, **21**, 54-100.
- Moure, A.; Cruz, J.M.; Franco, D.; Dominguez, J.M.; Sineiro, J.; Dominguez, H.; Nunez, M.J. & Parajo, J.C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, **72**, 145-171.
- Muñoz, A.M.; Civille, G.V. & Carr, B.T. (1992). Sensory evaluation in quality control, Van Nostrand Reinhold, New York.
- Namiki, M. (1990). Antioxidants/antimutagens in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **29**, 273-300.
- Ngo, S.N.; Williams, D.B.; Cobiac, L. & Head, R.J. (2007). Does garlic reduce risk of colorectal cancer? A systematic review. *Journal of Nutrition*, **137**, 2264-2269.
- Nogueira, F. (2012). Contribuição para a caracterização de “Azeitonas de mesa mistas ao natural” produzidas de forma tradicional em Trás-os-Montes: aspectos morfológicos, químicos e microbiológicos. *Dissertação para obtenção de grau de mestre em Qualidade e Segurança Alimentar*. Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, pp-97.
- Norma Portuguesa (NP) 3034, 1987, Derivados de frutos e de produtos hortícolas, Azeitonas de mesa, Definição, classificação, características, acondicionamento e marcação.

- Norma Portuguesa (NP) 3034, 2012, Azeitonas de mesa: definição, classificação, características, acondicionamento e rotulagem .
- Nout, M.J.R. & Rombouts, F.M. (2000). Fermented and Acidified Plant Foods, *In: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. The Microbiological Safety and Quality of Food*. Volume I. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Nychas, G.J.E.; Panagou, M.L.; Waldron, K.W. & Tassou, C.C. (2002). Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Letters in Applied Microbiology*, **34**, 173-177.
- Oktay, M.; Gülçin, I. & Küfrevioğlu, ÖI. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **36**, 263-271.
- Omar, S.H. & Al-Wabel, N.A. (2010). Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **18**, 51-58.
- Osuna-Garcia, J.A.; Wall, M.M. & Waddell, C.A. (1998). Endogenous levels of tocopherols and ascorbic acid during fruit ripening of new Mexican-type Chile (*Capsicum annum* L.) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **46**, 5093-5096.
- Owen, R.W.; Giacosa, A.; Hull, W.E.; Haubner, B.; Spiegelhalter, B. & Bartsch, H. (2000). Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clinical Chemistry*, **46**, 976-988.
- Owen, R. W.; Haubner, R.; Mier, W.; Giacosa, A.; Hull, W. E.; Spiegelhalter, B. & Bartsch, H. (2003). Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and Chemical Toxicology*, **41**, 703-717.
- Özcan, M.M. & Arslan, D. (2011). Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. *Food Chemistry*, **129**, 171-174.
- Panagou, E.Z; Schillingerb, U.; Franz, C.M.A.P. & Nychas, E. (2008). Microbiological and biochemical profile of Cv. Conservolea naturally black olives during controlled fermentation with selected strains of lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, **25**, 348-358.
- Pecore, S. & Kellen, L. (2002). A consumer-focused QC/sensory program in the food industry. *Food Quality and Preference*, **13**, 369-374.

- Pereira, J.A., Pereira, A.P.G., Ferreira, I.C.F.R., Valentão, P., Andrade, P.B., Seabra, R., Estevinho, L. & Bento, A. (2006). Table olives from Portugal: phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 8425-8431.
- Piga, A.; Gambella, F.; Vacca, V. & Agabbio, M. (2001). Response of three Sardinian olive cultivars to Greek-style processing. *Italian Journal of Food Science*, **13**, 29-40.
- Podsdek, A. (2007). Natural antioxidant and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Food Science and Technology*, **40**, 1-11.
- Pokorny, J. (1991). Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science and Technology*, **9**, 223-227.
- Puertas-Mejia, M.; Hillebrand, S.; Stashenko, E. & Winterhalter, P. (2002). *In vitro* radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **17**, 380-384.
- Queiroz, Y.S.; Ishimoto, E.Y.; Bastos, D. & Torres, E. (2009). Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to-eat garlic products: *In vitro* antioxidant activity. *Food Chemistry*, **115**, 371-374.
- Quintana, M.O.D.; Barranco, C.R.; García, P.G.; Balbuena, M.B. & Fernández, A.G. (1997). Bacterias del ácido láctico en la fermentación de aceitunas de mesa. *Grasas y Aceites*, **48**, 297-311.
- Regulamento (CEE) N°2081/92 do Conselho "Azeitonas de Conserva de Elvas e Campo Maior", (2005).
- Rice-Evans, C.; Miller, N. & Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, **20**, 933-956.
- Romeo, F.V.; Piscopo, A.; Mincione, A. & Poiana, M. (2012). Quality evaluation of different typical table olive preparations (cv Nocellara del Belice). *Grasas y aceites*, **63**, 19-25.
- Romero, C.; García, P.; Brenes, M.; García, A. & Garrido, A. (2002). Phenolic compounds in natural black Spanish olive varieties. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **215**, 489-496.

- Romero, C.; Brenes, M.; Yousfi, K.; Garcia, P.; Garcia, A. & Garrido, A. (2004a). Effect of cultivar and processing method on the contents of polyphenols in table olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 479-484.
- Romero, C.; Brenes, M.; Garcia, P.; Garcia, A. & Garrido, A. (2004b). Polyphenol changes during fermentation of naturally black olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 1973-1979.
- Sakouhi, F.; Harrabi, S.; Absalon, C.; Sbei, K.; Boukhchina, S. & Kallel, H. (2008). α -Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives (*Olea europaea* L.): Changes in their composition during ripening and processing. *Food Chemistry*, **108**, 833-839.
- Santos, M.I.; Correia, C.; Cunha, M.I.C.; Saraiva, M.M. & Novais, M.R. (2005). Valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*, **64**, 66-68.
- Schmidt-Hebbel, H.; Pennacchiotti, I.; Masson, L., & Mella, M.A. (1992). Tabla de composición química de alimentos chilenos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química, Universidad de Chile, Octava edición, Edición Digital.
- Simopoulos, A. (2001). The Mediterranean Diets: What is so important about the diet of Greece? The scientific evidence. *Journal of Nutrition*, **131**, 3065S-3073S.
- Skerget, M.; Kotnik, P.; Hadolin, M.; Hras, A.R.; Simonic, M. & Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, **89**, 191-198.
- Sokovic, M.; Tzakou, O.; Pitarokili, D. & Couladis, M. (2002). Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. *Nahrung*, **46**, 317-320.
- Sousa, A.; Ferreira, C.F.R.I.; Calhelha, R.; Andrade, P.B.; Valentão, P.; Seabra, R.; Estevinho, L.; Bento, A. & Pereira, J.A (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives “alcaparras”. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **14**, 8533-8538.
- Sousa, A.; Ferreira, C.F.R.I.; Barros, L.; Bento, A. & Pereira, J.A (2008). Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “alcaparras”. *Food Science and Technology*, **41**, 739-745.

- Sousa, A.; Casal, S.; Bento, A.; Malheiro, R.; Beatriz, M.; Oliveira, P.P. & Pereira, J.A. (2011). Chemical Characterization of “Alcaparras” Stoned Table Olives from Northeast Portugal. *Molecules*, **16**, 9025-9040.
- Srinivas, C.; Sai Pavan Kumar C.N.S.; Jayathirtha Rao, B.V.; Naidu, V.G.M. & Ramakrishna, S. (2009). First stereo selective total synthesis and anticancer activity of new amide alkaloids of roots of pepper. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **19**, 5915-5918.
- Tajkarimi, M.M.; Ibrahim, S.A. & Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, **21**, 1199-1218.
- Thomson, M.; Al-Qattan, K.K.; Bordia T. & Ali, M. (2006). Including garlic in the diet may help lower blood glucose, cholesterol, and triglycerides. *Journal of Nutrition*, **136**, 800S-802S.
- Tchone, M.; Barwald, G. & Meier, C. (2005) Polyphenoloxidases in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *British Food Journal*, **107**, 693-701.
- Uccella, N. (2001). Olive biophenols: novel ethnic and technological approach. *Trend in Food and Science & Technology*, **11**, 328-339.
- Vaio, C. D.; Grazianib, G.; Gasparib, A.; Scaglionea, G.; Nocerinoa, S. & Ritieni A. (2010). Essential oils content and antioxidant properties of peel ethanol extract in 18 lemon cultivars. *Scientia Horticulturae*, **126**, 50-55.
- Vale-Silva, L.; Silva, M.J.; Oliveira, D.; Gonçalves, M.J.; Cavaleiro, C.; Salgueiro, L. & Pinto, E. (2012). Correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* subsp. *virens* with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. *Journal of Medical Microbiology*, **61**, 252-60.
- Van-Gils, C.H.; Peeters, P.H.M; Bueno-de-Mesquita, H.B.; Boshuizen, H.C.; Lahmann, P.H.; Clavel-Chapelon, F.; Thiebaut, A.; Kesse, E.; Sieri, S. & Palli D. (2005). Consumption of vegetables and fruits and risk of breast cancer. *Journal of the American Medical Association*, **293**, 183-193.
- Vinha, A.F.; Ferreres, F.; Silva, M.S.; Valentão, P.; Gonçalves, A.; Pereira, J.A.; Oliveira, M.B.; Seabra, R.M. & Andrade, P.B. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, **89**, 561-568.
- Visioli, F. & Galli, C. (2001). The role of antioxidants in the mediterranean diet. *Lipids*, **36**, S49-S52.

- Yantis, J.E. (1992). Introduction/program objectives for plant sensory function in QA/QC programs, In Yantis JE (Ed.) *The role of sensory analysis in quality control* (ASTM Manual Series: MNL 14, pp, 1), American Society for Testing and Materials, Philadelphia, pp, 1.
- Zheng, W. & Wang, S. (2001). Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 5165–5170.