

Contributo para a caracterização físico-química e biológica de azeitonas de mesa de oliveiras centenárias obtidas por cura natural

Joana Margarida Melo de Sousa

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

Orientado por
Prof. Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa
Doutor Nuno Miguel Sousa Rodrigues

**Bragança
2023**

Agradecimentos

Ao entregar este trabalho, quero agradecer a todos que de alguma forma contribuíram para a sua realização.

Em primeiro lugar quero agradecer aos meus orientadores, Professora Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa e ao Professor Doutor Nuno Miguel Sousa Rodrigues, da Escola Superior Agrária de Bragança, por toda a ajuda prestada na realização do trabalho escrito e durante todo o trabalho laboratorial, pela disponibilidade e paciência e por todos os conhecimentos transmitidos ao longo deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, pelos conhecimentos transmitidos e auxílio no trabalho laboratorial.

Aos meus amigos, por todo o suporte e encorajamento que me prestaram e por toda amizade que sempre mostraram.

Quero agradecer principalmente à minha família, nomeadamente os meus pais e irmãos, que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado em todas as etapas para que pudesse atingir todos os meus objetivos. Por todo o seu esforço, paciência e amor que sempre demonstraram.

O trabalho que se apresenta teve o apoio financeiro de:

Projeto: OLIVECOA - Oliveiras centenárias do Vale do Côa: redescobrir o passado para valorizar o futuro “COA/BRB/0035/2019”, financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT, Portugal)



Cofinanciado por:



Índice

Resumo	viii
Abstract.....	x
1. Enquadramento e Objetivos	2
2. Introdução.....	5
2.1. Importância das oliveiras	5
2.2. Cultivares de oliveiras cultivadas em Portugal.....	7
2.2.1. Cultivares com aptidão para produção de azeitona de mesa	8
2.3 Azeitona de mesa	10
2.4 Tipos de processamento a aplicar à azeitona de mesa	11
2.4.1. Estilo Sevilhano.....	12
2.4.2. Estilo Californiano	12
2.4.3. Fermentação natural	13
2.5 Oliveiras centenárias e a sua importância	14
3. Material e métodos	17
3.1 Amostragem	17
3.2 Caracterização morfológica	17
3.2.1 Parâmetros biométricos no fruto e endocarpo.....	17
3.2.2 Relação polpa/ caroço	18
3.2.3 Textura.....	18
3.2.4 Determinação da cor.....	19
3.2.5 Teor de humidade	20
3.2.6 Teor de cinzas.....	20
3.2.7 Teor de Sódio	21
3.2.8 Teor de proteína.....	22
3.2.10. Composição em ácidos gordos	23

3.2.11. Capacidade redutora total e atividade antioxidante.....	23
3.2.11.1 Capacidade redutora total	24
3.2.11.2 Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH.....	24
3.2.11.3 Poder redutor	25
3.2.11.4 Método de redução de ferro (FRAP)	25
3.2.12. Análise sensorial.....	26
3.3 Análise estatística.....	27
4. Resultados e Discussão.....	29
4.1 Carpometria.....	29
4.1.1 Relação polpa/caroço	31
4.2 Cor.....	32
4.3 Textura	34
4.4 Composição nutricional	37
4.5 Ácido gordos	39
4.6 Antioxidantes	42
4.7 Análise sensorial	44
4.8 Análise estatística.....	49
5. Conclusão	52

Índice de Tabelas

Tabela 1. Produção de azeitona a nível nacional (Fonte: INE, 2022b).	5
Tabela 2. Destino da produção de azeitona em Portugal (Fonte: INE, 2023).	6
Tabela 3. Área de olival em Portugal (Fonte: INE, 2022a).	6
Tabela 4. Cultivares de oliveiras autóctones (Fonte: Leitão, 1986).	8
Tabela 5. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e os valores mínimos e máximos dos parâmetros avaliados nos frutos e endocarpos.	29
Tabela 6. Classificação do parâmetro biométrico peso nos frutos e endocarpos	29
Tabela 7. Classificação da forma dos frutos e endocarpos.	30
Tabela 8. Resultados do peso do fruto e endocarpo para a relação polpa/caroço.	31
Tabela 9. Média, desvio-padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos dos parâmetros de cor.	33
Tabela 10. Média, desvio-padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos dos parâmetros avaliados na textura.	35
Tabela 11. Classificação por grupos para cada parâmetro.	36
Tabela 12. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimo e máximo da composição nutricional das azeitonas provenientes de oliveiras centenárias e sujeitas a fermentação natural.	38
Tabela 13. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em ácidos gordos saturados (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	40
Tabela 14. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em ácidos gordos monoinsaturados (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	41
Tabela 15. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em ácidos gordos polinsaturados (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	41
Tabela 16. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em isómeros <i>trans</i> (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	42

Tabela 17. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da atividade antioxidante determinada nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	43
Tabela 18. Intervalos considerados para agrupar os resultados obtidos na análise da atividade antioxidante.....	43
Tabela 19. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da fermentação anormal e outros defeitos determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	46
Tabela 20. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos dos parâmetros sensoriais (salgado, amargo, ácido, dureza, fibrosidade e crocância) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	47

Índice de Figuras

Figura 1. Frutos colocados em salmoura pelo método de cura natural.	17
Figura 2. Parâmetros biométricos no fruto e endocarpo.	18
Figura 3. Determinação da Textura.	19
Figura 4. Determinação da cor.	19
Figura 5. Fruto após pesagem pela estufa a 105 °C.	20
Figura 6. Determinação do teor de cinzas.	21
Figura 7. Determinação do teor de sódio.	22
Figura 8. Preparação dos extratos a partir das azeitonas das oliveiras centenárias.	24
Figura 9. Folha de prova utilizada na avaliação sensorial das azeitonas.	27
Figura 10. Identificação das classes das amostras em relação ao peso.	30
Figura 11. Identificação da forma dos frutos e endocarpos.	31
Figura 12. Classificação das amostras pelos parâmetros L*, a*, b*, c* e h.	34
Figura 13. Identificação por grupos de classificação dos parâmetros analisados na medição de textura.	37
Figura 14. Identificação por grupos de classificação para os métodos utilizados na determinação da atividade antioxidante: (A) Capacidade Redutora Total; (B) DPPH; (C) Poder Redutor; e (D) FRAP, determinada nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	44
Figura 15. Parâmetros avaliados na análise sensorial realizada às azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.	45
Figura 16. Percentagem (%) de defeitos encontrados na prova sensorial.	46
Figura 17: Identificação das amostras classificadas em grupos (parâmetros: salgado, amargo, ácido, dureza, fibrosidade e crocância).	48
Figura 18. Identificação de classes (categoria extra; categoria 1; categoria 2 e categoria em que não se considera azeitona de mesa).	48

Resumo

As oliveiras centenárias são muito importantes para a valorização do seu patrimônio genético, bem como os produtos que delas resultam. Um pouco por toda a região transmontana pode-se encontrar um grande número de exemplares de oliveiras centenárias que têm um papel importante para a região, mas que nos últimos anos têm sido abandonadas ou substituídas por outras culturas mais sustentáveis. Assim, identificar e caracterizar as azeitonas destas oliveiras é um passo importante para poder agregar valor a estes exemplares únicos e a novos produtos que possam ser criados futuramente de modo a preservar este patrimônio. As azeitonas produzidas em olivais centenários são utilizadas maioritariamente para a produção de azeite. No entanto, existe pouca informação sobre as azeitonas de mesa geradas a partir destas oliveiras. De forma a obter-se informação sobre este tópico, no presente trabalho foram estudadas 28 amostras de azeitona de mesa provenientes de oliveiras centenárias da região do Vale do Côa, zona onde existem alguns desses exemplares. Procedeu-se à determinação de diversos parâmetros físico-químicos, tais como, biométricos, textura, cor, humidade, cinzas, sódio, potássio, proteína, perfil em ácidos gordos, atividade antioxidante (através dos métodos capacidade redutora total, atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Poder redutor e Poder Antioxidante de Redução do Ião Férrico (FRAP)) e avaliação sensorial. Relativamente ao peso, 96% dos frutos apresentaram massas entre as 2 e as 4 gramas, apresentando os restantes 4% massas superiores, entre as 4 e as 6 gramas. Em relação ao endocarpo, em 78% das amostras, este apresentou valores entre 0,45 e 0,70 g. A maior parte dos frutos (71%) apresentou a forma ovoide, enquanto 18% apresentaram a forma alongada e 11% a forma esférica, sugerindo a existência de mistura de cultivares. Em 79% das amostras, os endocarpos apresentaram a forma elítica. Os frutos também se distinguiram na cor com 46% das amostras com luminosidades entre os 40 e 45 (exclusive) e 96% das amostras com valores de tonalidade (h) entre os 45 e inferior a 90. Na textura avaliada instrumentalmente foram detetadas diferenças entre as amostras, tendo a dureza, fraturabilidade, elasticidade, coesividade, mastigabilidade e resiliência variado entre 3462 e 18451 g, 3468 e 18113 g, 0,39 e 0,72, 0,20 e 0,55, 542 e 2469, e 0,09 e 0,34, respetivamente. Em termos nutricionais, as azeitonas apresentaram as seguintes características: humidade (54,65 a 71,81%), cinzas

(8,11 a 20,02%, p.s.), proteínas (2,11 a 6,62%, p.s.), sal (0,5 a 7,8 g NaCl/100 g p.s.), sódio (198 a 3048 mg Na/100 g p.s.) e potássio (23 a 518 mg K/100 g p.s.). Entre os ácidos gordos, os monoinsaturados (MUFA) se destacaram (74,3±5,3%), tendo sido o ácido oleico (C_{18:1}) o maioritário. Os ácidos gordos saturados (SFA) apresentaram uma proporção média igual a 16,4±1,6% e os polinsaturados (PUFA) a 9,35±5,0%, destacando-se o ácido linoleico (C_{18:2}) com valores a variarem entre 2,53 e 16,36%. Já o ácido linolénico (C_{18:3}) apresentou valores inferiores a 2%. Em relação à atividade antioxidante, as amostras variaram entre si, com valores de capacidade redutora total entre os 8,51 e 19,38 mg ácido gálico/g p.s., atividade sequestradora do radical livre DPPH entre 3,89 e 21,98 mg trolox/g p.s., poder redutor entre 21,07 e 54,43 mg trolox/g p.s. e FRAP entre 19,42 e 41,49 mg FeSO₄.7H₂O/g p.s. Em relação à análise sensorial, entre os defeitos detetados, o avinhado foi o maioritário (53% das amostras), mofo (28%), pútrido (14%) e sapateira (5%). Contudo, deve ser referido que 66% das amostras foram classificadas como sendo de categoria extra, o que demonstra o seu potencial que deverá ser valorizado no futuro.

Palavras-chave: *Olea europaea* L.; oliveiras centenárias; valorização; fermentação natural; Vale do Côa;

Abstract

Centenarian olive trees are very important for the enhancement of their genetic heritage, as well as the products that result from them. Throughout the region of Trás-os-Montes, many centenarian olive trees can be seen playing an important role in the area, but in recent years, they have been abandoned or replaced by other more sustainable crops. Therefore, identifying and characterizing the olives from these trees is an important step towards adding value to these unique specimens and to new products that can be created in the future in order to preserve this heritage. The olives produced in centenarian olive groves are mostly used to produce olive oil. However, there is little information on the table olives grown in these trees. To obtain more knowledge on this topic, 28 samples of table olives from centenarian olive trees in the Vale do Côa region were studied in this study. Various physicochemical parameters were determined, such as biometrics, texture, colour, humidity, ash, sodium, potassium, protein, fatty acid profile, antioxidant activity (using the Total Reducing Capacity, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, Reducing Power and Ferric Reduction Antioxidant Power (FRAP) methods) and sensory evaluation. Regarding weight, 96% of the fruit had masses between 2 and 4 g, with the remaining 4% having higher masses, between 4 and 6 g. With regard to the endocarp, 78% of the samples weighed between 0.45 and 0.70 g. Concerning the shape, most of the fruits (71%) were ovoid, while 18% were elongated and 11% spherical, suggesting a mixture of cultivars. In 79% of the samples, the endocarps were elliptical in shape. The fruits also differed in colour, with 46% of the samples having luminosities between 40 and 45 (exclusive) and 96% having hue values between 45 and less than 90. Differences were detected between the samples in terms of texture, with hardness, fracturability, elasticity, cohesiveness, chewiness and resilience varying between 3462 and 18451 g, 3468 and 18113 g, 0.39 and 0.72, 0.20 and 0.55, 542 and 2469, and 0.09 and 0.34, respectively. In nutritional terms, the olives had the following characteristics: moisture (54.65 to 71.81%), ash (8.11 to 20.02%, d.w.), protein (2.11 to 6.62%, d.w.), salt (0.5 to 7.8 g NaCl/100 g d.w.), sodium (198 to 3048 mg Na/100 g d.w.) and potassium (23 to 518 mg K/100 g d.w.). Among the fatty acids, the monounsaturated fatty acids (MUFA) stood out ($74.3 \pm 5.3\%$), with oleic acid ($C_{18:1}$) being the major. The saturated fatty acids (SFA) had an average proportion of $16.4 \pm 1.6\%$ and the polyunsaturated fatty acids

(PUFA) $9.35 \pm 5.0\%$, with linoleic acid ($C_{18:2}$) standing out with values varying between 2.53 and 16.36 %. Linolenic acid ($C_{18:3}$) showed values of less than 2%. In terms of antioxidant activity, the total reducing capacity values varied between 8.51 and 19.38 mg gallic acid/g d.w., the DPPH free radical scavenging activity varied between 3.89 and 21.98 mg trolox/g d.w., the reducing power between 21.07 and 54.43 mg trolox/g d.w. and FRAP between 19.42 and 41.49 mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ /g d.w.. With regard to the sensory analysis, among the defects detected, winey–vinegary was the most common (53% of the samples), mould (28%), putrid (14%) and *zapateria* (5%). However, it should be noted that 66% of the samples were classified as extra category, demonstrating their potential that should be valorized in the future.

Keywords: *Olea europaea* L.; centenarian olive trees; appreciation; natural fermentation; Vale do Côa;

A close-up photograph of an olive branch with several dark olives and silvery-green leaves. The image is slightly blurred and has a warm, yellowish-green tint. The text is overlaid on the lower half of the image.

Capítulo 1

Enquadramento e
objetivos

1. Enquadramento e Objetivos

A oliveira é uma árvore milenar que se estendeu amplamente por toda a zona mediterrânica (Sales et al., 2021). Na União Europeia, Espanha, Itália, Grécia, Portugal e França destacam-se como países produtores de azeite. Contudo, as azeitonas de mesa são também um produto tradicional do mediterrâneo e um dos componentes mais importantes da dieta mediterrânica (Pereira et al., 2008). A azeitona foi inicialmente utilizada para a extração de azeite. No entanto com o passar do tempo, começou a ser utilizada para consumo direto, sendo atualmente a azeitona de mesa produzida segundo diferentes métodos de preparação (Asemesa, 2019). As oliveiras apresentam uma variação considerável no tamanho, forma, e conteúdo em óleo dos seus frutos. Existem centenas de cultivares distintas, e em diferentes partes da bacia do Mediterrâneo é frequente encontrar cultivares específicas (Chalak et al., 2015). Atualmente, os métodos oficiais usados para caracterizar e identificar cultivares em oliveiras ainda se baseiam na caracterização morfológica e observações do fenótipo. Esta metodologia requer tempo e as características morfológicas podem estar dependentes de influências ambientais (Alves, 2007). Contudo, é uma das metodologias mais aplicada. Adicionalmente, as cultivares das oliveiras podem ser divididas em dois tipos principais de aptidão: as utilizadas para a produção de azeite e as utilizadas para a produção de azeitona de mesa. Contudo, existem cultivares que são usadas para os dois fins, denominadas de dupla aptidão (Alves, 2007). Existe ainda a caracterização genética através de marcadores moleculares. Estes marcadores são utilizados para caracterizar o genótipo das diversas variedades de azeitona (Bandelj et al., 2004). Como a maioria das cultivares modernas deriva do cruzamento de cultivares mais antigas, fazendo com que a classificação do germoplasma seja mais complicada, é possível utilizar marcadores moleculares que oferecem uma nova oportunidade para a caracterização genética das cultivares e para estudar a sua biodiversidade (Cordeiro et al., 2008).

Em Portugal, são maioritariamente utilizadas 22 cultivares para a produção de azeite e azeitona de mesa (Leitão, 1986), destacando-se o Alentejo e Trás-os-Montes como principais regiões produtoras (INE, 2022a). A cultivar mais utilizada em Portugal é a Galega, mas existem outras que ocupam áreas significativas na região de Trás-os-

Montes. As azeitonas colhidas não podem ser diretamente consumidas, uma vez que possuem altos teores de compostos fenólicos responsáveis pelo sabor amargo e adstringente sentido nas azeitonas. Estas precisam passar por um tratamento que permita tornar as azeitonas edíveis e agradáveis ao consumidor (Huertas-Alonso et al., 2022).

A fermentação natural é método mais comum aplicado na região de Trás-os-Montes. No entanto, existem outros métodos, tais como, o método sevilhano e o método californiano.

À região de Trás-os-Montes está associada uma paisagem de olival tradicional, com diversas oliveiras centenárias, cuja azeitona, resultado da sua qualidade, poderá contribuir para o aumento e valorização das explorações olivícolas.

O presente trabalho foi elaborado no âmbito do Projeto “OLIVECOA - Oliveiras centenárias do Vale do Côa: redescobrir o passado para valorizar”, onde se analisaram 28 amostras de azeitonas provenientes de árvores centenárias, sujeitas a cura natural da região do Vale do Côa, de forma a caracterizar este produto e no futuro valorizá-lo.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo principal contribuir para a caracterização e valorização de azeitonas de mesa de oliveiras centenárias, determinando vários parâmetros físico-químicos e sensoriais.



Capítulo 2

Introdução

2. Introdução

2.1.Importância das oliveiras

A oliveira é uma cultura que está mais presente em zonas onde existe um clima com características mediterrânicas, onde o verão é quente e seco e o inverno é temperado (Escobar & Rallo, 2008). Em termos globais, a nível mundial, cerca de 3,2 milhões de toneladas de azeite e 2,8 milhões de toneladas de azeitona de mesa são produzidas todos os anos. Contudo, a produção varia muito de ano para ano (IOC, 2022a). De acordo com o Conselho Oleícola Internacional (IOC), a produção de azeitona de mesa, a nível mundial está estimada em 2,8 milhões de toneladas e a produção de azeite em 3,2 milhões de toneladas, no ano de 2020/2021, sendo previsível que seja ligeiramente superior a 2021/22. Na União Europeia, o consumo de azeitona de mesa é de 22%, representando em Portugal somente 0,7% (IOC, 2022a). Em 2021, os dados provisórios segundo as estatísticas do IOC, mostram que Espanha é o maior produtor, a nível mundial, de azeitona de mesa, seguindo-se o Egito que marca o segundo lugar. Portugal ocupa o 13º lugar no ranking mundial. Face aos dados dos países da união Europeia, Portugal encontra-se em 4º lugar (IOC, 2022b). Em 2021, registou-se uma produção de azeitona em Portugal de 1 350 238 toneladas (INE, 2022b) (Tabela 1).

Tabela 1. Produção de azeitona a nível nacional (Fonte: INE, 2022b).

Local de proveniência da azeitona	Produção de azeitona (t) anual
Portugal	1 350 238
Entre Douro e Minho	3 946
Trás-os-Montes	113 727
Beira Litoral	32 745
Beira Interior	48 593
Ribatejo e Oeste	66 474
Alentejo	1 076 679
Algarve	8 045
Açores	0
Madeira	0

As previsões agrícolas apontam para decréscimos na produção de azeitona de menos 40% face ao ano anterior, em resultado da escassa precipitação e das elevadas temperaturas (INE, 2022c), sendo que 26 mil toneladas são destinadas a azeitona de mesa e 1 350 mil toneladas destinadas à produção de azeite (INE, 2023) (Tabela 2).

Tabela 2. Destino da produção de azeitona em Portugal (Fonte: INE, 2023).

Azeitonas Destinadas para a produção (t) de:	Azeitona	Azeite
Portugal	26 000	1 350 000

A área de olival em Portugal é a quarta maior da União Europeia. Em 2021, a área nacional de olival era próxima dos 388 mil ha. A nível nacional, o maior produtor é o Alentejo com mais de 200 mil ha, seguindo-se Trás-os-Montes com cerca de 81 mil ha, tal como mostrado na Tabela 3 (INE, 2022a).

Tabela 3. Área de olival em Portugal (Fonte: INE, 2022a).

Localização geográfica	Olival (ha)
Portugal	380 412
Entre Douro e Minho	980
Trás-os-Montes	81 610
Beira Litoral	15 559
Beira Interior	48 753
Ribatejo e Oeste	22 609
Alentejo	201 474
Algarve	9 428
Açores	0
Madeira	0

No cenário agrícola mediterrânico, tanto o abandono como a intensificação têm sido particularmente relevantes nos olivais tradicionais. A olivicultura tradicional é mais predominante na Região de Trás-os-Montes, sendo um sistema de cultivo de baixa intensidade, associado a uma baixa densidade de oliveiras velhas, ausência de irrigação, insumos mínimos de pesticidas e fungicidas e um baixo grau de mecanização (Gomes et

al., 2020). As árvores são plantadas com distância suficiente para lhes dar espaço, atingindo assim o seu tamanho natural total (Warnert, 2011).

Os olivais são altamente sustentáveis ambientalmente, suportando altos níveis de biodiversidade e baixas taxas de erosão do solo, e desempenhando um importante papel socioeconómico e um papel crucial para a conservação e de subsistência da agrobiodiversidade nas áreas rurais (FAO, 2018).

Embora os olivais tradicionais sejam plantados em baixa densidade e sejam de sequeiro, muitos olivais mais novos são plantados em densidades mais altas e irrigados. Com o interesse de aumentar o rendimento por hectare, reduzir os custos de mão-de-obra e trazer rapidamente as plantações de oliveiras para a produtividade máxima, foram desenvolvidas as plantações de alta densidade (Warnert, 2011). No Alentejo predominam estes olivais, sendo eles os responsáveis pela maior produção em Portugal.

2.2. Cultivares de oliveiras cultivadas em Portugal

Existem, presentemente, numerosas formas cultivadas de oliveira, manifestando uma diversidade de características morfológicas e fisiológicas a que correspondem aptidões e qualidades distintas. As cultivares de oliveiras cultivadas em Portugal são: Galega vulgar ou Galega, Carrasquenha, Redondal, Azeitoneira, Conserva de Elvas, Negrinha, Madural, Cobrançosa, Verdeal Transmontana, Redondil, Galega Grada de Serpa, Cordovil de Serpa, Verdeal Alentejana, Cordovil de Castelo Branco, Bical de Castelo Branco, Maçanilha Algarvia, Maçanilha Carrasquenha, Maçanilha, Picual, Gordal, Maçanilha fina e Hojiblanca (Leitão, 1986).

2.2.1. Cultivares com aptidão para produção de azeitona de mesa

Existem várias cultivares de azeitona como já foi mencionado no ponto 2.2. Contudo, é preciso referir que existem cultivares com diferentes tipos de aptidão, ou seja, cultivares que só têm aptidão para a produção de azeitona de mesa ou para azeite, enquanto outras têm dupla aptidão ou seja, tanto são usadas para a produção de azeitona de mesa como para produção de azeite (Rodrigues et al., 2020). Apesar de todas as cultivares poderem ser usadas para a produção de azeitona de mesa, algumas possuem características mais adequadas, tais como o tamanho do fruto, o sabor, a forma, a firmeza, a relação polpa/caroço e a facilidade de desprendimento da polpa do respetivo caroço.

As cultivares aptas para a produção de azeitona de mesa produzem frutos com menor teor de gordura, visivelmente mais apelativos e com uma polpa firme, enquanto, as cultivares com aptidão para produzir azeite, têm frutos com maior teor em gordura. As de dupla aptidão apresentam características adequadas para ambas as produções.

Na Tabela 4 são apresentadas as cultivares que existem em Portugal, mencionando as suas aptidões, a região predominante e alguns aspetos gerais.

Tabela 4. Cultivares de oliveiras autóctones (Fonte: Leitão, 1986).

Cultivar	Região Predominante	Aptidão	Aspetos gerais
Galega	Variedade mais difundida no país	<ul style="list-style-type: none">➤ Fraco ou médio rendimento em azeite;➤ Própria para conserva em preto, industrial e caseira.	<ul style="list-style-type: none">➤ Apresenta grande rusticidade;➤ Irregularidade da produção nas regiões litorais.
Carrasquenha	Variedade Alentejana	<ul style="list-style-type: none">➤ Bom rendimento em azeite;➤ Própria para conserva em verde, industrial e caseira.	<ul style="list-style-type: none">➤ Bastante produtiva e com regularidade;➤ Adapta-se a diversos tipos de solo, mas não suporta terrenos muito húmidos.
Redondil	Variedade com grande representação na região de Elvas	<ul style="list-style-type: none">➤ Bom rendimento em azeite;➤ Própria para conserva em verde.	<ul style="list-style-type: none">➤ Prefere solos frescos.
Maçanilha	Existente na região de Elvas	<ul style="list-style-type: none">➤ Fraco rendimento em azeite;➤ Fruto para conserva em verde ou preto, industrial ou caseira.	<ul style="list-style-type: none">➤ Apresenta grandes semelhanças com a Negrinha de Trás-os-Montes;➤ Produz bastante e com regularidade.
Conserva de Elvas	Típica da região de Elvas	<ul style="list-style-type: none">➤ Bom rendimento para produção de azeite;	<ul style="list-style-type: none">➤ Declínio por produção irregular;

		<ul style="list-style-type: none"> ➤ Muito apreciada como azeitona de mesa, em verde, no mercado interno. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Problemas de esterilidade floral; ➤ Boas qualidades sápidas.
Negrinha	Variedade do Nordeste Transmontano	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fraco rendimento em azeite; ➤ Apropriada para conserva em verde ou preto, industrial ou caseira. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bastante produtiva e com regularidade.
Madural	Variedade Transmontana muito difundida	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto não utilizado normalmente como azeitona de mesa; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Produtiva, mas de frutificação não muito regular; ➤ Com uma certa rusticidade; ➤ Suporta frio intenso.
Cobrançosa	Variedade Transmontana	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto não utilizado normalmente como azeitona de mesa; ➤ Bom rendimento em azeite (vocacionada para a produção de azeite). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bastante regular e produtiva; ➤ Aprecia solos férteis.
Verdeal Transmontana	Variedade Transmontana	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto não utilizado normalmente como azeitona de mesa; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bastante produtiva em solos fundos e férteis; ➤ Não suporta a secura; ➤ Produção tardia na terra fria e maturação desigual.
Redondal	Variedade Transmontana não muito difundida	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto próprio para a produção de azeitonas de mesa (aproxima-se da Maçanilha); ➤ Apresenta bom rendimento em azeite. 	
Galega Grada de Serpa	Variedade da região de Serpa-Moura	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto utilizado em conserva em preto, do tipo artesanal; ➤ Apresenta fraco a médio rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Produtiva com regularidade.
Cordovil de Serpa	Variedade da região de Serpa-Moura	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto próprio para conserva em verde, caseira ou industrial; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Produtiva, mas pouco regular; ➤ Rasgamento da polpa quando é descarçada.
Verdeal alentejana	Variedade da região de Serpa-Moura	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Utilizada para conserva em verde, do tipo artesanal, britado; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bastante regular e produtiva; ➤ De maturação tardia.
Cordovil de Castelo Branco	Variedade da Beira Interior	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Própria para produção de azeitona de mesa; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bastante regular e produtiva.
Bical de Castelo Branco	Variedade da Beira Interior	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Própria para produção de azeitona de mesa; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Produtiva e com uma certa regularidade.
Maçanilha algarvia	Variedade do Sotavento Algarvio	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Própria para conserva em verde e em meia maturação; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Boa capacidade de adaptação;

			<ul style="list-style-type: none"> ➤ Maior diversidade de tamanho das azeitonas; ➤ De elevado calibre.
Maçanilha Carrasquenha	Variedade existente na região Alentejana	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Própria para produção de azeitona de mesa; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Produz bem e com regularidade.
Picual	Principal variedade Espanhola	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Não utilizada normalmente para conserva; ➤ Bom rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Elevada produtividade; ➤ Fraca difusão em Portugal.
Gordal	Variedade de origem Espanhola	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto próprio para conserva, em verde; ➤ Fraco rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pouco difundida em Portugal; ➤ Apreciada pelo tamanho do fruto.
Maçanilha fina	Mais importante variedade Espanhola	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto utilizado para conserva em verde (excelente qualidade); ➤ Apresenta mediano rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Difundida em Portugal, principalmente no Alentejo; ➤ Desenvolvimento precoce e certa rusticidade; ➤ Pouco vigorosa e de fraca e mediana produtividade.
Azeitoneira	Variedade do tipo Maçanilha, existente na região de Elvas – Campo Maior	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fruto utilizado para conserva em verde ou preto, industrial ou caseira; ➤ Apresenta fraco rendimento em azeite (dá muito fruto, mas pouco azeite). 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Produz bastante e com regularidade; ➤ Apresenta grandes semelhanças com a Negrinha de Trás-os-Montes (podendo constituir uma variação, que merece um estudo especial).
Hojiblanca	Variedade Espanhola muito abundante na província de Córdova	<ul style="list-style-type: none"> ➤ O fruto é utilizado para conserva em verde e principalmente em preto; ➤ Apresenta fraco rendimento em azeite. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ É uma variedade vigorosa e produtiva; ➤ Muito pouco difundida em Portugal.

2.3 Azeitona de mesa

A Norma Portuguesa NP 3034 (2012) define a azeitona de mesa como “o produto preparado a partir de frutos sãos, das cultivares cultivadas da oliveira (*Olea europaea* L.) que são escolhidas para a produção de azeitona, cujo volume, forma, relação polpa/caroço, características da polpa, gosto, firmeza e facilidade de desprendimento do caroço as tornam particularmente adequadas para processamento”.

As azeitonas são produtos que necessitam de passar por transformações físico-químicas a fim de poderem ser consumidas. Para isso, passam por vários processos para a remoção do amargor da azeitona e poderem ser assim do agrado do consumidor.

Todas as cultivares de azeitonas podem ser utilizadas na preparação de azeitonas de mesa, sendo que o grau de maturação, a colheita, o sistema de cultivo e os tratamentos são da total responsabilidade dos agricultores e da indústria. No entanto, nem todas as azeitonas dão um produto com boas características químicas, organolépticas, boa textura e boa relação polpa/caroço (Ferreira, 2015) , devendo ser sujeitas a diversos métodos de processamento de forma a torná-las edíveis.

2.4 Tipos de processamento a aplicar à azeitona de mesa

As azeitonas são produtos fermentados, e como tal, o processo de fermentação e o seu controlo são fundamentais para assegurar a segurança do produto final (Bianchi, 2003). Desde os tempos antigos, diferentes métodos foram desenvolvidos para eliminar a acidez e o amargor, de forma a tornar a azeitona um fruto comestível. No início do século XX, o hidróxido de sódio (NaOH) foi usado para hidrolisar a oleuropeína, o que resultou nos dois processos de produção mais importantes: o processo de azeitona verde Espanhola e o processo de azeitona preta californiana (Huertas-Alonso et al., 2022). Azeitonas naturais são aquelas que não sofrem tratamento alcalino. O amargor dessas azeitonas naturais pode ser eliminado por lavagem, difusão na salmoura de preservação, atividade microbiológica, hidrólise enzimática e hidrólise química (Brenes et al., 2018). Mundialmente, existem três categorias principais de azeitonas de mesa baseadas nos métodos de preparação comercial. Os métodos de processamento de azeitona de mesa mais utilizados são o estilo Sevilhano ou azeitonas verdes, o estilo Californiano ou azeitonas pretas oxidadas e o estilo Grego ou fermentação/cura ao natural (Melliou et al., 2015).

2.4.1. Estilo Sevilhano

As azeitonas verdes de mesa à moda sevilhana são um dos principais produtos derivados da oliveira atualmente no mercado. A preparação deste produto envolve o uso de uma solução de hidróxido de sódio para reduzir a concentração de oleuropeína, reduzindo o sabor amargo original da fruta (de Florio Ramirez et al., 2019).

As azeitonas destinadas à preparação do estilo Espanhol ou Sevilhano, colhem-se quando o fruto tiver alcançado uma cor verde – amarelo pardo, com textura firme, são e resistentes a uma suave pressão dos dedos (Brito et al., 2008). Este tipo de cura dá-lhe um agradável sabor e uma textura bastante fibrosa. Estas azeitonas podem ser fatiadas, descaroçadas ou recheadas com pimento vermelho. Em mais pormenor, neste método, as azeitonas são escolhidas, classificadas por tamanho e sofrem um tratamento alcalino com uma solução de hidróxido de sódio, para remover o amargor do fruto quimicamente (Navarro et al., 2008). Após esse tratamento, os frutos são submetidos a alguns ciclos de lavagens com água, para remover o excesso de hidróxido de sódio e são de seguida colocados numa salmoura com concentração de cloreto de sódio (NaCl) entre 6-8%, onde sofrem uma fermentação láctica espontânea (Nogueira, 2012).

De referir que durante o armazenamento prévio de frutos a tratar pelo estilo sevilhano, a aplicação de uma solução de hidróxido de sódio a baixa concentração é útil para não perder a qualidade do produto durante a espera entre a colheita e a fermentação (Navarro et al., 2008).

2.4.2. Estilo Californiano

As azeitonas usadas para a preparação de azeitonas pretas oxidadas podem ser colhidas em períodos muito variáveis, podendo apresentar vários estados de maturação, com coloração desde o verde ao negro (Melliou et al., 2015). Contudo, uma vez que se trata de um tratamento agressivo para a textura do fruto, aconselha-se que o grau de maturação seja o mais verde possível. Estas azeitonas podem ser armazenadas durante 2 a 6 meses numa salmoura, sob condições anaeróbias e um pH cerca de 4, com uma concentração de NaCl de 5-10%, ou então sujeitas diretamente a processos de oxidação sem qualquer tipo de preservação.

As azeitonas são sujeitas a tratamentos sucessivos com soluções de hidróxido de sódio de forma a ocorrer uma penetração progressiva desde a pele até à polpa (Bianchi,

2003). Após lavagem com água e arejamento para remover o excesso de NaOH e baixar o pH da polpa para cerca de 8 (Bianchi, 2003), são adicionados sais de ferro, para melhorar e manter a cor preta das azeitonas (Marsilio et al., 2001) Podem ser acondicionadas inteiras, descaroçadas, fatiadas ou em pasta de azeitona (Nogueira, 2012).

2.4.3. Fermentação natural

Para a preparação de azeitonas de fermentação natural, os frutos devem ser colhidos em estado de maturação conveniente. Os frutos podem apresentar uma coloração que varia desde verde a vermelho-escuro. Após colheita e remoção dos frutos com defeitos, faz-se a calibração dos frutos sãos e respetiva lavagem com água para remoção da sujidade superficial (Papadelli et al., 2015). Não é aplicado nenhum processo para retirar o amargor, sendo diretamente colocadas em salmoura, com uma concentração de NaCl entre 8-10% (Alexandraki et al., 2014). Com isto inicia-se uma fermentação natural e espontânea, que se pode dar em condições de anaerobiose ou aerobiose (Kumral et al., 2020), resultado de uma complexa microflora de leveduras e bactérias ácido-lácticas (Papadelli et al., 2015). A fermentação destas azeitonas é lenta e a eliminação do amargor é apenas alcançada apenas pela solubilização da oleuropeína na salmoura, sendo o equilíbrio alcançado em 8 a 12 meses (Alexandraki et al., 2014). De referir que a fermentação natural foi o método utilizado nas azeitonas de mesa provenientes da região do Vale do Côa, a analisar no presente trabalho.

Existem ainda outros tipos de preparações, como por exemplo, as “Alcaparras” ou azeitonas verdes descaroçadas que são originalmente produzidas na região de Trás-os-Montes. Neste tipo de preparação, as azeitonas são descaroçadas e a polpa é colocada em água, sendo trocada 3 a 4 vezes durante uma semana, para remover o seu amargor. Depois desta etapa, as azeitonas podem ser salgadas e consumidas.

2.5 Oliveiras centenárias e a sua importância

A oliveira é um modelo adequado para estudar a origem das cultivares devido à sua longa vida útil, resultando na existência de árvores centenárias e milenares em toda a bacia do mediterrâneo (Díez et al., 2011). As oliveiras centenárias são consideradas um património precioso, porém têm vindo a desaparecer gradualmente devido à progressiva transformação dos olivais tradicionais em novos olivais, de sistemas de produção mais intensivos (Chalak et al., 2014).

A manutenção de oliveiras centenárias gera vários benefícios ambientais devido à preservação da biodiversidade associada a estas cultivares, redução de perda/extinção de cultivares adaptadas ao clima e solo da região, e preservação da estrutura e composição da paisagem. Apesar da sua elevada importância, estas oliveiras centenárias e a sua diversidade genética são muito pouco conhecidas na região de Trás-os-Montes (Duarte et al., 2008). Além disso, são muitas vezes desprezadas devido à sua menor produtividade face a cultivares mais comerciais, sendo os seus frutos mais direcionados para a produção de azeite. Contudo, a preservação deste património genético é essencial. Assim, a valorização económica de produtos provenientes destas oliveiras, só será possível se tiver sido efetuada a sua identificação e caracterização (Fernandes, 2014).

Em relação aos trabalhos desenvolvidos em oliveiras centenárias destacam-se os realizados em Portugal (Rodrigues et al., 2021, 2022) (só ao nível do azeite), Espanha (Díez et al., 2011), Líbano (Chalak et al., 2018) e Chile. As oliveiras centenárias podem de facto ser um reservatório muito importante de diversidade genética, uma vez que Díez et al. (2011) verificaram que só 9,6% dos genótipos de árvores antigas estudadas coincidiram com os das cultivares atuais. Este facto indica a existência de cultivares desconhecidas e de variabilidade intra-varietal (Díez et al., 2011). Contreras et al. (2018) ao estudarem oliveiras centenárias de dois vales do Chile, também verificaram que as mesmas se distinguiam geneticamente das cultivares mais importantes atualmente encontradas no Chile.

Ao nível do azeite produzido a partir de frutos de oliveiras centenárias, o mesmo pode apresentar diferenças ao nível da composição de ácidos gordos (Rodrigues et al., 2021), assim como sensorial, ao nível olfativo e gustativo, podendo originar azeites diferenciadores (Rodrigues et al., 2022). Relativamente aos ácidos gordos, os azeites das cultivares Redondal e Verdeal Transmontana apresentaram níveis de ácidos gordos

monoinsaturados (MUFA) elevados e bastante homogêneos ao longo de cinco anos de colheita, indicando ser menos suscetíveis à oxidação (Rodrigues et al., 2021).

Em termos de azeitona, Chalak et al. (2018) ao estudarem os frutos de oliveiras centenárias do Líbano, verificaram que estes variaram no tamanho, desde o pequeno ao médio, com massas entre 1,11 e 3,38 g/fruto. Além disso, os teores em gordura mostraram elevada variabilidade, bem como diferenças ao nível da composição dos ácidos gordos. Contudo, verifica-se que o número de estudos existentes sobre o tema ainda é reduzido.

Com a realização deste trabalho pretende-se adquirir mais conhecimentos ao nível da caracterização físico-química e sensorial de azeitonas de mesa produzidas por oliveiras centenárias, pretendendo-se demonstrar a importância deste recurso genético.



Capítulo 3

Material e métodos

3. Material e métodos

3.1 Amostragem

A amostras utilizadas neste ensaio foram colhidas na região do Vale do Côa. Seleccionaram-se e georreferenciaram-se 150 oliveiras centenárias distribuídas ao longo de toda a região. No entanto, utilizaram-se apenas 28 amostras de azeitona provenientes de diferentes oliveiras para serem fermentadas por cura natural. Na Figura 1 apresenta-se o fruto colhido que foi colocado em frascos etiquetados, numa salmoura para fermentação natural com NaCl a 8%, por um período de 8 meses.

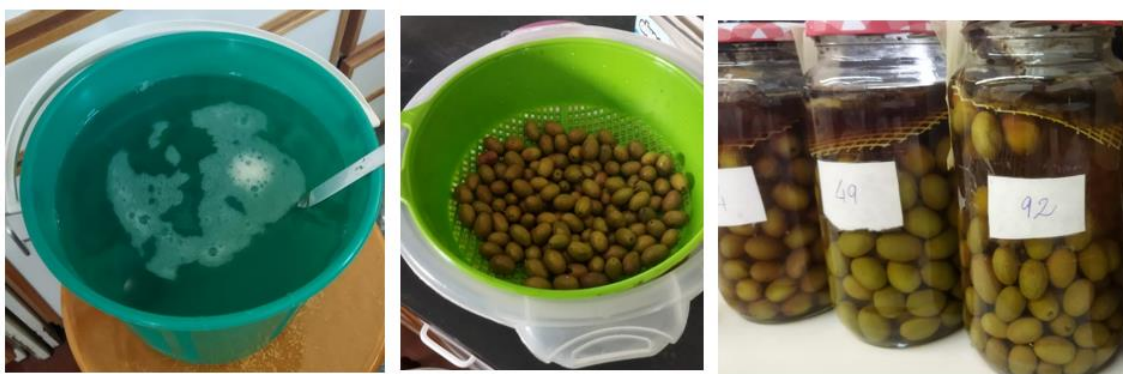


Figura 1. Frutos colocados em salmoura pelo método de cura natural.

Após o período de fermentação, procedeu-se à caracterização das diferentes azeitonas de mesa obtidas a partir de frutos colhidos em oliveiras centenárias. De referir que não foi realizada a identificação das variedades amostradas porque de algumas delas não foi possível reconhecer as mesmas.

3.2 Caracterização morfológica

A caracterização morfológica de frutos é importante para identificação de espécies, servindo de base para novos estudos (Sousa et al., 2010).

3.2.1 Parâmetros biométricos no fruto e endocarpo

Nos parâmetros biométricos foram determinados seguindo as diretrizes UPOV TG/99/4 de 2011, onde se avaliaram o comprimento (mm), o diâmetro máximo (mm) e o peso (g) de 20 frutos aleatoriamente selecionados, inteiros e sem deformidades, por

amostra, e o respetivo endocarpo, no final da fermentação. Na Figura 2 mostra um exemplo de uma amostra e da medição do endocarpo com a craveira.



Figura 2. Parâmetros biométricos no fruto e endocarpo.

3.2.2 Relação polpa/ caroço

A relação polpa/caroço permite verificar a quantidade de polpa em relação à quantidade de caroço. Para isso utilizaram-se os pesos dos frutos e dos endocarpos obtidos na secção anterior. A relação polpa/caroço resultou da divisão do peso da polpa pelo peso do respetivo caroço.

3.2.3 Textura

A medição da textura foi feita por compressão em 5 frutos de cada amostra, aplicando o método “*Texture Profile Analysis*” (TPA). Foram avaliados os parâmetros dureza, ponto de fratura, elasticidade, coesividade, mastigabilidade e resiliência, tendo sido aplicada uma velocidade de 1 mm/s e uma extensão de penetração de 5 mm, resultado da existência do caroço, o qual não pode interferir na medição. Foi utilizado um *probe* de 36 mm (P/36 R) com uma célula de carga de 30 kg. Inicialmente, calibrou-se a altura do probe com uma distância de retorno de 30 mm e ajustou-se a força de contacto para 1 g. A Figura 3 exemplifica o procedimento feito para uma amostra.

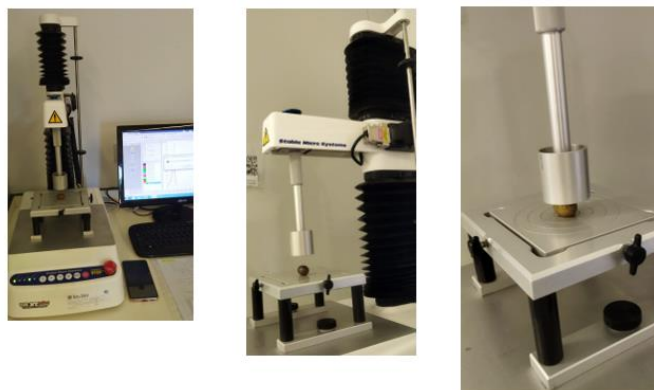


Figura 3. Determinação da Textura.

3.2.4 Determinação da cor

A cor foi determinada através de um colorímetro, Minolta CR-400, em 20 frutos por amostra (Figura 4). A cor foi avaliada em 4 pontos da azeitona, para quantificar os dados espectrais e determinar as coordenadas da amostra no espaço de cor CIELAB, designadamente o L^* , a^* , b^* , C^* e h , de forma a apresentar essa informação em termos numéricos. O L^* indica a luminosidade, o a^* é a coordenada que avalia os tons verde/vermelho (sinal positivo indica vermelho e sinal negativo indica verde) e b^* que corresponde à coordenada que avalia os tons azul/amarelo (sinal positivo indica amarelo e sinal negativo indica azul). A saturação é representada pelo C^* , indicando um maior valor uma maior intensidade. O h indica a tonalidade ou a cor propriamente dita. Foi utilizado o iluminante C (luz natural média ou *average daylight*). Previamente o aparelho foi calibrado com o padrão branco.



Figura 4. Determinação da cor.

3.2.5 Teor de humidade

Para determinar o teor de humidade das amostras, foi seguido o método AOAC 925.40 (1995). Secaram-se placas de Petri na estufa a 105 °C durante 1 hora. Após esse intervalo, colocaram-se num exsiccador, durante aproximadamente 40 min, até atingir a temperatura ambiente. De seguida, pesaram-se as placas numa balança analítica. Depois de pesadas as placas, colocaram-se nas mesmas 5 g de azeitona, partida previamente em pedaços mais pequenos (Figura 5). De seguida, colocaram-se as amostras na estufa a 105 °C. Todos os dias foram feitas pesagens até o seu peso estabilizar. Cada amostra foi analisada em duplicado. O teor de humidade foi determinado pela seguinte equação:

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

Em que:

P_f= Peso da amostra fresca

P_s= Peso da amostra seca



Figura 5. Fruto após pesagem pela estufa a 105 °C.

3.2.6 Teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado de acordo com o método AOAC 940.26 (2000), por incineração, usando uma mufla a 550 °C, até se atingirem cinzas brancas. Previamente, foram pesadas, aproximadamente 2,5 g de amostra fresca para cadinhos previamente calcinados, tal como exemplificado na Figura 6. Cada amostra foi analisada em duplicado. As cinzas foram armazenadas em tubos Eppendorf para posterior análise de sódio e potássio. O teor de cinzas foi determinado através da seguinte equação:

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

Em que:

Pf= Peso final do cadinho com as cinzas

Pi= Peso do cadinho



Figura 6. Determinação do teor de cinzas.

3.2.7 Teores de Sódio e Potássio

Para a determinação dos teores de sódio e de potássio foram utilizadas as cinzas que ficaram armazenadas e referidas na secção anterior.

Previamente todo o material de laboratório a ser usado foi colocado numa solução de HNO_3 a 25% (v/v) durante 24 horas. Transferiram-se as cinzas para balões volumétricos de 50 mL, tendo as mesmas sido pesadas previamente. As amostras foram dissolvidas em HNO_3 a 1,5% (v/v) e colocadas nos ultra-sons, durante 5 minutos, para dissolver todas as partículas. Em seguida, perfez-se o volume com a solução ácida, tendo as amostras sido filtradas através de filtros de seringa de Nylon 0,2 μm (Figura 7). De seguida, as soluções foram analisadas por espectrofotometria de emissão. Prepararam-se previamente soluções padrão de sódio e potássio com concentrações entre 2,1 e 21,6 mg Na/L e 1,7 e 51,0 mg K/L, respetivamente.

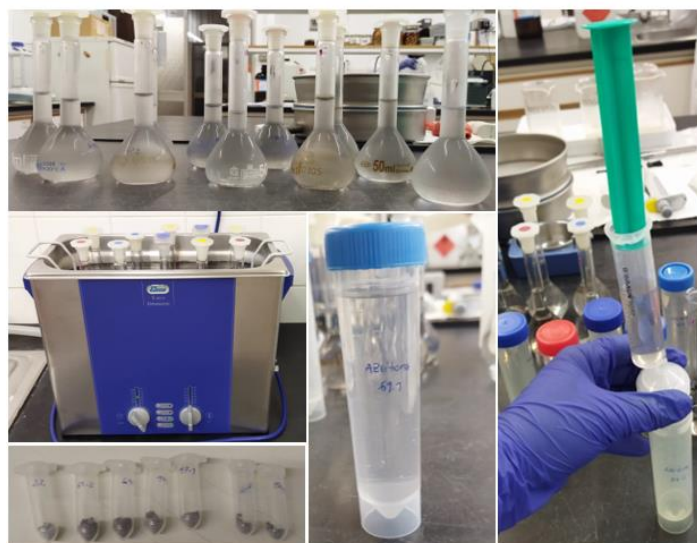


Figura 7. Determinação do teor de sódio.

3.2.8 Teor de proteína

O teor de proteína total foi determinado pelo método Kjeldahl, segundo o procedimento AOAC 920.152 (2000). Esta metodologia é um método de referência para quantificar o teor de proteínas em alimentos e consiste na digestão com ácido sulfúrico concentrado e na adição de um catalisador (Kjetabs com a composição de 5 g de sulfato de potássio e 0,5 g de sulfato de cobre II) que atuará na aceleração da digestão.

Para a realização deste ensaio, pesaram-se aproximadamente 0,5 g de amostra fresca e colocou-se num tubo de Kjeldahl juntamente com uma pastilha de catalisador e 15 mL de ácido sulfúrico. Os tubos foram dispostos no bloco digestor a 400 °C, até digestão completa das amostras. Terminada essa fase, deixou-se arrefecer as amostras, tendo posteriormente sido colocadas no sistema de destilação e titulação (Velp Scientifica UDK 152). Neste equipamento realizou-se a destilação da amónia (formada pela reação do ião amónio com uma base em excesso), a qual foi recolhida num excesso de ácido bórico. De seguida, procedeu-se à titulação do ião dihidrogenoborato com uma solução padrão de ácido clorídrico. Desta forma, obtiveram-se os valores percentuais de proteína bruta, utilizando-se um fator de conversão de 6,25. Os resultados obtidos foram expressos em percentagem de proteína bruta.

3.2.10. Composição em ácidos gordos

Para determinar o perfil da composição de ácidos gordos recorreu-se à cromatografia gasosa com injetor automático e deteção por ionização em chama (CG/FID) e utilizou-se a gordura que foi extraída com éter de petróleo, utilizando o equipamento Soxhlet.

A 0,1 g de gordura foram adicionados 2 mL de *n*-heptano e 200 µL de KOH (2 mol/L em metanol). Agitou-se a mistura durante cerca de 30 segundos e deixou-se em repouso até que a fase superior ficasse transparente. Posteriormente, fez-se a filtração da solução, usando-se filtros de seringa de Nylon 0,2 µm e transferiram-se cerca de 500 µL da fase orgânica para tubos de vidro âmbar rolhados. De seguida procedeu-se à análise do perfil de ácidos gordos por GC-FID, tendo sido utilizada uma coluna capilar CP-Sil-88 de 50 m de comprimento, 0,25 µm de diâmetro interno e 0,19 µm de espessura de filme (Varian). Para uma separação efetiva dos diversos ácidos gordos utilizou-se inicialmente uma temperatura de 140 °C, com aumentos de 5 °C/min até 220 °C, sempre a uma pressão constante de 110 kPa. A fase móvel consistiu em hélio. A identificação dos ácidos gordos e cálculo dos fatores de correção foi feita com uma mistura padrão (Supelco 37 – Fame Mix), tendo a quantificação sido determinada por percentagem relativa das áreas cromatográficas.

3.2.11. Capacidade redutora total e atividade antioxidante

A capacidade redutora total foi determinada pelo método Folin-Ciocalteu. Para a determinação da atividade antioxidante das azeitonas foram utilizados diferentes métodos, como o efeito bloqueador de radicais livres de DPPH, o poder redutor e o método de redução de ferro (FRAP).

Previamente foram preparados os extratos vegetais da amostra liofilizada. Para os obter pesaram-se 1,5 g da amostra em pó. A amostra foi misturada com metanol e colocada na placa de agitação. Filtrou-se a mistura e repetiu-se este processo 2 vezes. Depois de efetuar este passo, a amostra foi levada a um evaporador rotativo de forma a evaporar o solvente. Após determinação do rendimento de extração, prepararam-se extratos a uma concentração de 50 mg/mL, como representado na Figura 8. A partir dessa concentração mãe prepararam-se outras concentrações variando entre 0,25 e 1,00 mg/mL para serem utilizadas nos ensaios seguintes.

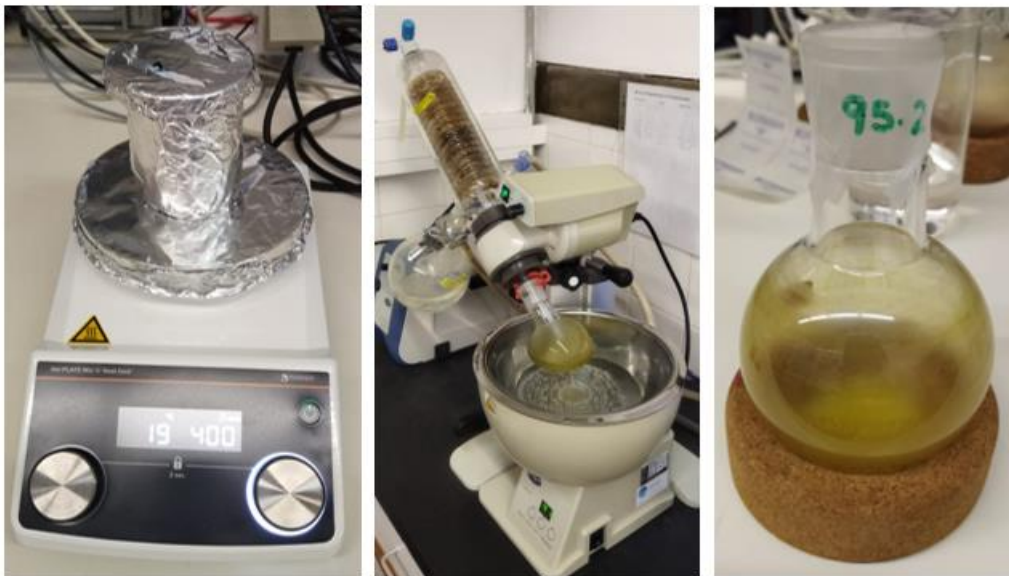


Figura 8. Preparação dos extratos a partir das azeitonas das oliveiras centenárias.

3.2.11.1 Capacidade redutora total

Para determinar a capacidade redutora total dos extratos, seguiu-se o método de Folin-Ciocalteu modificado por Berker et al. (2013) e misturou-se 1 mL da solução de extrato com 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos de repouso, adicionou-se 1 mL de solução saturada de carbonato de sódio e 7,5 mL de água destilada. Deixou-se repousar a mistura durante 90 minutos no escuro. De seguida procedeu-se à leitura da absorvância a 725 nm, tendo-se previamente preparado uma curva de calibração com ácido gálico.

3.2.11.2 Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH

Uma das técnicas atualmente utilizadas para detetar a presença de compostos antioxidantes é o método baseado no sequestro do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), descrito por Brand-Williams et al. (1995), adequado para a determinação da capacidade antioxidante de substâncias puras e misturas. Contudo, este método não deve ser realizado como sendo a única metodologia, pois são necessários outros métodos para caracterizar completamente um composto como antioxidante. Primeiro preparou-se a solução de DPPH, misturando 2,4 mg de 1,1-difenil-2-

picrilhidrazilo em 100 mL de metanol. De seguida, prepararam-se as soluções a ser analisadas com 300 µL da amostra (diferentes concentrações preparadas previamente a partir da solução de extrato) e 2,7 mL da solução DPPH. Agitou-se a amostra e colocou-se 1 hora no escuro para depois fazer a leitura da absorvância no espectrofotómetro a 517 nm. A concentração de extrato utilizada foi de 0,75 mg/mL. A percentagem de sequestro do radical livre do DPPH foi calculada através da seguinte equação:

$$\% \text{ inibição} = \frac{A_{\text{Branco}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{Branco}}} \times 100$$

Em que:

A_{amostra} = Absorvância da solução com o extrato da amostra

A_{Branco} = Absorvância da solução de DPPH

Previamente foi preparada uma curva de calibração com trolox, tendo os resultados sido expressos em mg Trolox/g amostra p.s.

3.2.11.3 Poder redutor

A determinação do poder redutor baseou-se no método descrito por Berker et al. (2007), no qual se juntou 1 mL do extrato a 0.75 mg/mL previamente preparado, 2,5 mL de solução tampão 0,2 M de fosfato de sódio com o pH de 6,6, e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1% (m/v), tendo sido incubada a 50 °C durante 20 minutos. Depois da amostra ser arrefecida, adicionaram-se 2,5 mL de ácido tricloacético a 10% (m/v), tendo sido levada ao vórtex para agitação. Retiraram-se 2,5 mL de sobrenadante e adicionaram-se 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto de ferro (III) a 0,1% (m/v). Mediu-se a absorvância das amostras a 700 nm, logo após 2 minutos em repouso. Absorvâncias maiores indicam um maior poder redutor. Previamente foi preparada uma curva de calibração com trolox, tendo os resultados sido expressos em mg Trolox/g amostra p.s.

3.2.11.4 Método de redução de ferro (FRAP)

O método de redução de ferro, FRAP, é caracterizado pela redução do composto férrico em meio ácido e foi determinado segundo Benzie & Strain (1996). Foram misturados 1 mL da solução de extrato, 2,9 mL da solução de FRAP, preparada antecipadamente com 10 mM de 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina em 40 mM de ácido clorídrico, 20 mM de cloreto de ferro (III) e 0,3 M de tampão de acetato. A solução foi

levada ao vórtex para agitação e de seguida foi incubada a 37 °C durante 15 minutos. As amostras foram lidas no espectrofotómetro a 593 nm, com uma concentração de 0,5 mg/mL. A reta de calibração obtida foi $y = 18,417x + 0,2108$ com um coeficiente de correlação aceitável ($R^2 = 0,9986$). Os valores foram expressos em mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / g amostra (p.s).

3.2.12. Análise sensorial

A avaliação da análise sensorial das azeitonas foi realizada de acordo com o método descrito pelo COI (2011a). Para tal, as amostras foram analisadas por 8 provadores treinados. As amostras foram codificadas com as letras “OC” e com três números aleatório que identificavam a amostra. No início do teste, definiram-se os atributos sensoriais a serem avaliados, representados na Figura 9. Os aspetos avaliados seguiram os padrões estabelecidos pelo COI (2011b) e incluíram a perceção numa escala de 10 cm de sensações negativas (fermentação anormal ou outros defeitos), perceção de sensações gustativas (salgado, amargo e ácido) e perceção de sensações cinestésicas (dureza, fibrosidade e crocância). Foi usada uma escala de avaliação não estruturada que variou entre 1 (imperceptível) e 11 (extremamente perceptível).

The form is titled 'FOLHA DE PERFIL DE AZEITONA DE MESA' and is from the 'INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA Escola Superior Agrária'. It includes a scale for 'INTENSIDADE (1 → 11)' and sections for 'PERCEÇÃO DE SENSações NEGATIVAS', 'PERCEÇÃO DE SENSações GUSTATIVAS', and 'PERCEÇÃO DE SENSações CINESTÉSICAS'. Each section has specific attributes listed with horizontal lines for recording values. At the bottom, there are fields for 'Código da Amostra:', 'Nome do provador:', and 'Data:'.

ipb INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA
Escola Superior Agrária

FOLHA DE PERFIL DE AZEITONA DE MESA

INTENSIDADE (1 → 11)

PERCEÇÃO DE SENSações NEGATIVAS

Fermentação anormal (tipo) _____

Outros defeitos _____

Especifique quais: _____

PERCEÇÃO DE SENSações GUSTATIVAS

Salgado _____

Amargo _____

Ácido _____

PERCEÇÃO DE SENSações CINESTÉSICAS

Dureza _____

Fibrosidade _____

Crocância _____

Código da Amostra: _____
Nome do provador: _____
Data: _____

Figura 9. Folha de prova utilizada na avaliação sensorial das azeitonas.

3.3 Análise estatística

Os resultados foram expressos com a média, desvio padrão, coeficiente de variação, mínimo e máximo. Já os valores obtidos na análise sensorial foram representados por gráficos Boxplot, que permitem analisar a distribuição dos valores de um dado conjunto. Adicionalmente aplicou-se uma Análise de Componentes Principais (PCA), utilizando os dados de todas as análises efetuadas às azeitonas. Para a sua realização, usou-se o programa estatístico de código aberto R (versão 4.1.1).

Capítulo 4

**Resultados e
discussão**

4. Resultados e Discussão

4.1 Carpometria

Na Tabela 5 estão representados os resultados dos parâmetros determinados em 20 frutos por amostra e respectivos endocarpos. O peso foi o parâmetro que apresentou maior coeficiente de variação com 18,93% nos frutos e 14,88% nos endocarpos. O peso variou entre 2,03 e 4,76 g nos frutos, e 0,43 e 0,86 g nos endocarpos (Tabela 5). O comprimento e o diâmetro máximo dos frutos e endocarpos apresentaram coeficientes de variação baixos, indicando valores mais uniformes. O comprimento e o diâmetro máximo dos frutos variaram entre 18,08 mm a 23,57 mm e 12,85 a 18,09 mm, respectivamente. Nos endocarpos variaram entre 12,72 mm a 17,96 mm e 6,81 mm a 9,15 mm (Tabela 5), sendo que o diâmetro máximo foi o parâmetro que apresentou os valores mais baixos de variação.

Tabela 5. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e os valores mínimos e máximos dos parâmetros avaliados nos frutos e endocarpos.

		Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Peso (g)
Fruto	Média ± DP	20,48 ± 1,21	14,99 ± 1,15	3,00 ± 0,57
	Coef. de variação (%)	5,89	7,65	18,93
	Mín e Máx	(18,08 - 23,57)	(12,85 - 18,09)	(2,03 - 4,76)
Endoc.	Média ± DP	15,35 ± 1,07	7,69 ± 0,50	0,62 ± 0,09
	Coef. de variação (%)	6,94	6,50	14,88
	Mín e Máx	(12,72 - 17,96)	(6,81 - 9,15)	(0,43 - 0,86)

Relativamente aos parâmetros biométricos avaliados, foi possível classificá-los por categorias, tanto no peso, como na razão entre o comprimento e o diâmetro máximo. Relativamente ao peso, de acordo com as diretrizes UPOV TG/99/4 de 2011, podemos classificar o fruto e o endocarpo em diferentes categorias como baixo, médio, alto e muito alto. Na Tabela 6 estão indicados os valores atribuídos ao peso por classes.

Tabela 6. Classificação do parâmetro biométrico peso nos frutos e endocarpos

Classificação	Fruto (g)	Endocarpo (g)
Baixo	>2	<0,3
Médio	2 – 4	0,3 – 0,45
Alto	4 – 6	0,45 – 0,70
Muito alto	>6	>0,70

Nos frutos (Figura 10), 96% foram classificados como frutos médios, enquanto 4% foram classificados na categoria de alto. Já nos endocarpos, 4% das amostras foram classificadas como médio, 78% como alto e 18% como muito alto.

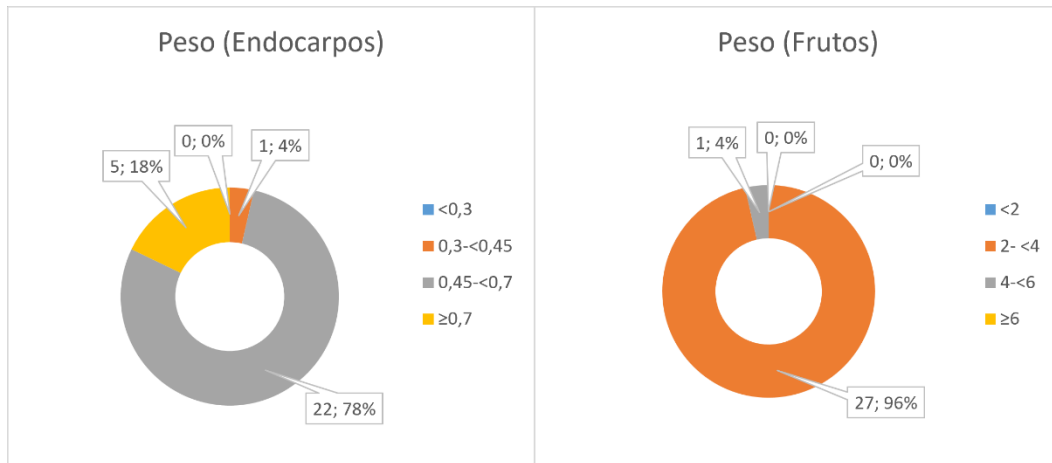


Figura 10. Identificação das classes das amostras em relação ao peso.

A forma dos frutos e endocarpos é determinada segundo a razão entre o comprimento e o diâmetro máximo. De acordo com o valor obtido, eles podem ser classificados de acordo com diferentes formas, como esférica, ovóide e alongada. No endocarpo, para além das referidas, ainda se acrescenta a forma elíptica. A Tabela 7 apresenta os valores respetivos de cada classificação.

Tabela 7. Classificação da forma dos frutos e endocarpos.

Forma	Fruto	Endocarpo
Esférica	$C/D < 1,25$	$C/D < 1,4$
Ovóide	$C/D = 1,25 - 1,45$	$C/D = 1,4 - 1,8$
Elíptica		$C/D = 1,8 - 2,2$
Alongada	$C/D > 1,45$	$C/D > 2,2$

Com os valores obtidos, representados na Figura 11, verificou-se que os frutos em estudo apresentaram a seguinte classificação: 11% forma esférica, 71% forma ovóide e 18% forma alongada. Em relação aos endocarpos, pôde observar-se que 14% apresentaram forma ovóide, 79% forma elíptica e apenas 7% apresentaram forma alongada.

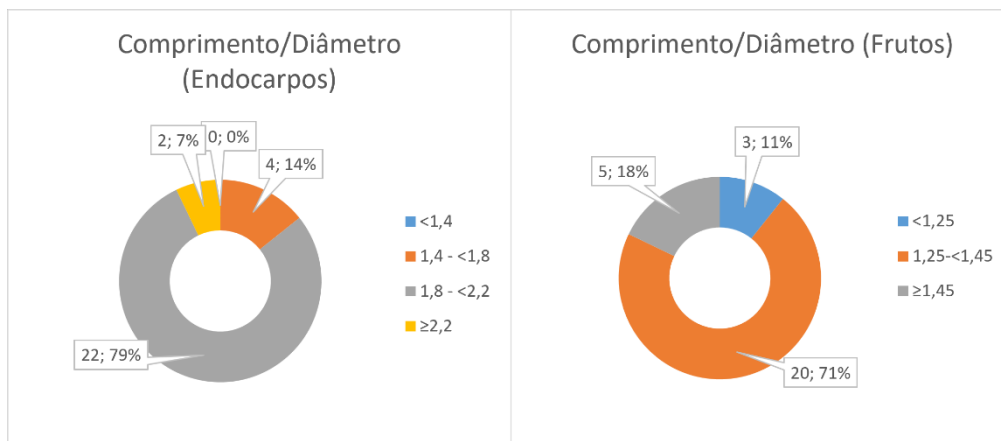


Figura 11. Identificação da forma dos frutos e endocarpos.

4.1.1 Relação polpa/caroço

A relação polpa/caroço é uma característica fundamental e de grande importância na qualidade e experiência de consumir azeitonas de mesa. Esta relação influencia diretamente a textura e a crocância do fruto. Uma relação adequada entre a polpa e o caroço é essencial para proporcionar a textura desejada. A polpa é igualmente importante em relação ao sabor, pois é onde a maioria dos sabores está concentrada. Portanto, ter uma boa proporção de polpa faz com que o fruto tenha um sabor mais rico e completo. Esta relação pode variar de região para região e pela preferência do consumidor. Na Tabela 8 estão novamente representados os valores médios do peso do fruto e do endocarpo, bem como da relação polpa/caroço que variou entre 2,49 e 5,62, com uma média de 3,82.

Tabela 8. Resultados do peso do fruto e endocarpo para a relação polpa/caroço.

	Fruto (g)	Endocarpo (g)	Relação p/c
Média ± DP	3,00 ± 0,57	0,62 ± 0,09	3,82 ± 0,83
Coef. Var	18,93	14,88	21,66
Mín -e Máx	(2,03 - 4,76)	(0,43 - 0,86)	(2,49 - 5,62)

Analisando os parâmetros para o fruto e endocarpo, e comparando com os resultados apresentados por Nogueira (2012), no estudo que fez das cultivares Cobrançosa e Negrinha de Freixo em Trás-os-Montes, foi possível verificar que os valores indicados por este autor foram superiores aos observados nas amostras dos frutos de oliveiras centenárias, indicando valores médios de comprimento e diâmetro máximo de 22,54 mm e 16,70 mm respetivamente. Em relação ao peso apresentou o valor médio de 3,85 g. Barros et al. (2013) ao estudar a cultivar Cobrançosa em Trás-os-Montes colhida em três datas distintas, relativas ao estado de maturação de verde, mista e negro, obtiveram valores médios de massa para os frutos iguais a 3,67; 5,30 e 6,91 g, mostrando o aumento do peso ao longo da maturação, tal como esperado. Em relação ao diâmetro e comprimento, indicam os seguintes valores para os três estados de maturação: 15,70; 19,23 e 19,31 mm, e 22,07; 24,54 e 26,39 mm, respetivamente. Assim, tendo em conta os valores determinados no presente trabalho é muito possível que frutos de diferentes variedades e em distintos estados de maturação tivessem sido colhidos.

Quanto à forma, Nogueira (2012) apenas referiu a presença de fruto com a forma ovóide, o que neste caso difere com as amostras aqui estudadas que apresentaram para além da forma ovóide, as formas alongada e esférica. Em relação ao endocarpo, o comprimento e o diâmetro máximo apresentaram valores médios inferiores aos referidos por Nogueira (2012), 16,18 e 8,08 mm, respetivamente, tendo o peso um valor médio idêntico (0,64 g). À semelhança dos frutos, Nogueira (2012) só mencionou a forma elíptica, que comparando com as amostras de oliveiras centenárias aqui estudadas apresentaram a forma ovóide, elíptica e alongada.

4.2 Cor

A determinação da cor foi feita em triplicado através de um colorímetro, utilizando o sistema de cores CIELAB. Na Tabela 9 estão representados os valores médios dos parâmetros L^* , a^* , b^* , C^* e h , tendo-se verificado que o parâmetro L^* variou entre 35,28 e 50,40, indicando que alguns frutos apresentaram uma maior luminosidade (maiores valores de L^*) enquanto outros tinham uma menor luminosidade. As coordenadas a^* e b^* variaram entre 0,18 a 11,19, e 2,62 a 28,80, respetivamente, indicando que existem frutos com diferentes cores. Como os valores da coordenada a^* foram positivos, este facto significou que os frutos apresentaram tonalidade vermelha em

vez de verde. Igualmente a coordenada b^* apresentou valores igualmente positivos, significando que os frutos apresentaram uma cor amarela em vez de azul.

Tabela 9. Média, desvio-padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos dos parâmetros de cor.

	L^*	a^*	b^*	C^*	h
Média ± DP	43,72 ± 4,19	5,01 ± 2,62	16,32 ± 6,20	18,13 ± 5,06	74,01 ± 17,31
CV (%)	9,59	52,30	37,95	27,93	23,39
Mín	35,28	0,18	2,62	9,37	41,55
Máx	50,40	11,19	28,80	28,84	152,26

Em relação ao croma (C^*), os valores variaram entre 9,37 e 28,84, indicando existir diferentes intensidades de cor. Além disso, em relação à cor propriamente dita (tonalidade), o h variou entre 41,55 e 152,26, indicando que os frutos não apresentaram uma cor homogênea, já em linha com o que tinha sido observado com os parâmetros anteriores.

Barros *et al.* (2013) ao estudarem a cultivar Cobrançosa em Trás-os-Montes colhida em três datas distintas, relativas ao estado de maturação de verde, semi-verde e negro (amostras frescas), obtiveram os seguintes valores para os parâmetros de cor: 56,86; 28,86 e 23,35 para o L^* , -19,76; 10,76 e 1,31 para o a^* , 41,78; 3,16 e 0,71 para o b^* , 46,22; 11,45 e 1,56 para o C^* , e 115,34; 22,63 e 36,41 para o h . Para a Galega obtiveram os seguintes dados: 54,47; 24,34 e 23,31 para o L^* , -25,51; 1,79 e 0,46 para o a^* , 43,11; 2,59 e 0,70 para o b^* , 48,19; 3,67 e 0,96 para o C^* , e 116,54; 40,76 e 66,66 para o h . Estes resultados estão em linha com os determinados no presente trabalho, o que sugere que as amostras colhidas podem ser referentes a diferentes cultivares e em estados de maturação diferentes. Contudo, deve ser referido que as amostras do presente trabalho foram sujeitas a fermentação natural, cujo processo pode causar alterações na cor das azeitonas.

De forma a explorar melhor os resultados obtidos, decidiu-se criar quatro grupos para classificar os parâmetros da determinação da cor e perceber em que grupo se observava o maior número de frutos. Os grupos foram estabelecidos tendo em conta a amplitude dos valores e dividindo a mesma em quatro grupos igualmente espaçados para cada um dos parâmetros. Na Figura 12 estão representados os números e as percentagens

de frutos que existiram em cada grupo. No caso do parâmetro L^* pôde-se observar que o maior número de frutos se concentrou no grupo 2 (46%), no intervalo de 40 a < 45, o que significa que estas amostras tinham valores de luminosidade intermédios, entre o preto (L^* igual a zero) e o branco (L^* igual a 100). Em relação ao parâmetro a^* , o maior número de amostras inseriu-se no grupo 2 (2,5-<5,0), representando 32%, seguido do grupo 3 (5,0-<7,5) com 29% das amostras. Para o parâmetro b^* verificou-se que de forma igual ao parâmetro anterior, não se observaram valores negativos, significando a presença de tons amarelos em vez de azuis. Para este parâmetro observou-se a existência da presença de mais frutos no grupo 3 (14 a < 21), correspondendo a 39% das situações. Contudo, no grupo anterior (Grupo 2, 7-<14), a percentagem também foi semelhante, representando 36% dos casos. Em relação aos parâmetros C^* e h, o maior número de amostras se incluiu no grupo 2 no intervalo de 13 a <18 e 45 a <90, respetivamente, representando 36 e 96% das amostras.

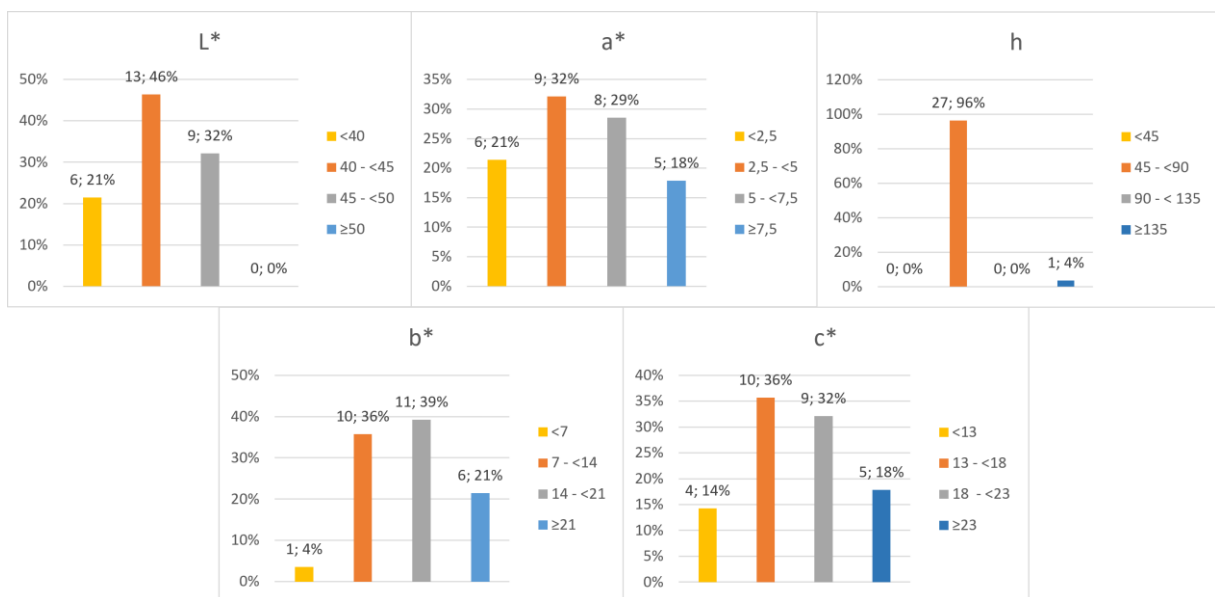


Figura 12. Classificação das amostras pelos parâmetros L^* , a^* , b^* , c^* e h.

4.3 Textura

A textura foi determinada aplicando o método *Texture Profile Analysis* (TPA), onde foram avaliados os parâmetros dureza, fraturabilidade, elasticidade, coesividade, mastigabilidade e resiliência. Os resultados apresentados na Tabela 10 mostraram que os

valores da dureza das azeitonas, determinada como a força máxima na primeira compressão, variaram entre 3462 e 18451g, indicando uma grande variabilidade na dureza das amostras. A fraturabilidade, correspondendo à força exercida no primeiro pico (podendo ou não corresponder à dureza), variou entre 3468 e 18113 g. Esta gama elevada de valores indica que existiam frutos cuja película fraturou facilmente enquanto outros não. Na determinação da elasticidade (parâmetro indicativo da percentagem recuperada da altura original do produto e mostra quanto o produto recupera fisicamente após ter sido deformado durante a primeira compressão e é deixado repousar entre as duas compressões) observou-se que os valores variaram entre 0,39 e 0,72, com uma média igual a 0,53. Estes valores sugerem que há frutos que recuperaram bastante (maiores valores), enquanto outros não foram capazes de o fazer, sendo estes os mais comuns. O parâmetro coesividade (calculado pela razão das áreas da segunda compressão pela primeira, e indicativo de quanto um produto aguenta uma segunda deformação após ter sido sujeito a uma primeira compressão) variou entre 0,20 e 0,55, com média de 0,28. Este valor indica que os frutos não apresentaram uma elevada coesividade. Em relação à determinação da mastigabilidade (igual ao produto da dureza com a coesividade e elasticidade), mostrou valores médios entre 542 e 2469, em linha com os diferentes valores de dureza, coesividade e elasticidade determinados. O parâmetro resiliência (razão da área abaixo da curva após a força máxima ter sido atingida e a área abaixo da curva antes da força máxima ter sido atingida) apresentou valores compreendidos entre 0,09 e 0,34, indicando que as amostras manifestaram comportamentos distintos na maneira de voltar a adquirir a forma original.

Tabela 10. Média, desvio-padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos dos parâmetros avaliados na textura.

	Dureza (g)	Fraturabilidade (g)	Elasticidade	Coesividade	Mastigabilidade	Resiliência
Média ± DP	9364 ± 4229	8748 ± 4014	0,53 ± 0,08	0,28 ± 0,06	1222 ± 468	0,14 ± 0,04
CV	45,16	45,88	14,79	21,21	38,32	28,64
Mín	3462	3468	0,39	0,20	542	0,09
Máx	18451	18113	0,72	0,55	2469	0,34

Os valores de dureza, elasticidade e coesividade determinados no presente trabalho vão de encontro com os determinados por Lanza & Amoruso (2018) ao analisarem as cultivares Bella di Cerignola, Peranzana e Taggiasca sujeitas a cura natural, as quais forneceram os seguintes valores: Dureza: 8592, 6339 e 3541 g; Elasticidade: 0,46; 0,59 e 0,45; e Coesividade: 0,34; 0,30 e 0,27, respetivamente. Estes resultados voltam a sugerir um possível mistura de variedades provenientes das oliveiras centenárias, uma vez que em inúmeras situações é difícil determinar a variedade visualmente. Além disso, frutos da mesma variedade, em estados de maturação diferentes, também podem apresentar diferentes texturas, uma vez que as paredes celulares da azeitona vão-se tornando mais finas ao longo da maturação, e há uma maior separação celular devido a uma solubilização parcial da pectina, hemicelulose e celulose na matriz da parede celular (Prata et al., 2019). Estes fenómenos enfraquecem as paredes celulares e resultam num amaciamento da película da azeitona (Prata et al., 2019). À semelhança das outras análises, na textura os resultados foram separados por grupos como indicado na Tabela 11.

Tabela 11. Classificação por grupos para cada parâmetro.

Grupo	Dureza	Fraturabilidade	Elasticidade	Coesividade	Mastigabilidade	Resiliência
1	<4000	<5000	<0,4	<0,25	<700	<0,1
2	4000 - <8000	5000 - <10000	0,4 - <0,5	0,25 - <0,35	700 - <1400	0,1 - <0,2
3	8000 - <12000	10000 - <15000	0,5 - <0,6	0,35 - <0,45	1400 - <2100	0,2 - <0,3
4	≥12000	≥15000	≥0,6	≥0,45	≥2100	≥0,3

Como se pode verificar na Figura 13, o grupo 2 correspondeu ao maior número de amostras para os parâmetros fraturabilidade (43%), coesividade (64%), mastigabilidade (64%) e resiliência (86%). Já o parâmetro dureza teve a mesma percentagem para o grupo 1 e 3 (32%), estando a maioria das amostras (61%) contidas maioritariamente entre o intervalo das 4000 a 12000 g. Para o parâmetro elasticidade, o número maior de amostras foi observado no grupo 3 com uma percentagem de 43%. De referir que as amostras mostraram uma maior dispersão de valores no que se refere à dureza e fraturabilidade, seguidas da elasticidade, uma vez que se detetaram grupos diferentes com semelhante número de amostras. Já em termos de coesividade,

mastigabilidade e resiliência, mais de 60% das amostras se incluíram no grupo 2, com valores entre 0,25-<0,35, 700-<1400 e 0,1-<0,2.

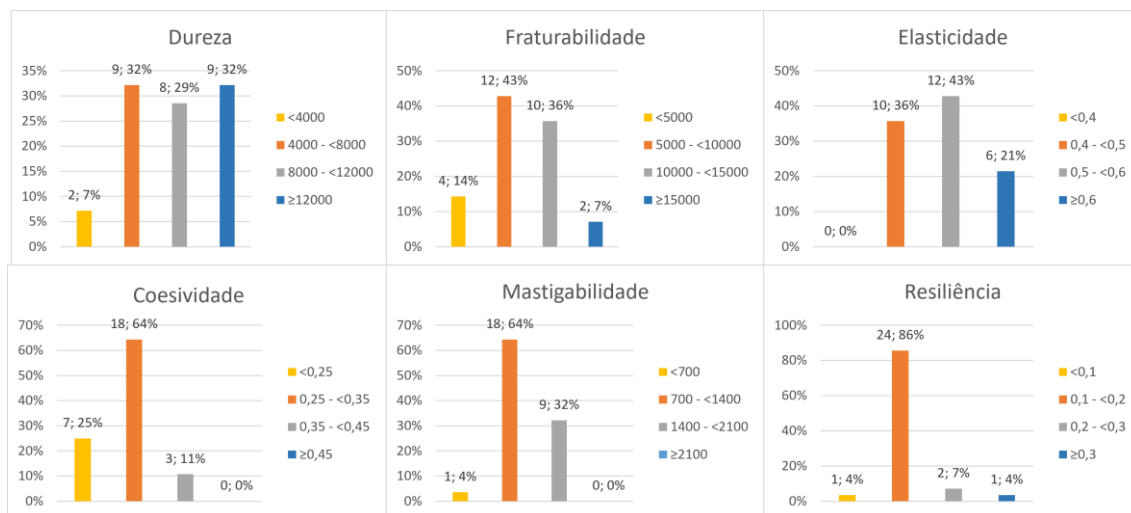


Figura 13. Identificação por grupos de classificação dos parâmetros analisados na medição de textura.

4.4 Composição nutricional

Para proceder à caracterização nutricional das azeitonas, foram determinados os teores de humidade, cinzas, proteína, sódio e potássio. Os resultados estão apresentados na Tabela 12. No teor de humidade o valor máximo que se obteve foi de 71,81% e o valor mínimo foi 54,65%, tendo um coeficiente de variação de 6,83%. Estes valores devem-se ao facto de a água ser o composto que está em maioria na composição do fruto. Os valores relativos ao teor de cinzas variaram entre 8,11% e 20,02% em p.s.. Esta variabilidade elevada traduziu-se num coeficiente de variação de 20,87%. Quando se observa um valor baixo de teor de cinzas, isto indica que o fruto tem menos resíduos minerais (cálcio, potássio, sódio e outros elementos), enquanto um valor alto significa o oposto. Nos resultados obtidos na determinação de proteína, estes variaram entre 2,11 e 6,62 % em p.s., tendo um coeficiente de variação de 25,98%.

Os dados apresentados são semelhantes aos referidos no trabalho realizado por Nogueira (2012), no estudo das cultivares Cobrançosa e Negrinha de Freixo (Teor de humidade: 62,9 a 78,4%; Teor de cinzas: 0,33 a 7,08%; Proteína: 2,9 a 4,6%). Almeida (2013), estudou as cultivares Cobrançosa e Negrinha de Freixo. No seu trabalho refere valores dos teores de cinza inferiores aos determinados no presente trabalho, variando

entre 2,59 e 6,63 % em p.s., sugerindo possivelmente o uso de uma salmoura de menor concentração. O teor de humidade e de proteína foram semelhantes variando entre 62,79 a 77,18% e 3,00 a 4,10%, respetivamente. Pires-Cabral et al. (2018) ao analisar azeitonas descaroçadas da cultivar Cobrançosa e sujeitas a fermentação natural (salmoura a 8%) durante 225 dias determinaram teores de humidade, cinzas e proteína iguais a 67,6 % p.f., 13,2% p.s. e 3,83 % p.s., respetivamente, valores em linha com os determinados no presente trabalho. Também resultados similares foram determinados por Ünal & Negiz (2003) em azeitonas pretas turcas da cultivar Memecik e sujeitas a fermentação natural com 10% de NaCl, após 12 meses (teores de humidade, cinzas e proteína iguais a 54,03%, 13,81% p.s. e 3,44% p.s., respetivamente).

Tabela 12. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimo e máximo da composição nutricional das azeitonas provenientes de oliveiras centenárias e sujeitas a fermentação natural.

	% teor de cinzas (p.s)	% teor de humidade	g proteína/100 g p.s	(g NaCl/100g mat seca)	(mg Na/100g mat seca)	(mg K/100g mat seca)
Média ± DP	12,4 ± 2,6	65,5 ± 4,5	4,2 ± 1,1	2,6 ± 1,5	1043 ± 607	152 ± 95
CV (%)	20,9	6,8	26,0	58,2	58,2	63
Mín	8,1	54,6	2,1	0,5	198	23
Máx	20,0	71,8	6,6	7,8	3048	518

Relativamente ao teor de sal, os valores variaram entre 0,5 e 7,8 g de NaCl /100 g de matéria seca. Pires-Cabral et al. (2018) ao analisar azeitonas descaroçadas da cultivar Cobrançosa e Ünal & Negiz (2003) em azeitonas pretas turcas da cultivar Memecik (cura natural, 12 meses), estudos anteriormente mencionados, determinaram um valor de sal de 12,1 e 10,8%, p.s., respetivamente, valores superiores aos determinados no presente trabalho. Este facto pode dever-se ao uso de salmouras mais concentradas por parte destes autores. Em relação ao sódio (Na) e potássio (K), estes desempenham um papel importante na saúde humana. A presença de sódio está relacionada com a cura das azeitonas, podendo a sua quantidade variar consoante a preparação e o tipo de azeitonas. Ao observar a Tabela 12 verificou-se que os valores de sódio presentes no fruto variaram entre 198 e 3048 mg Na/100 g de matéria seca. O valor médio determinado por Pires-Cabral et al. (2018) ao analisar azeitonas descaroçadas da cultivar Cobrançosa foi de 4,29

mg de Na/100 g mat seca, valor bastante inferior ao determinado no presente trabalho. Contudo, este valor não parece estar correto em relação ao de NaCl reportado pelos mesmos autores (12,1 % p.s), pois considerando a concentração de NaCl para determinar o Na correspondente, o valor obtido seria igual 4760 mg de Na/100 g p.s., o qual já se encontra na ordem de grandeza determinada no presente trabalho. Ünal & Negiz (2003) em azeitonas pretas turcas da cultivar Memecik sujeitas a cura natural após 12 meses obtiveram um valor de 5360 mg de Na/100 g p.s..

O potássio é um composto que é naturalmente encontrado nas plantas, e, portanto, está presente nas azeitonas, contribuindo para o perfil mineral das amostras analisadas. O teor de potássio variou entre 23 e 518 mg K/100 g de matéria seca. O valor médio determinado por Pires-Cabral et al. (2018) para o potássio (0,44 mg de K/100 g matéria seca) voltou a ser mais baixo do que o determinado no presente trabalho. Contudo, considera-se que este valor possa ter que ser revisto pelos autores. Ünal & Negiz (2003) em azeitonas pretas turcas da cultivar Memecik sujeitas a cura natural após 12 meses obtiveram um valor de 729 mg de K/100 g p.s..

De referir que o potássio é um mineral que permite controlar a pressão sanguínea, através do relaxamento dos vasos sanguíneos (American Heart Association, 2018). Segundo a American Heart Association (2018), as mulheres deveriam consumir diariamente 2600 mg de potássio, e os homens 3400 mg, verificando-se normalmente que o consumo é deficitário. Como exemplo, o consumo de uma banana média pode contribuir com 420 mg de potássio (American Heart Association, 2018). Assim, o consumo de algumas cultivares de azeitonas provenientes de oliveiras centenárias deve ser promovido para ajudar a atingir estes valores recomendados, pois algumas amostras apresentaram valores interessantes neste mineral.

4.5 Ácido gordos

Os ácido gordos podem ser agrupados em saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e polinsaturados (PUFA) (Gesto, 2014), estando também incluídos os isómeros *trans*.

A composição em ácidos gordos saturados está apresentada na Tabela 13. O ácido gordo saturado mais abundante nas amostras analisadas foi o ácido palmítico (C_{16:0}), variando entre 11,47 e 15,24%, seguindo-se o ácido esteárico (C_{18:0}) com uma variação

de 1,59 a 3,63%. Estes valores são similares aos apresentados por Nogueira (2012) que variaram entre 10,68 e 13,68% para o ácido palmítico e 1,45 a 4,88% para o ácido esteárico. Coimbra-Gomes *et al.* (2023), ao estudarem a fermentação da cultivar Cobrançosa, sujeita a diferentes estratégias de inoculação com a bactéria *Lactiplantibacillus pentosus* i106 também verificaram que o ácido palmítico variou entre 12,41 e 14,10%. Ünal & Negiz (2003), em azeitonas pretas turcas da cultivar Memecik sujeitas a cura natural após 12 meses, obtiveram percentagens médias para o ácido palmítico e ácido esteárico iguais a 11,38 e 2,25%, respetivamente, indicando a mesma ordem de grandeza dos valores determinados no presente trabalho.

Todos os outros ácidos gordos saturados detetados nas amostras do presente trabalho, designadamente o ácido mirístico (C_{14:0}), ácido margárico (C_{17:0}), ácido araquídico (C_{20:0}), ácido beénico (C_{22:0}) e ácido lignocérico (C_{24:0}), não ultrapassaram os 1%. Coimbra-Gomes *et al.* (2023) também detetaram estes ácidos gordos na cultivar Cobrançosa após fermentação.

Tabela 13. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em ácidos gordos saturados (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

	Ácido mirístico (C _{14:0})	Ácido palmítico (C _{16:0})	Ácido margárico (C _{17:0})	Ácido esteárico (C _{18:0})	Ácido araquídico (C _{20:0})	Ácido beénico (C _{22:0})	Ácido lignocérico (C _{24:0})
Média ± DP	0,010 ± 0,002	13,31 ± 0,95	0,098 ± 0,06	2,43 ± 0,48	0,36 ± 0,05	0,1 ± 0,01	0,05 ± 0,01
CV (%)	15,28	7,1	64,64	19,57	13,97	13,36	24,27
Mín	0,008	11,47	0,034	1,59	0,3	0,08	0,03
Máx	0,02	15,24	0,25	3,63	0,47	0,14	0,08
Σ SFA = 16,4 ± 1,6							

Entre os ácidos gordos monoinsaturados, o que se destacou foi o ácido oleico (C_{18:1}), como mostrado na Tabela 14, variando entre 64,32 e 79,81 %. Estes valores foram semelhantes aos referidos por Nogueira (2012) (68,28 a 82,97%), Coimbra-Gomes *et al.* (2023) (64,19-68,5%) e Ünal & Negiz (2003) (73,90±2,08%). Também foram detetados os ácidos palmitoleico (C_{16:1}), heptadecenoico (C_{17:1}) e eicosenoico (C_{20:1}), em percentagens inferiores a 1,5%. Coimbra-Gomes *et al.* (2023) também detetaram estes ácidos gordos na cultivar Cobrançosa sujeita a fermentação natural.

Tabela 14. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em ácidos gordos monoinsaturados (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

	Ácido palmitoleico (C16:1)	Ácido heptadecenoico (C17:1)	Ácido oleico (C18:1)	Ácido eicosenoico (C20:1)
Média ± DP	0,89 ± 0,27	0,17 ± 0,12	72,91 ± 4,85	0,29 ± 0,03
CV	30,43	68,15	6,65	8,83
Mín	0,54	0,07	64,32	0,25
Máx	1,42	0,42	79,81	0,37
Σ MUFA = 74,3 ± 5,3				

Em relação aos polinsaturados, o ácido mais abundante nas amostras em estudo foi o ácido linoleico (C_{18:2}), tendo os valores variado entre 2,53 e 16,36% (Tabela 15). Já o ácido linolénico (C_{18:3}) apresentou uma percentagem inferior a 2%, variando entre os 0,6 e 1,2%. Coimbra-Gomes *et al.* (2023) determinaram valores entre 7,93 e 10,72% para o C_{18:2}, e 0,74 e 0,95% para o C_{18:3} durante a fermentação da cultivar Cobrançosa. Ünal & Negiz (2003) determinaram valores iguais a 9,94±0,93% para o C_{18:2}, e 1,00±0,09% para o C_{18:3} durante a fermentação da cultivar Memecik (azeitona preta) sujeita a cura natural, após 12 meses.

Tabela 15. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em ácidos gordos polinsaturados (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

	Ácido linoleico (C18:2)	Ácido linolénico (C18:3)
Média ± DP	8,45 ± 4,75	0,90 ± 0,20
CV (%)	56,17	22,70
Mín	2,53	0,60
Máx	16,36	1,20
Σ PUFA = 9,35 ± 5,00		

Os isómeros *trans*, que estão representados na Tabela 16, não apresentaram valores superiores a 0,1%. Este facto era esperado uma vez que as gorduras *trans* são normalmente formadas por hidrogenação industrial, envolvendo o aquecimento e hidrogenação de óleos vegetais líquidos para realizar a sua solidificação, ou em processos de hidrogenação natural que ocorre no rúmen dos animais, podendo estas gorduras ser encontradas em pequenas quantidades na carne ou leite (De Souza et al., 2015).

Tabela 16. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da composição em isômeros *trans* (%) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

	C _{18:1t}	C _{18:2t}
Média ± DP	0,011 ± 0,002	0,016 ± 0,006
CV (%)	21,35	33,73
Mín	0,01	0,01
Máx	0,02	0,03
Σ <i>trans</i> = 0,03 ± 0,01		

Em termos gerais, verificou-se ainda que os frutos em estudo são constituídos maioritariamente por ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), representando 74,3% dos ácidos gordos totais, em linha com a presença do ácido oleico (ácido gordo predominante nas azeitonas). No trabalho realizado por Sousa (2008), para azeitonas de mesa descaroçadas “alcaparras” é referido que os ácidos gordos que estavam presentes em maior quantidade foram também os monoinsaturados (78,89%), seguindo-se os saturados (16,46%) e, por fim, os polinsaturados e os isômeros *trans*, com 3,44 e 0,05%, respetivamente.

4.6 Antioxidantes

A atividade antioxidante dos extratos de azeitona foi avaliada pelos métodos: capacidade redutora total, efeito bloqueador de radicais livres (DPPH), poder redutor e método de redução de ferro (FRAP). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 17, onde constam a média e o desvio padrão de cada método. Todos os métodos têm uma grande variação de resultados. A capacidade redutora total variou entre 8,51 e 19,38 mg ácido gálico/ g amostra p.s.. No método de DPPH, os resultados variaram entre 3,89 e 21,98 mg trolox/g amostra p.s., no poder redutor entre 21,07 e 54,43 mg trolox/ g amostra p.s. e os valores obtidos no método de redução de ferro (FRAP) variaram entre 19,42 e 41,49 mg FeSO₄.7H₂O/ g amostra p.s.. Os valores da capacidade redutora total vão de encontro aos determinados por Ardic & Aktas (2023) em azeitonas verdes da cultivar Kalamata durante 20 dias de fermentação (1,52 a 7,49 mg GAE/g amostra) e superiores ao indicado por Pires-Cabral *et al.* (2018) em azeitonas descaroçadas da cultivar Cobrançosa sujeitas a fermentação durante 225 dias (4,78 mg GAE/g amostra), sugerindo que estes compostos podem existir numa gama de valores bastante ampla, resultado das diferenças entre cultivares, estados de maturação e processamento aplicado.

Tabela 17. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da atividade antioxidante determinada nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

	Capacidade redutora total mg Ác. Gál./ g amostra p.s.	DPPH mg Trolox/ g amostra p.s.	Poder redutor mg Trolox/ g amostra p.s.	FRAP mg FeSO₄.7H₂O/ g amostra p.s
Média ± DP	12,7 ± 3,1	11,4 ± 4,3	37,5 ± 8,2	29,4 ± 5,2
CV (%)	24,1	37,5	22,0	17,8
Mín	8,5	3,9	21,1	19,4
Máx	19,4	22,0	54,4	41,5

Os resultados obtidos na atividade antioxidante foram separados em grupos com diferentes intervalos, para melhor perceber em que conjunto se observava o maior número de amostras. Os grupos formados estão indicados na Tabela 18.

Tabela 18. Intervalos considerados para agrupar os resultados obtidos na análise da atividade antioxidante.

Grupo	Capacidade redutora total	DPPH	Poder redutor	FRAP
1	<10	<9	<28	<25
2	10 - <13	9 - <12	28 - < 37	25 - <30
3	13 - <16	12 - <15	37 - <46	30 - <36
4	>16	>15	>46	>36

Em termos gerais, como se pode verificar na Figura 14, as amostras apresentaram valores nos quatro métodos muito variáveis e distribuídos pelos quatro grupos. Na capacidade redutora total observou-se que a maioria das amostras pertenceu ao grupo 2 com 54%, referente ao intervalo de 10 a <13 mg ácido gálico/ g amostra p.s.. No método DPPH, 32% das amostras concentrou-se no terceiro grupo, no intervalo de 12 a <15 mg trolox/g amostra p.s., seguido do primeiro grupo (<9 mg trolox/g amostra p.s.) com 29% das amostras. No poder redutor, 43% das amostras pertenceu ao grupo 2, no intervalo de 28 a <37 mg trolox/g amostra p.s., tendo o terceiro grupo (37 - <46 mg trolox/g amostra p.s.) incluído 32% das amostras. Relativamente ao método de redução de ferro, a maior parte das amostras em estudo (39%) também se incluiu no grupo 2, no intervalo de 25 a <30 mg FeSO₄.7H₂O/ g amostra p.s.. Adicionalmente, 29 e 21% das amostras se incluíram nos grupos 3 e 1, respetivamente.

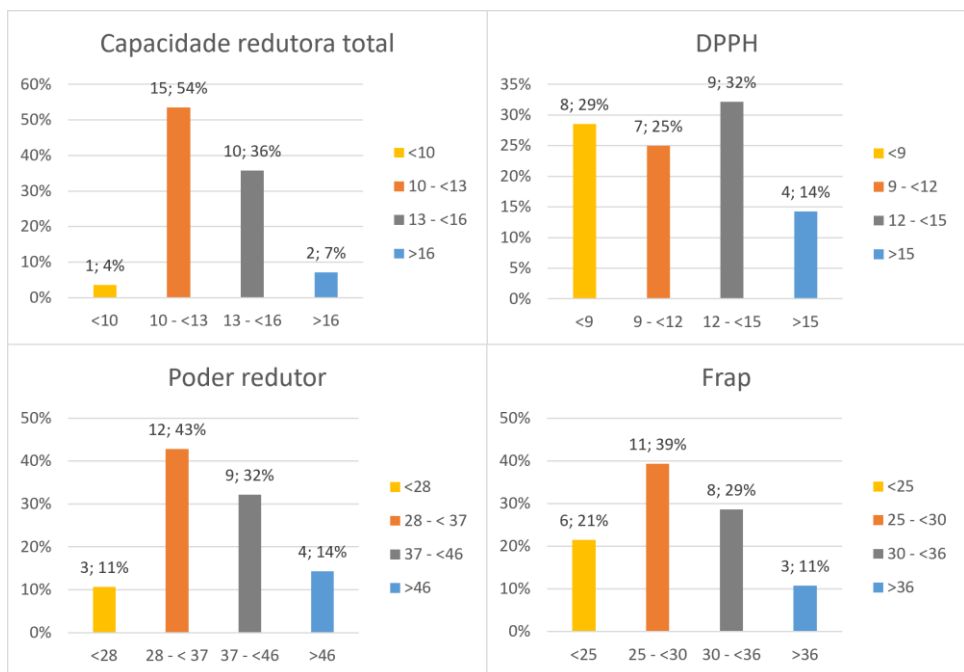


Figura 14. Identificação por grupos de classificação para os métodos utilizados na determinação da atividade antioxidante: (A) Capacidade Redutora Total; (B) DPPH; (C) Poder Redutor; e (D) FRAP, determinada nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

4.7 Análise sensorial

Todas as amostras foram analisadas sensorialmente, estando os resultados representados na Figura 15. De todas as amostras, 28 apresentaram algum defeito, contudo só 7 apresentaram defeitos relacionados com o pútrido, sapateira e butírico.

Assim, verificou-se que a maioria das amostras analisadas apresentaram uma classificação na fermentação anormal (relativa à presença de defeitos relacionados com a detecção de sapateira, butírico ou pútrido) baixa (classificação inferior a 3), existindo seis amostras como outliers.

Pelo contrário, nos outros defeitos já se observou uma maior variação nos valores, contudo, a mediana foi próxima de 4. Em relação às características de salgado, amargo, ácido, dureza, fibrosidade e crocância, observou-se variabilidade entre as amostras, tendo o ácido sido a propriedade mais homogênea, com menor variabilidade. Em relação ao salgado, os resultados estão em linha com os observados anteriormente para a concentração de sal (NaCl), pois tinha-se já observado uma variação significativa nos valores (0,5 a 7,8 g de sal/100 g p.s.).

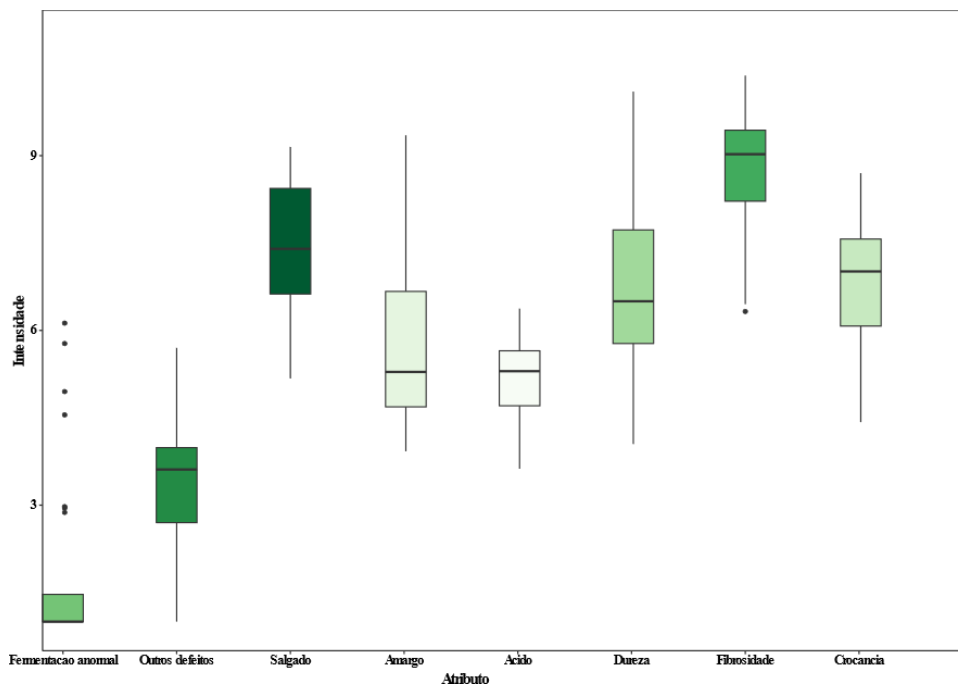


Figura 15. Parâmetros avaliados na análise sensorial realizada às azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

Na Figura 16 encontram-se indicados os defeitos que foram identificados na prova sensorial. O defeito mais sentido foi o sabor avinhado (53%), seguido do sabor a mofo (28%), pútrido (14%) e, por fim, o sabor de sapateira (5%). Isto significa que as amostras que apresentaram estes defeitos precisavam de terem sido sujeitas a procedimentos com um maior grau de cuidado durante a fermentação. Algumas ações importantes a serem feitas passariam pela medição do pH e temperatura, a quantidade de oxigénio presente na fermentação e fazer análises microbiológicas na salmoura para saber qual a flora presente na mesma.

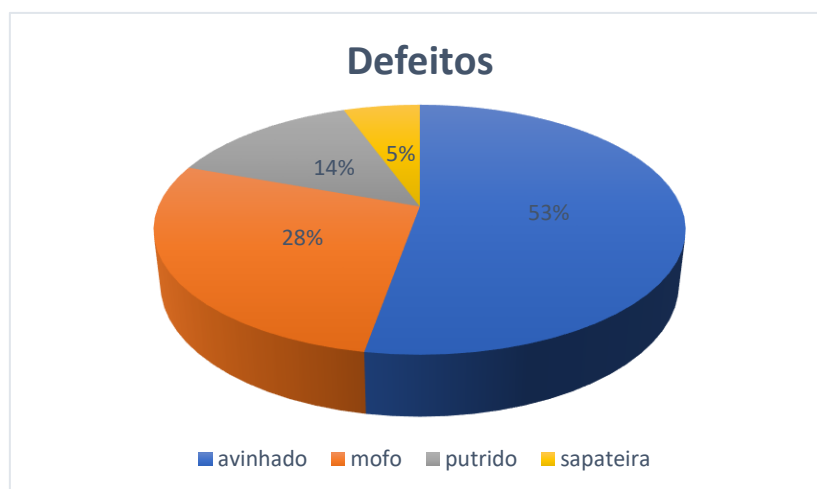


Figura 16. Percentagem (%) de defeitos encontrados na prova sensorial.

Na Tabela 19 encontram-se indicados os valores dos defeitos determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias. Os valores variaram entre 1,95 e 4,78, 1,88 e 5,13, 1,75 e 4,70, e 1,18 e 3,15 para os defeitos sapateira, pútrido, mofo e avinhado, respectivamente. No entanto, os valores médios foram iguais a 3,36; 3,30; 3,32 e 2,37, respectivamente, sendo valores considerados baixos.

Tabela 19. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos da fermentação anormal e outros defeitos determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

	Sapateira	Pútrido	Mofo	Avinhado
Média ± DP	3,36 ± 1,41	3,30 ± 1,23	3,32 ± 1,14	2,37 ± 0,63
CV (%)	42,0	37,4	34,3	26,5
Mín	1,95	1,88	1,75	1,18
Máx	4,78	5,13	4,70	3,15

Em relação aos outros parâmetros que foram analisados na prova de perfil sensorial (salgado, amargo, ácido, dureza, fibrosidade e crocância), pôde-se perceber, como indicado na Tabela 20, que existiu variabilidade entre as amostras. Verificou-se que no parâmetro do sabor salgado, as amostras foram classificadas entre 4,05 e 8,45, para o sabor amargo entre 2,90 e 8,75, e no sabor ácido entre 2,55 e 6,00. Nos parâmetros de dureza, fibrosidade e crocância, estes variaram entre 2,75 e 9,30, 4,75 e 9,50, e 2,70 e 7,85, respectivamente.

Tabela 20. Média, desvio padrão, coeficiente de variação e valores mínimos e máximos dos parâmetros sensoriais (salgado, amargo, ácido, dureza, fibrosidade e crocância) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

	Salgado	Amargo	Ácido	Dureza	Fibrosidade	Crocância
Média ± DP	6,51 ± 1,13	4,73± 1,48	4,15 ± 0,72	5,62 ± 1,40	7,72 ± 1,14	5,74 ± 1,26
CV	17,29	31,29	17,25	24,91	14,83	21,90
Mín	4,05	2,90	2,55	2,75	4,75	2,70
Máx	8,45	8,75	6,00	9,30	9,50	7,85

Estes resultados estão em linha com os indicados por Lanza & Amoruso (2018) que ao analisarem as cultivares Bella di Cerignola, Peranzana e Taggiasca sujeitas a cura natural, obtiveram os seguintes valores para a dureza e a crocância: 5,9 e 5,5 (considerados valores elevados); 4,9 e 4,8; e 3,7 e 3,9, respetivamente, sugerindo diferenças entre as variedades. Panagou et al. (2006) ao analisar sensorialmente azeitonas pretas de cura natural das cultivares Conservolea e Kalamata (inteiras) obtiveram as seguintes classificações: Salgado – 7,20 e 5,60; Amargo – 2,00 e 2,50; Ácido: 4,00 e 7,60, e Crocância - 1,80 e 7,00, mostrando existir diferenças entre elas. A variedade Kalamata apresentou melhores características tecnológicas (melhor textura) para a fermentação (Panagou et al., 2006), sugerindo que entre as amostras colhidas nas oliveiras centenárias, algumas parecem ser mais adequadas para serem sujeitas a fermentação do que outras, nomeadamente as que apresentaram valores de crocância mais elevados, pois é um parâmetro que é valorizado pelo consumidor no ato da compra.

Para tentar perceber como é que as amostras do presente trabalho se encontravam distribuídas, criaram-se 4 grupos. No grupo 1 foram incluídos os valores abaixo de 2,5, no grupo 2 valores entre 2,5 e <5, no grupo 3 entre 5 e <7,5, e no grupo 4 valores superiores ou iguais a 7,5. A Figura 17 mostra que os parâmetros que têm o maior número de amostras no grupo 2 são o amargo (64%) e o ácido (89%), no grupo 3 são o salgado (75%), a dureza (50%) e a crocância (64%), e no grupo 4 a fibrosidade (64%). No grupo 1 não se observaram amostras, ou seja, não existiram amostras com uma classificação inferior a 2,5.

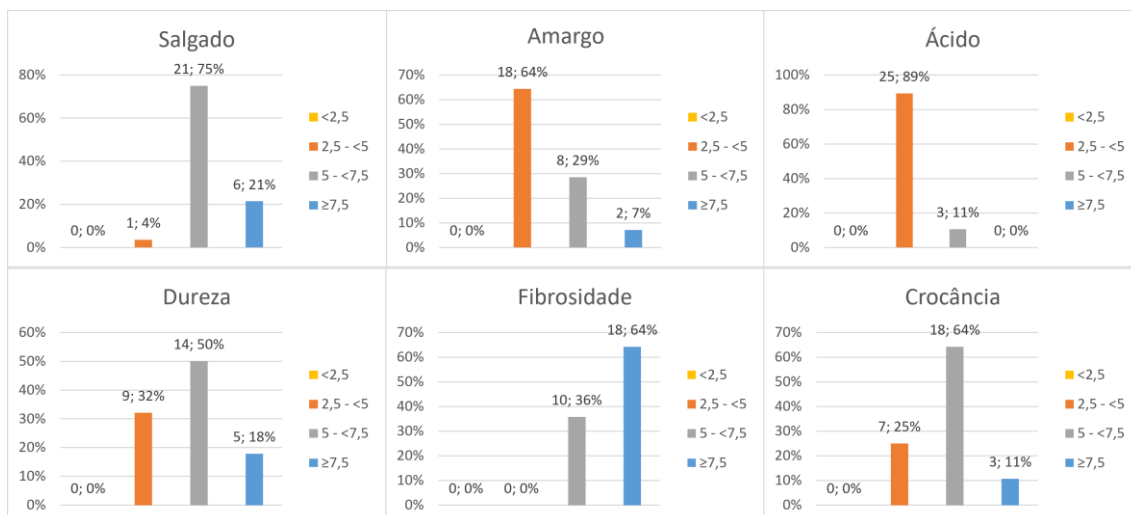


Figura 17: Identificação das amostras classificadas em grupos (parâmetros: salgado, amargo, ácido, dureza, fibrosidade e crocância).

Na Figura 18 encontra-se representada a distribuição por classes dos valores relativos à fermentação anormal e dos defeitos. Tendo em conta a classificação dos defeitos, as azeitonas podem ser classificadas em extra, se os valores estiverem compreendidos entre 1 e 3, na categoria 1 se forem valores entre 3 e 4,5, na categoria 2 se forem valores entre 4,5 e 7, e quando superior a 7, estas não podem ser comercializadas como azeitona de mesa.

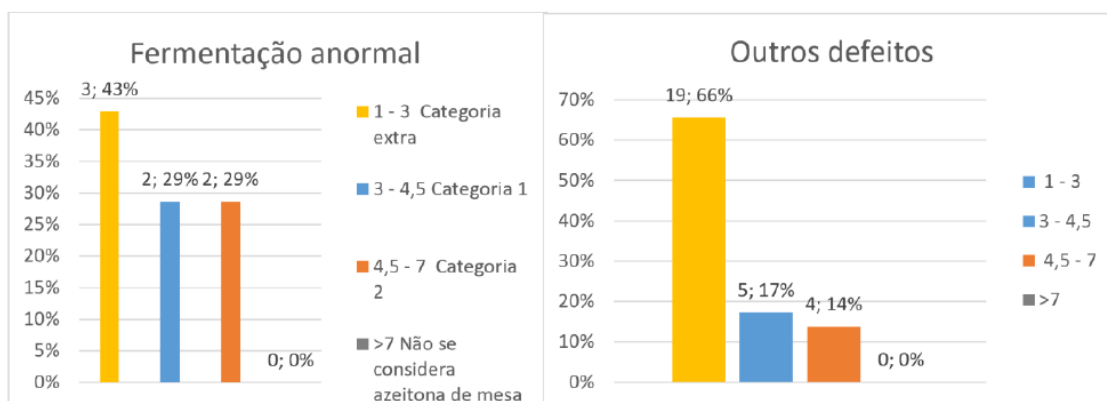


Figura 18. Identificação de classes (categoria extra; categoria 1; categoria 2 e categoria em que não se considera azeitona de mesa).

Face aos resultados obtidos verificou-se que das 28 amostras em estudo, 7 apresentaram defeitos por fermentação anormal. Contudo, 43% são classificadas como Extra. Relativamente aos outros defeitos, das 28 amostras, 19 (66%) classificam-se como

categoria Extra. Nenhuma amostra se situou no intervalo acima de 7 e, por isso, as amostras não foram categorizadas como “não consideradas para azeitona de mesa”.

4.8 Análise estatística

A Análise de Componentes Principais (PCA) é uma técnica de análise multivariada que reduz a dimensionalidade dos dados sem que ocorram perdas de informação (Nasr et al., 2021). Além disso, fornece uma visão geral dos resultados onde é possível identificar agrupamentos de dados, tendências e outliers. Na Figura 19 estão apresentados os valores da cor, textura, composição nutricional e perfil em ácidos gordos. Pôde observar-se relativamente à cor (Figura 19A), a existência de uma grande diversidade de resultados nos diferentes parâmetros avaliados, destacando-se ainda três amostras (33, 61 e 138) das restantes. Relativamente à textura (Figura 19B), observou-se que algumas amostras apresentaram maior elasticidade (situadas do lado esquerdo do gráfico) face a outras, localizadas do lado direito do gráfico, apresentando maior fraturabilidade. Adicionalmente algumas amostras apresentaram uma elevada coesividade (amostras 1, 17, 27 e 33) e resiliência (amostras 3 e 65). Quanto à composição nutricional (Figura 19C), observa-se que as amostras se situam na zona central do gráfico, ligeiramente para o lado esquerdo, devido aos valores de humidade e proteína. Contudo, algumas amostras se destacam pelo seu teor de sal (amostras 61, 63 e 70) e de potássio (amostras 56 e 88).

Em relação ao perfil em ácidos gordos (Figura 19D), verificou-se um agrupamento das amostras em relação ao grau de saturação dos ácidos gordos presentes. Pôde observar-se que as amostras 61, 63 e 70 foram aquelas que apresentaram os maiores teores de $C_{18:1}$ e conseqüentemente os maiores teores de MUFA. O mesmo é observado nas amostras 1, 3, 30, 33 e 34 que apresentaram maiores valores de $C_{16:1}$ e $C_{20:1}$. Já as amostras 2, 22, 26, 49, 65 e 74 apresentaram um perfil mais saturado, destacando-se os ácidos gordos $C_{17:0}$, $C_{20:0}$, $C_{22:0}$ e $C_{24:0}$. As amostras 17, 24, 27, 42, 56, 82, 88, 95 e 138 apresentaram um perfil polinsaturado. Com a aplicação desta PCA conseguiu-se explicar 65,3% da variabilidade total dos resultados.

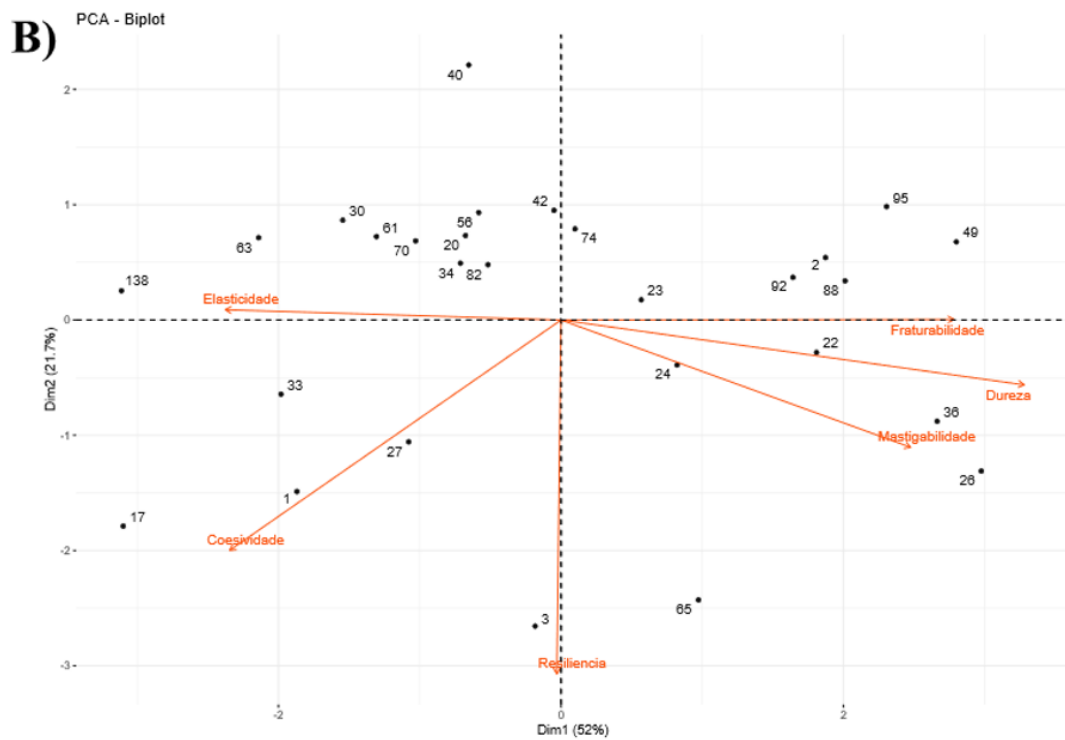
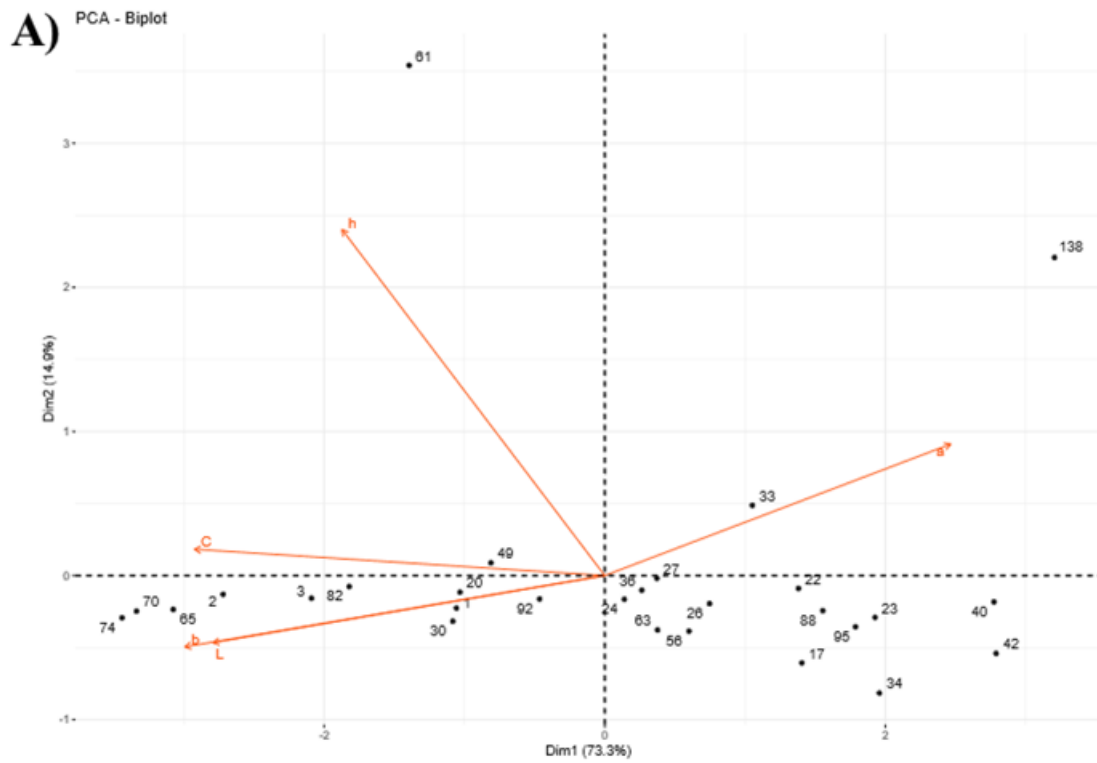


Figura 19: Análise de componentes principais para os resultados obtido na cor (A), textura (B), composição nutricional (C) e perfil em ácidos gordos (D) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.

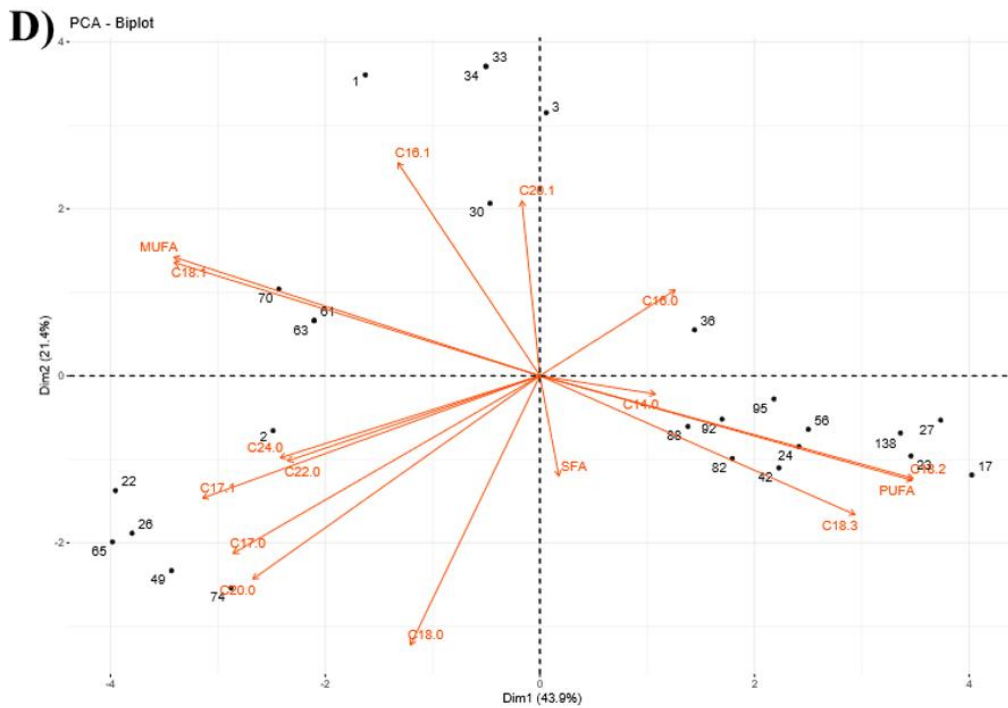
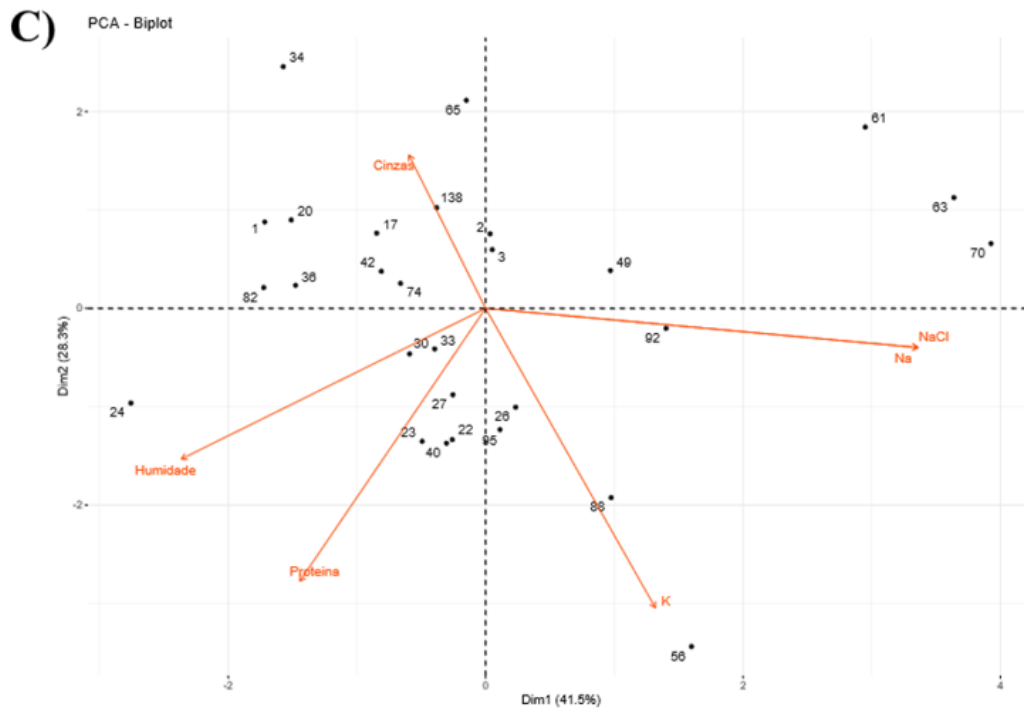


Figura 19 (cont.): Análise de componentes principais para os resultados obtido na cor (A), textura (B), composição nutricional (C) e perfil em ácidos gordos (D) determinados nas azeitonas provenientes de oliveiras centenárias.



Capítulo 5

Conclusão

5. Conclusão

Em relação ao peso das azeitonas recolhidas de 28 oliveiras centenárias, 96% dos frutos apresentaram massas entre as 2 e as 4 gramas, apresentando os restantes 4%, massas superiores entre as 4 e as 6 gramas. A maior parte dos frutos (71%) apresentou a forma ovoide, enquanto 18% apresentaram a forma alongada e 11% a forma esférica, sugerindo a existência de mistura de cultivares. Os frutos também apresentaram cores diferentes, com 96% das amostras com valores de tonalidade (h) entre os 45 e inferior a 90. Na textura avaliada instrumentalmente foram detetadas diferenças entre as amostras, bem como ao nível nutricional (humidade, cinzas, proteínas, sal e potássio). Em relação aos ácidos gordos, tal como seria de esperar, o ácido oleico (C_{18:1}) foi o maioritário com percentagens entre 64,32 e 79,81%, seguido do ácido palmítico (C_{16:0}), o qual variou entre 11,47 e 15,24%. De referir que o ácido linoleico (C_{18:2}) apresentou uma maior amplitude de valores, entre 2,53 e 16,36%, indicando a existência de amostras ricas neste ácido gordo. Também na atividade antioxidante, as amostras apresentaram diferentes capacidade reductora, atividade sequestradora do radical livre DPPH, poder reductor e FRAP.

Em termos gerais, as azeitonas recolhidas nas oliveiras centenárias apresentaram alguma variabilidade nos parâmetros analisados, contudo 66% das amostras foram classificadas como sendo de categoria extra, o que demonstra o seu futuro potencial. De forma a valorizar e assegurar este património genético poderão no futuro existir outros contributos, podendo-se fazer o cruzamento dos resultados já obtidos na caracterização morfológica com a caracterização genética, através de marcadores moleculares.

Referências Bibliográficas

- Alexandraki, V., Georgalaki, M., Papadimitriou, K., Anastasiou, R., Zoumpoulou, G., Chatzipavlidis, I., Papadelli, M., Vallis, N., Moschochoritis, K., & Tsakalidou, E. (2014). Determination of triterpenic acids in natural and alkaline-treated Greek table olives throughout the fermentation process. *LWT - Food Science and Technology*, **58**(2), 609–613. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.005>
- Alves, M. L. V. (2007). Caracterização e estrutura genéticas da cultivar de oliveira «Cobrançosa» e sua relação com o zambujeiro [Dissertação para obtenção de grau de mestre em Biologia Celular e Biotecnologia, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa]. <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/1358>
- American Heart Association. (2018). A Primer on Potassium. <https://www.heart.org/en/healthy-living/healthy-eating/eat-smart/sodium/potassium>. Acedido em 23 de outubro de 2023.
- Ardic, Z., & Aktas, A. B. (2023). Enrichment of green table olives by natural anthocyanins during fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, **60**(8), 2244–2254. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05751-x>
- asemesa. (2019). The Olive, History and Curiosities. [asemesa.es. https://asemesa.es/en/the-olive-history-and-curiosities/](https://asemesa.es/en/the-olive-history-and-curiosities/) Acedido em 23 de outubro de 2023.
- Bandelj, D., Jakše, J., & Javornik, B. (2004). Assessment of genetic variability of olive varieties by microsatellite and AFLP markers. *Euphytica*, **136**(1), 93–102. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000019552.42066.10>
- Barros, A. I., Freire, I., Gonçalves, B., Bacelar, E., Gomes, S., Lopes, J., Guedes-Pinto, H., & Martins-Lopes, P. (2013). Evaluation of chemical and phenotypic changes

- in Blanqueta, Cobrançosa, and Galega during olive fruits ripening. *CyTA - Journal of Food*, **11**(2), 136–141. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.705329>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, **239**(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Berker, K. I., 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**(3), 1157–1165. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.01.019>
- Berker, K. I., Ozdemir Olgun, F. A., Ozyurt, D., Demirata, B., & Apak, R. (2013). Modified Folin-Ciocalteu antioxidant capacity assay for measuring lipophilic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**(20), 4783–4791. <https://doi.org/10.1021/jf400249k>
- Bianchi, G. (2003). Lipids and phenols in table olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **105**(5), 229–242. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200390046>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, **28**(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brenes, M., Ramírez, E., García, P., Medina, E., de Castro, A., & Romero, C. (2018). New developments in table olive debittering. *Acta Horticulturae*, **1199**, 483–488. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1199.77>
- Brito, M. D., Catulo, L., Peres, C., Delgado, A., & Quintans, F. (2008). The role of bacteriocin producers in table-olive fermentation. In M. T. Ozkaya, S. Lavee, &

- L. Ferguson (Eds.), Proceedings of the Fifth International Symposium on Olive Growing, Vols 1 and 2 (Número 791, pp. 631–635). Int Soc Horticultural Science. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.791.96>
- Chalak, L., Elkhawand, H., & Elbitar, A. (2014). In Vitro Regeneration of Centennial Olive Trees (*Olea europaea* L.). *Acta Horticulturae*, **1057**, 737–740. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1057.94>
- Chalak, L., Haouane, H., Essalouh, L., Santoni, S., Besnard, G., & Khadari, B. (2015). Extent of the genetic diversity in Lebanese olive (*Olea europaea* L.) trees: A mixture of an ancient germplasm with recently introduced varieties. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **62**(4), 621–633. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0187-1>
- Chalak, L., Youssef, A., Hamadeh, A., Khadari, B., & El Riachy, M. (2018). In-situ preliminary assessment of centennial olive trees in Lebanon indicates a high potential for selection. | *International Society for Horticultural Science*, **1199**, 33–40. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1199>
- COI. (2011). Method For The Sensory Analysis Of Table Olives. COI - Conselho Oleícola Internacional. <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods/>
- Coimbra-Gomes, J., Reis, P. J. M., Tavares, T. G., Silva, A. A., Mendes, E., Casal, S., Malcata, F. X., & Macedo, A. C. (2023). Cobrançosa Table Olive Fermentation as per the Portuguese Traditional Method, Using Potentially Probiotic *Lactiplantibacillus pentosus* i106 upon Alternative Inoculation Strategies. *Fermentation*, **9**(1), Artigo 1. <https://doi.org/10.3390/fermentation9010012>

- Cordeiro, A., Sánchez Sevilla, J. F., Alvarez-Tinaut, M., & Gomez-Jimenez, M. (2008). Genetic diversity assessment in Portugal accessions of *Olea europaea* by RAPD markers. *Biologia Plantarum*, **52**, 642–647. <https://doi.org/10.1007/s10535-008-0125-1>
- de Almeida, S. C. (2013). Contributo para a caracterização do processo produtivo e da composição fenólica de “Azeitonas de conserva Transmontanas” [Dissertação para obtenção de grau de mestre em Qualidade e Segurança Alimentar]. Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária.
- de Florio Ramirez, E., Bellido-Valencia, O., Medina-Marroquin, L. A., & Vasquez-Chicata, A. (2019). Effect of Sodium Hydroxide Concentration, Temperature and Fruit Size on the Processing Time of Sevillian-Style Green Table Olives (*Olea europaea* L.). *Scientific Study and Research-Chemistry and Chemical Engineering Biotechnology Food Industry*, **20**(1), 21–28.
- de Souza, R. J., Mente, A., Maroleanu, A., Cozma, A. I., Ha, V., Kishibe, T., Uleryk, E., Budyłowski, P., Schünemann, H., Beyene, J., & Anand, S. S. (2015). Intake of saturated and *trans* unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, **351**, h3978. <https://doi.org/10.1136/bmj.h3978>
- Díez, C. M., Trujillo, I., Barrio, E., Belaj, A., Barranco, D., & Rallo, L. (2011). Centennial olive trees as a reservoir of genetic diversity. *Annals of Botany*, **108**(5), 797–807. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr194>

- Duarte, F., Jones, N., & Fleskens, L. (2008). Traditional olive orchards on sloping land: Sustainability or abandonment? *Journal of Environmental Management*, **89**(2), 86–98. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2007.05.024>
- Escobar, R. F., & Rallo, L. (2008). *El cultivo del olivo*. Mundi-Prensa Libros.
- FAO. (2018). Sistemas de patrimonio agrícola globalmente importantes. Combinando Biodiversidade Agrícola. Ecosistemas resilientes. Práticas Agrícolas Tradicionais e Identidade Cultural. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Globally+Important+Agricultural+Heritage+Systems.+Combining+Agricultural+Biodiversity.+Resilient+Ecosystems.+Traditional+Farming+Practices+and+Cultural+Identity&author=FAO&publication_year=2018
- Fernandes, G. M. (2014). Caracterização morfológica e genética de cultivares de oliveiras centenárias e tradicionais para a obtenção de produtos diferenciados [Dissertação para obtenção de grau de mestre em Qualidade e Segurança Alimentar, Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária]. <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/11449>
- Ferreira, A. C. E. (2015). Caracterização da cadeia de valor da azeitona de mesa [Dissertação para obtenção de grau de mestre em Engenharia Alimentar, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa]. <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/8511>
- Gesto, D. (2014). Ácidos Gordos. *Revista de Ciência Elementar*, **2**(4), 278. <https://doi.org/10.24927/rce2014.278>
- Gomes, L., Nobre, T., Sousa, A., Rei, F., & Guiomar, N. (2020). Hyperspectral Reflectance as a Basis to Discriminate Olive Varieties-A Tool for Sustainable

Crop Management. *Sustainability*, **12**(7), 3059.

<https://doi.org/10.3390/su12073059>

Huertas-Alonso, A. J., Gonzalez-Serrano, D. J., Hadidi, M., Salgado-Ramos, M., Orellana-Palacios, J. C., Sánchez-Verdú, M. P., Xia, Q., Simirgiotis, M. J., Barba, F. J., Dar, B. N., & Moreno, A. (2022). Table Olive Wastewater as a Potential Source of Biophenols for Valorization: A Mini Review. *Fermentation*, **8**(5), 215.

<https://doi.org/10.3390/fermentation8050215>

INE. (2023). Boletim Mensal da Agricultura e Pescas—Janeiro de 2023.

https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=280862535&PUBLICACOESmodo=2

INE. (2022c). Ano agrícola 2021/22 foi o mais quente e o terceiro menos chuvoso desde

1931—Outubro de 2022. Instituto Nacional de Estatística.
https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaquas&DESTAQUESdest_boui=540898375&DESTAQUESmodo=2

INE. (2022a). Superfície das principais culturas agrícolas (ha) por localização geográfica (Região agrária) e Espécie; Anual., Instituto Nacional de Estatística.

https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000019&xlang=pt&contexto=bd&selTab=tab2

INE. (2022b). Produção de azeitona (t) por Local de proveniência da azeitona (Região agrária); Anual. Instituto Nacional de Estatística.

https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000705&contexto=bd&selTab=tab2

IOC. (2022a). International workshop: Olive resilience to climate change [International

Olive Council]. Newsletter 175: The Latest News from the IOC.

- <https://www.internationaloliveoil.org/newsletter-175-the-latest-news-from-the-ioc/>
- IOC. (2022b). Production Table Olive. International Olive Council. <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/economic-affairs-promotion-unit/>
- Kumral, A. Y., Kumral, N. A., Kolcu, A., Maden, B., & Artik, B. (2020). Simulation Study for the Degradation of Some Insecticides during Different Black Table Olive Processes. *ACS Omega*, **5**(23), 14164–14172. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01907>
- Lanza, B., & Amoruso, F. (2018). Measurement of kinaesthetic properties of in-brine table olives by microstructure of fracture surface, sensory evaluation and texture profile analysis (TPA). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98**(11), 4142–4150. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8932>
- Leitão, F. A. (1986). Descrição de 22 variedades de oliveira cultivadas em Portugal. Direcção Geral de Planeamento e Agricultura.
- Marsilio, V., Campestre, C., & Lanza, B. (2001). Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing. *Food Chemistry*, **74**(1), 55.
- Melliou, E., Zweigenbaum, J. A., & Mitchell, A. E. (2015). Ultrahigh-Pressure Liquid Chromatography Triple-Quadrupole Tandem Mass Spectrometry Quantitation of Polyphenols and Secoiridoids in California-Style Black Ripe Olives and Dry Salt-Cured Olives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**(9), 2400–2405. <https://doi.org/10.1021/jf506367e>
- Nasr, E. G., Epova, E. N., de Diego, A., Souissi, R., Hammami, M., Abderrazak, H., & F X Donard, O. (2021). Trace Elements Analysis of Tunisian and European Extra

- Virgin Olive Oils by ICP-MS and Chemometrics for Geographical Discrimination. *Foods*, **11**(1), 82. <https://doi.org/10.3390/foods11010082>
- Navarro, L. R., Sanchez-Gomez, A.-H., & Vega Macias, V. (2008). New trends on the alkaline treatment «cocido» of Spanish or Sevillian Style green table olives. *Grasas Y Aceites*, **59**(3), 197–204.
- Nogueira, F. A. M. (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, Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária]. <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/7713>
- Panagou, E. Z., Tassou, C. C., & Skandamis, P. N. (2006). Physicochemical, microbiological, and organoleptic profiles of Greek table olives from retail outlets. *Journal of Food Protection*, **69**(7), 1732–1738. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.7.1732>
- Papadelli, M., Zoumpopoulou, G., Georgalaki, M., Anastasiou, R., Manolopoulou, E., Lytra, I., Papadimitriou, K., & Tsakalidou, E. (2015). Evaluation of Two Lactic Acid Bacteria Starter Cultures for the Fermentation of Natural Black Table Olives (*Olea europaea* L cv Kalamon). *Polish Journal of Microbiology*, **64**(3), 265–271. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0009.2121>
- Pereira, A. P., Pereira, J. A., Bento, A., & Estevinho, M. L. (2008). Microbiological characterization of table olives commercialized in Portugal in respect to safety aspects. *Food and Chemical Toxicology*, **46**(8), 2895–2902. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.05.033>

- Sousa, D. M. M., Bruno, R. de L. A., Dornelas, C. S. M., Alves, E. U., Andrade, A. P. de, & Nascimento, L. C. do. (2010). Caracterização morfológica de frutos e sementes e desenvolvimento pós-seminal de *Tamarindus indica* L. - Leguminosae: Caesalpinioideae. *Revista Árvore*, **34**(6), 1009–1015.
<https://doi.org/10.1590/S0100-67622010000600006>
- Ünal, K., & Nergiz, C. (2003). The effect of table olive preparing methods and storage on the composition and nutritive value of olives. *Grasas y Aceites*, **54**(1), 71-76.
<https://doi.org/10.3989/gya.2003.v54.i1.280>
- Warnert, J. (2011). New methods are transforming table olive and olive oil production in California. *California Agriculture*, **65**(1), 6–7.
- Pires-Cabral, P., Barros, T., Mateus, T., Prata, J., Quintas, C., Pires-Cabral, P., Barros, T., Mateus, T., Prata, J., & Quintas, C. (2018). The effect of seasoning with herbs on the nutritional, safety and sensory properties of reduced-sodium fermented Cobrançosa cv. Table olives. *AIMS Agriculture and Food*, **3**(4), 521–534.
<https://doi.org/10.3934/agrfood.2018.4.521>
- Prata, J., Barros, T., Mateus, T., Quintas, C., & Pires-Cabral, P. (2019). Production of split table olives of the Cobrançosa cultivar: A kinetic study of the fermentation profile. *Journal of Food Measurement and Characterization*, **13**(2), 949–958.
<https://doi.org/10.1007/s11694-018-0009-9>
- Rodrigues, N., Casal, S., Pinho, T., Cruz, R., Peres, A. M., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2021). Fatty Acid Composition from Olive Oils of Portuguese Centenarian Trees Is Highly Dependent on Olive Cultivar and Crop Year. *Foods*, **10**(3), 496.
<https://doi.org/10.3390/foods10030496>

- Rodrigues, N., Peres, A. M., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2022). Olive Oil Sensory Analysis as a Tool to Preserve and Valorize the Heritage of Centenarian Olive Trees. *Plants*, **11**, 257. <https://doi.org/10.3390/plants11030257>
- Rodrigues, N., Ramos, A. C., Pereira, J. A., & Ramalhosa, E. (2020). Azeitona de mesa, da tradição à inovação de produtos. *TecnoAlimentar*, **22**, 10-11. <http://www.tecnoalimentar.pt/noticias/azeitona-de-mesa-da-tradicao-a-inovacao-de-produtos/>
- Sales, H., Šatović, Z., Alves, M. L., Fevereiro, P., Nunes, J., & Vaz Patto, M. C. (2021). Accessing Ancestral Origin and Diversity Evolution by Net Divergence of an Ongoing Domestication Mediterranean Olive Tree Variety. *Frontiers in Plant Science*, **12**, Article 688214. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.688214>

