



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**FERMENTAÇÃO DE AZEITONAS PRETAS
AO NATURAL EM SALMOURA**

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E QUÍMICOS

Eng^a de Produção Agrícola

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Filipa Susana Tadeu Almeida Pires



CASTELO BRANCO

1998

ÍNDICE

I - INTRODUÇÃO	2
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1- DEFINIÇÃO DE AZEITONA DE MESA	4
2 - OBJECTIVOS DA CONSERVAÇÃO	4
3- CLASSIFICAÇÃO DA AZEITONA DE MESA BASEADA NA NORMA PORTUGUESA NP-3034 DE 1987	4
3.1 - Quanto ao tipo ou estado de maturação	4
3.2 - Quanto ao tratamento tecnológico	5
3.3 - Quanto à forma de apresentação	5
3.4 - Quanto ao calibre	6
3.5 - Quanto à qualidade	7
3.6 - Definição dos defeitos	7
3.7 - Características do fruto e da salmoura	9
3.7.1 - Características gerais	9
3.7.2 - Características da salmoura de cobertura	9
3.8 - Ingredientes e auxiliares tecnológicos	10
4 – AZEITONAS PRETAS AO NATURAL EM SALMOURA	11
4.1 - Fases de fabrico	11
5 – PROCESSO DE FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA	12
6 - FACTORES CONDICIONANTES DA FERMENTAÇÃO	12
6.1 - Concentração de cloreto de sódio e valor do pH –	12
6.2 - Influência da temperatura e concentração de açúcares	13
6.3- Influência dos polifenóis	13
6.4 - Composição do fruto	13
6.5 - Alterações	14
7 - FERMENTAÇÃO NATURAL	14
8- EVOLUÇÃO DA FLORA MICROBIANA DURANTE O PROCESSO FERMENTATIVO DE AZEITONAS PRETAS AO NATURAL EM SALMOURA	15
8.1- Leveduras	15
8.2 - Bactérias lácticas	17
8.3 - Outros micorganismos	19
8.3.1 - Bactérias Gram-negativas	19
8.3.2 - Bacilos Gram-positivos esporulados	20

8.3.3 - Bacilos Gram-positivos não esporulados	20
8.3.4 - Bolores	21
9 - EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA SALMOURA	22
9.1 - Cloreto de sódio	22
9.2 - pH	22
9.3 - Concentrações de açúcares redutores	22
9.4 - Polifenóis	23
9.5 - Acidez livre	23
10 - CONTROLO E CORRECÇÕES DA FERMENTAÇÃO	24
III - PARTE EXPERIMENTAL	
1 - CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL, DO FRUTO E DO PROCESSO DE FABRICO	26
2 - PERIODICIDADE DA COLHEITA, NÚMERO E TIPO DE AMOSTRAS	26
3 - MATERIAL	26
3.1 - Meios de cultura e diluentes	26
3.2 - Reagentes	28
3.2.1 - Reagentes utilizados nas análises microbiológicas, da Merck	28
3.2.2 - Reagentes utilizados nas análises físico-químicas, da Merck	29
3.3 - Kits físico-químicos	30
3.4 - Aparelhos	30
3.5 - Outro material	30
4 - METODOLOGIA	31
4.1 - Colheita da amostra	31
4.2 - Análises microbiológicas	32
4.2.1 - Preparação da amostra	32
4.2.2 - Contagem de leveduras e bolores e identificação de leveduras	32
4.2.2.1 - Sementeira e incubação	32
4.2.2.2 - Contagem das colónias	32
4.2.2.3 - Selecção e repicagem das colónias	32
4.2.2.4 - Identificação	33
4.2.3 - Contagem e identificação de bactérias lácticas	33
4.2.3.1 - Sementeira e incubação	33
4.2.4 - Contagem de coliformes e outras bactérias da família Enterobacteriaceae	34
4.2.4.1 - Sementeira e incubação	34
4.2.4.2 - Contagem das colónias	34
4.2.5 - Contagem de Pseudomonas sp.	34

4.2.5.1 - Sementeira e incubação	34
4.2.5.2 - Contagem das colónias	34
4.2.6 - Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
4.2.6.1 - Sementeira e incubação	34
4.2.6.2 - Identificação das colónias	35
4.2.7 - Contagem de <i>Enterococcus</i> sp.	35
4.2.7.1 - Sementeira e incubação	35
4.2.7.2 - Contagem das colónias	35
4.3 - Análises físico-químicas	36
4.3.1 - Descrição do método analítico	36
4.3.2 - pH	36
4.3.3 - Manganês	36
4.3.4 - Amónia	37
4.3.5 - Sulfitos	37
4.3.6 - Ferro	37
4.3.7 - Peróxidos	37
4.3.8 - Nitritos	38
4.3.9 - Nitratos	38
4.3.10 - Potássio	38

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 - Resultados e Discussão	40
5.1 - Análises microbiológicas	40
5.1.1 - Resultados da contagem de leveduras e de bolores e identificação de leveduras	40
5.1.1.1 - Contagem das leveduras	40
5.1.1.2 - Contagem de bolores	41
5.1.1.3 - Identificação de leveduras	41
5.1.2 - Resultados da contagem e identificação das bactérias lácticas	44
5.1.2.1 - Contagem das bactérias lácticas	44
5.1.2.2 - Identificação das bactérias lácticas	45
5.1.3 - Contagem e identificação de bactérias da família Enterobacteriaceae	45
5.1.4 - Contagem de <i>Enterococcus</i> sp.	46
5.1.5 - Contagem de <i>Pseudomonas</i> sp.	47
5.1.6 - Contagem de <i>Staphylococcus</i> sp.	48
5.2 - Análises físico-químicas	49
5.2.1 - Variação dos valores de pH	50
5.2.2 - Evolução do teor de Peróxidos (O_2^{2-})	51
5.2.3 - Evolução dos teores de iões Nitratos (NO_3^-), Nitritos (NO_2^-) e Amónio (NH_4^+)	51
5.2.4 - Evolução do teor de Manganês (Mn_2^+)	54

5.2.5 - Evolução do teor de Ferro (Fe^{2+})	56
5.2.6 - Evolução do teor de Potássio (K^+)	56
5.2.7 - Evolução dos teores de Sulfitos (SO_3^{2-})	57
5.3 - Outros resultados	59
5.3.1 - Temperatura da salmoura aquando da sua colheita	59
5.3.2 - Resultados do cloreto de sódio	60
BIBLIOGRAFIA	62

Resumo

A salmoura além de agente conservante da azeitona é também um meio onde se processa toda a fermentação do produto.

Ao longo deste trabalho, estudou-se um processo fermentativo de azeitonas pretas ao natural em salmoura.

No decorrer deste processo fermentativo, analisou-se a evolução das características microbiológicas e onde se incluíram as: leveduras, bactérias lácticas, coliformes totais e outras bactérias da família *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* sp e *Pseudomonas*; respeitantes às características físico-químicas, estudaram-se os seguintes parâmetros: pH, ferro, sulfitos, nitratos, nitritos, amónia, peróxidos, manganês e potássio.

Durante todo o processo fermentativo os microrganismos predominantes foram as leveduras e a sua espécie foi *a Pichia fermentans* (33%).

Palavras-chave: azeitona de mesa, fermentação, microrganismos, parâmetros químicos.