

Alterações dos polissacarídeos das paredes celulares da polpa da azeitona relacionadas com os efeitos do amadurecimento e do processamento

MAFRA Isabel,^{1,2,*} BARROS António S.,¹ COIMBRA Manuel A.¹

¹ Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal.

² Endereço actual: REQUIMTE, Serviço de Bromatologia, Faculdade de Farmácia U.P., Rua Aníbal Cunha 164, 4099-030 Porto, Portugal.

E-mail: isabel.mafra@ff.up.pt

Resumo

Pretendeu-se com este trabalho estudar a combinação dos efeitos do amadurecimento e do processamento a azeitona de mesa preta oxidada. Para tal, isolaram-se e analisaram-se os polissacarídeos das paredes celulares da polpa da azeitona verde, cerejada e preta ao longo das principais etapas de processamento, ou seja, após salmoura, tratamento alcalino e esterilização. A comparação entre os conteúdos de polissacarídeos das amostras nas várias etapas de processamento por meio da análise dos componentes principais mostrou uma clara distinção entre as frescas (não processadas) e os respectivos produtos finais devido à menor quantidade de galacturonanas (pectinas) e celulose no produto final. Os resultados mostraram que o estado de amadurecimento é determinante nas características de textura do produto final processado, sendo importante avaliar independentemente cada colheita através de outros parâmetros para além da cor do fruto. O processamento permite a estabilização e biossíntese de polissacarídeos durante a salmoura, apesar de ocorrer alguma degradação durante os tratamentos alcalino e térmico. O aumento da retenção dos polissacarídeos, por formação de uma matriz insolúvel com o tratamento alcalino, atenua o efeito da degradação, contribuindo positivamente para a manutenção das características de textura desejáveis no produto final.

Palavras-chave: azeitona, polissacarídeos das paredes celulares, amadurecimento, processamento.

1. Introdução

O conhecimento das alterações das paredes celulares da polpa azeitona, quer por acção do amadurecimento quer do processamento, é de importância fundamental para se poderem compreender as alterações de textura ocorridas durante estes dois processos. As azeitonas de mesa processadas segundo o estilo Californiano obtêm-se, depois do armazenamento em salmoura, por vários ciclos de oxidação em meio alcalino, lavagens, equilíbrio em salmoura e esterilização. Neste tipo de processamento, dependendo da variedade, utilizam-se azeitonas nos três estados de amadurecimento: verdes, cerejadas e pretas.

Um dos principais objectivos do tratamento alcalino é hidrolisar e remover a oleuropeína, responsável pelo sabor amargo. A acção do reagente alcalino é, no entanto, complexa levando à perda de vários componentes e à dissolução de polissacarídeos pécnicos da lamela média, com conseqüente perda de integridade celular e alteração de coesão (Marsilio *et al.*, 1996). Um dos problemas resultantes deste tipo de processamento é a perda de firmeza, levando ao excessivo amolecimento da polpa e rejeição pelo consumidor.

Numa primeira fase deste trabalho estudou-se o efeito do amadurecimento nos polissacarídeos das paredes celulares das azeitonas não processadas (em fresco). As alterações das paredes celulares da polpa da azeitona com o amadurecimento caracterizam-se, em geral, por um aumento da solubilização dos polissacarídeos pécnicos e hemicelulósicos, por um aumento da proporção de arabinose nos polissacarídeos pécnicos e por uma diminuição do grau de metilesterificação dos polissacarídeos pécnicos (Mafra *et al.*, 2001; Mafra, 2002). Com o estudo do efeito das principais etapas de processamento das azeitonas em verde a azeitonas pretas oxidadas (salmoura, tratamento alcalino e esterilização) verificou-se que o armazenamento em salmoura contribuiu positivamente para a estabilização dos polissacarídeos das paredes celulares, sugerindo a biossíntese de novos polissacarídeos; que o tratamento alcalino levou à degradação e perda de polissacarídeos, mas também ao aumento da sua insolubilização; e que o tratamento térmico final indicou a perda, principalmente, de polissacarídeos hemicelulósicos e celulose (Mafra, 2002; Mafra *et al.*, 2003).

Com este trabalho são avaliadas as alterações por combinação dos dois efeitos – amadurecimento e processamento – ao nível dos polissacarídeos das paredes celulares das azeitonas. Para tal, estudaram-se, separadamente, as azeitonas processadas no estado cerejado e preto, tendo-se comparado os resultados com as azeitonas verdes processadas.

2. Material e Métodos

Neste trabalho foram utilizadas azeitonas da variedade “Negrinha do Douro” (ou simplesmente “Douro”), provenientes da região do Douro. As azeitonas cerejadas e pretas foram processadas industrialmente pela fábrica Maçarico, Lda., Praia de Mira, a azeitonas pretas oxidadas, tendo sido recolhidas amostras após 5 meses em salmoura, após o tratamento alcalino e o produto final.

A preparação do material das paredes celulares (CWM) da polpa das azeitonas foi efectuada conforme descrito por Mafra *et al.* (2001). Utilizaram-se soluções de dodecilsulfato de sódio/metabissulfito de sódio (SDS) para romper as células, remover o óleo e dissolver o material intracelular, e soluções de propanol/ácido acético/água (PrAW) para eliminação de proteínas intracelulares e inactivação enzimática. A extracção selectiva de polissacarídeos do CWM foi efectuada com soluções aquosas de 0,5M de imidazol, 50mM de carbonato de sódio e soluções de hidróxido de sódio de concentração crescente (0,5M, 1M e 4M), obtendo-se no final um resíduo rico em celulose.

A quantificação dos açúcares neutros foi efectuada por GLC-FID após hidrólise ácida e derivatização a acetatos de alditol, e os ácidos urónicos por método colorimétrico (Coimbra *et al.*, 1996).

3. Resultados e Discussão

3.1 Preparação do material das paredes celulares

As variações dos açúcares do CWM por kg de polpa seca indicam um aumento da concentração dos principais açúcares das paredes celulares das azeitonas (arabinose, xylose, glucose e ácidos urónicos) ao longo do processamento das cerejadas (Fig. 1a) e das pretas (Fig. 1b).

Os açúcares solubilizados nas soluções de SDS e PrAW durante a preparação do CWM mostraram variações muito semelhantes nas cerejadas (Fig. 1c) e nas pretas (Fig. 1d). É notório o decréscimo de açúcares totais depois do tratamento alcalino, o que é consistente com os resultados do processamento das azeitonas verdes (Mafra, 2002; Mafra *et al.*, 2003). O armazenamento em salmoura diminuiu a solubilização dos polissacarídeos nas cerejadas, conforme observado anteriormente nas verdes, tendo, no entanto, aumentado um pouco nas pretas talvez pelo facto de estarem mais maduras. Após tratamento alcalino, a insolubilização dos polissacarídeos pécnicos, inferida pelas

diminuições de Ara e HexA e aumento no CWM, foi muito superior à observada depois da salmoura, e consistente nos três estados de amadurecimento. A solubilização dos polissacarídeos pécnicos foi depois retomada nos produtos finais das cerejadas e das pretas, embora numa menor escala da obtida nas verdes.

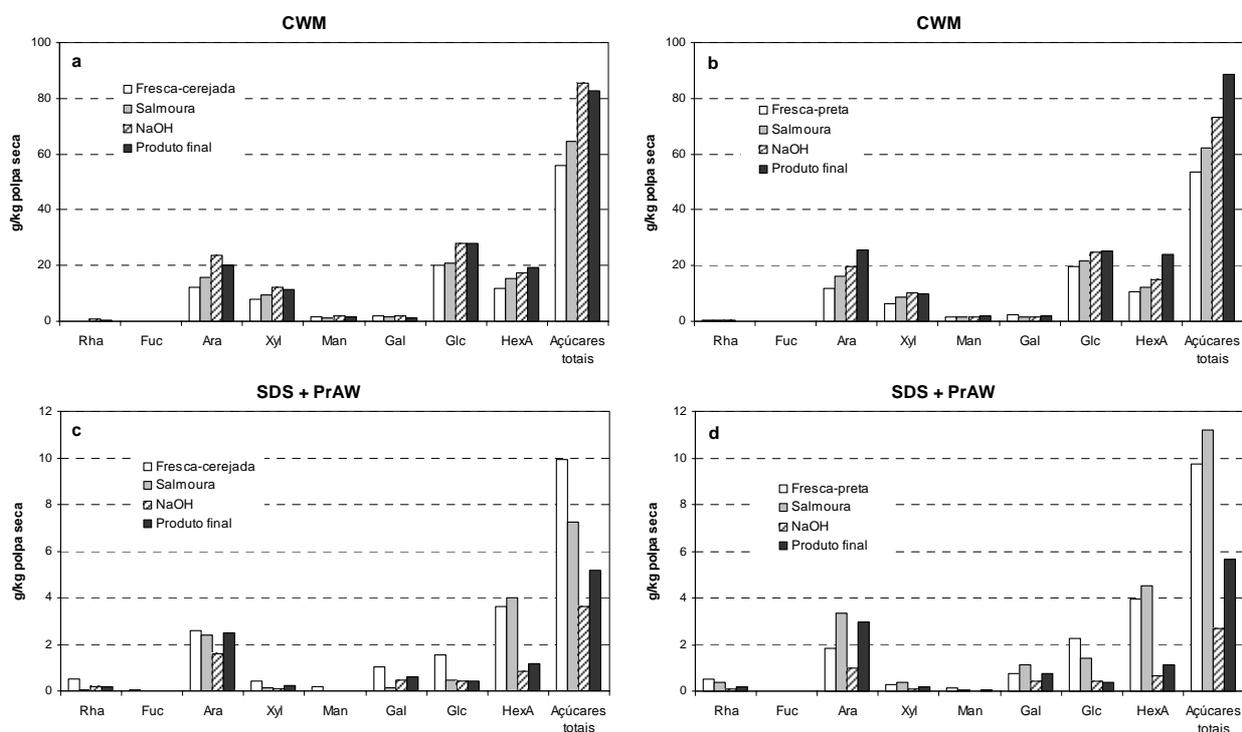


Figura 1 – Concentração dos açúcares das paredes celulares da polpa das azeitonas ao longo do processamento: CWM das cerejadas (a) e das pretas (b), e extractos de SDS e PrAW das cerejadas (c) e das pretas (d).

As quantidades de açúcares por fruto no CWM e na totalidade dos extractos obtidos durante a sua preparação apresentam-se nas Figuras 2a e 2b, respectivamente, para as cerejadas e para as pretas. Nas amostras cerejadas, as variações foram pequenas (Fig. 2a), notando-se um pequeno aumento em açúcares (11%) depois da salmoura devido principalmente ao aumento dos polissacarídeos pécnicos, pelos aumentos de Ara e HexA. Nas azeitonas pretas (Fig. 2b), depois da salmoura, obteve-se um aumento em açúcares (14%) ligeiramente superior ao obtido nas cerejadas, também devido ao aumento dos polissacarídeos pécnicos; depois do tratamento alcalino os valores diminuíram 20% devido à perda de polissacarídeos pécnicos e Glc, e no produto final os valores voltaram a subir (15%).

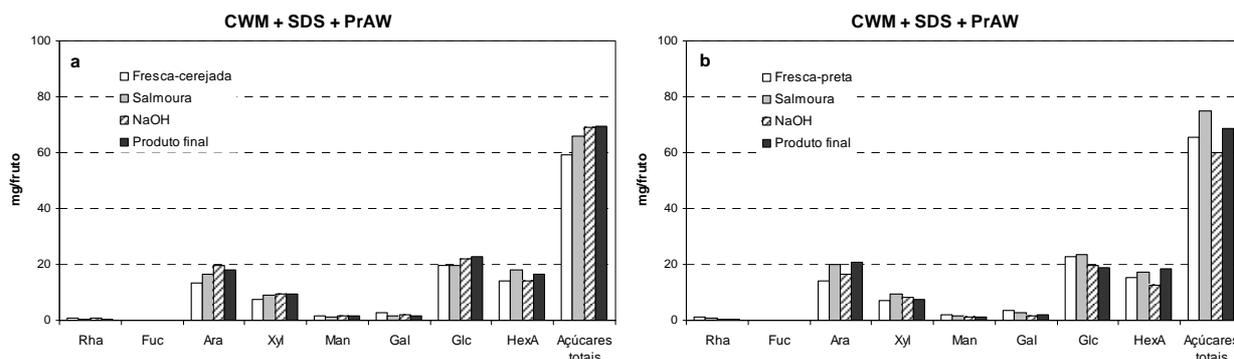


Figura 2 – Quantidade de açúcares no CWM e extractos obtidos na sua preparação, expressos por fruto cerejado (a) e preto (b) ao longo do processamento.

Comparando estes resultados com o processamento das azeitonas verdes (Mafra, 2002; Mafra *et al.*, 2003), verifica-se que houve um aumento consistente de polissacarídeos pécnicos como resultado do armazenamento em salmoura. Esse aumento foi, no entanto, bastante superior nas verdes (42%), podendo ser o resultado de uma actividade biossintética superior e/ou actividade hidrolítica menor das enzimas associadas à degradação dos polissacarídeos das paredes celulares nas verdes. Depois do tratamento alcalino, as cerejadas mostraram um pequeno aumento, contrariamente ao obtido nas verdes e nas pretas.

3.2 Alteração dos polissacarídeos das paredes celulares

A extracção sequencial do CWM permitiu extrair selectivamente fracções ricas em polissacarídeos pécnicos e polissacarídeos hemicelulósicos, ficando-se com um resíduo final rico em celulose. Com a quantificação dos açúcares destes extractos efectuou-se uma estimativa de cálculo dos polissacarídeos da polpa da azeitona conforme descrito por Mafra *et al.* (2001) e Mafra (2002). Nas amostras cerejadas verifica-se que, depois da salmoura, não houve alteração na quantidade de polissacarídeos pécnicos por fruto (Fig. 3a), havendo um aumento de glucuronoxilanas e polissacarídeos ricos em Ara, e diminuição de xiloglucanas e celulose. Depois do tratamento alcalino, observou-se uma perda generalizada de todos os polissacarídeos excepto as xiloglucanas. Nas pretas (Fig. 3b), apenas se registou um ligeiro aumento de polissacarídeos pécnicos depois da salmoura, não sendo notada alteração na quantidade das glucuronoxilanas. Depois do tratamento alcalino houve um decréscimo acentuado de polissacarídeos pécnicos (30%), glucuronoxilanas (41%) e xiloglucanas (43%). A celulose apresentou uma queda progressiva ao longo do processamento das pretas, mas a maior perda foi verificada depois da salmoura (25%). A comparação destes resultados com as amostras verdes (Mafra, 2002; Mafra *et al.*, 2003) permite inferir que o armazenamento em salmoura promoveu um acréscimo geral dos polissacarídeos cujo efeito foi diminuindo ao longo do amadurecimento. O facto do aumento de polissacarídeos pécnicos praticamente não ser notado nas cerejadas e nas pretas poderá ser o resultado da actividade das enzimas associadas à sua degradação ser superior à actividade biossintética, ao contrário do que se tinha verificado nas verdes, em que a actividade biossintética era superior à hidrolítica.

O tratamento alcalino provocou um decréscimo generalizado de polissacarídeos nas cerejadas e nas pretas. Comparando com os resultados das verdes, verifica-se que os decréscimos foram acentuados nas verdes e nas pretas. A oxidação em meio alcalino é aplicada por ciclos de tratamento, cuja duração é dependente da penetração desejada do reagente em cada etapa (Garrido Fernández *et al.*, 1997). A penetração, por sua vez depende do tamanho e do estado de amadurecimento do fruto, pois os frutos mais pequenos e verdes oferecem maior resistência à penetração. No presente trabalho o tratamento alcalino foi aplicado em dois ciclos, sendo o primeiro até $\frac{3}{4}$ de penetração na polpa (cerca de 4h) e o segundo até penetração completa do reagente até ao caroço (cerca de 2h). Este facto levou a ciclos de tratamento alcalino mais demorados nas amostras verdes, podendo em consequência disso, ter-lhes sido introduzida maior degradação das paredes celulares que nas cerejadas e nas pretas. As pretas, por estarem num estado de amadurecimento mais avançado, terão ficado mais susceptíveis ao ataque alcalino do que as cerejadas.

A esterilização do produto final levou a um pequeno decréscimo nos polissacarídeos pécnicos por fruto das cerejadas e das pretas, provavelmente provocado pela degradação durante o tratamento térmico e/ou por ficarem mais solúveis em soluções aquosas. Este decréscimo não tinha sido verificado no processamento das azeitonas verdes. A diminuição da glucose foi bastante notada entre o tratamento alcalino e produto final nos três estados de amadurecimento, sendo o produto final das pretas aquele que contém o

menor conteúdo em celulose, provavelmente devido a uma maior extensão de degradação durante a esterilização das amostras mais maduras.

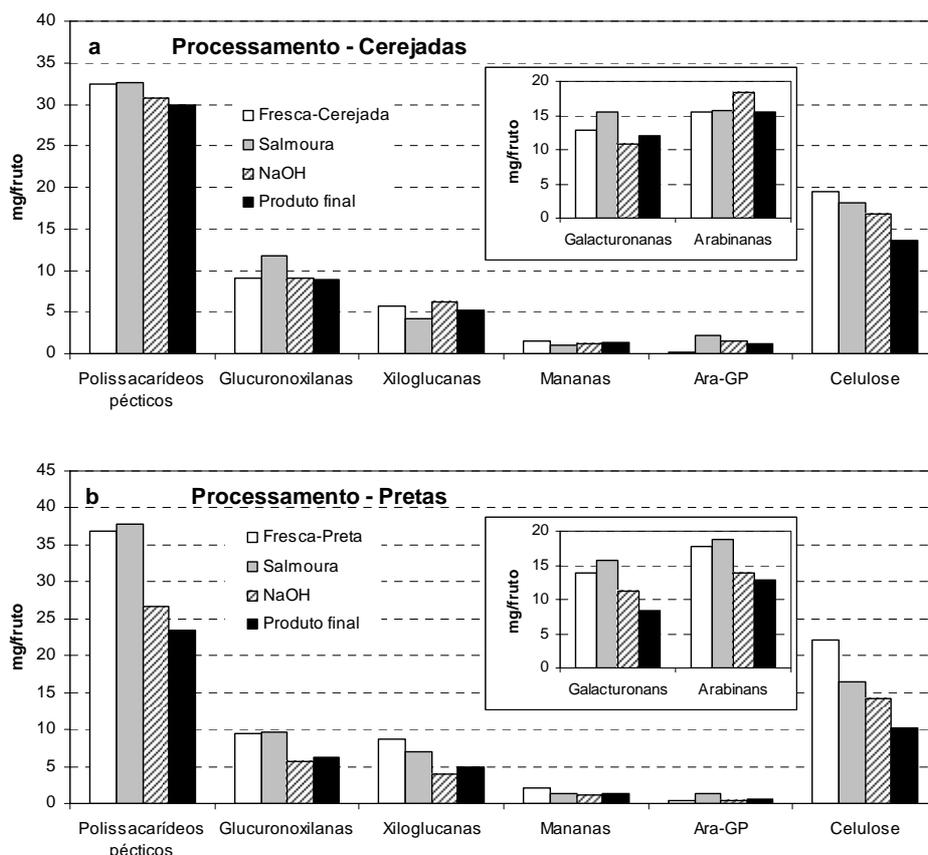


Figura 3 – Composição dos polissacarídeos das paredes celulares da polpa das azeitonas cerejadas (a) e pretas (b) ao longo do processamento. Ara-GP – glicoproteínas ricas em arabinose.

A comparação entre os conteúdos de polissacarídeos das azeitonas nos três estados de amadurecimento e nas várias etapas de processamento por meio de análise dos componentes principais mostra uma clara distinção entre as amostras frescas e os respectivos produtos finais ao longo do eixo PC1 (Fig. 4a) pelo facto das amostras processadas perderem galacturonanas, ficando mais ricas em arabinanas, e ainda pela perda de celulose no produto final em consequência da esterilização (Fig. 4b). A distinção entre as amostras depois da salmoura e as amostras depois do tratamento alcalino é sobretudo resultado da perda de galacturonanas ocorrida durante o tratamento alcalino.

4. Conclusões

Em resumo, este trabalho permitiu concluir que o estado de amadurecimento é determinante para a obtenção de um produto final de características de textura desejáveis uma vez que é responsável pelo aumento da solubilização dos polissacarídeos das paredes celulares. Por outro lado, conclui-se que o processamento possibilita a estabilização e biossíntese de polissacarídeos durante a etapa da salmoura, embora com alguma degradação durante o tratamento alcalino e tratamento térmico. No entanto, o tratamento alcalino, ao aumentar a retenção dos polissacarídeos, atenua o efeito da sua degradação, formando uma matriz insolúvel que poderá contribuir positivamente para a manutenção das características de textura desejáveis do produto final.

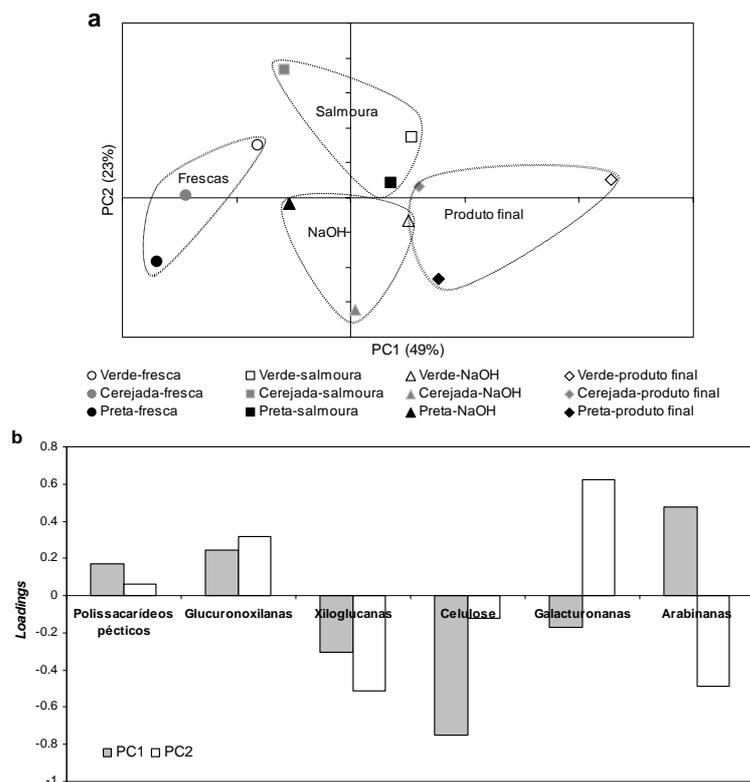


Figura 4 – Gráfico das coordenadas factoriais (a) e gráfico do perfil dos vectores próprios (*loadings*) (b) do conteúdo em mg/fruto dos polissacarídeos pécnicos, glucuronoxilanas, xiloglucanas, celulose, galacturonanas e arabinanas da polpa das azeitonas ao longo do processamento.

5. Referências

COIMBRA, M.A.; DELGADILLO, I.; WALDRON, K.W.; SELVENDRAN, R.R., 1996. Isolation and analysis of cell wall polymers from olive pulp. In: H.-F. LINSKENS & J.F. JACKSON (Ed.), *Plant Cell Wall Analysis*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 19-44.

GARRIDO FERNÁNDEZ, A.; FERNÁNDEZ DÍEZ, M.J.; ADAMS, M.R., 1997. *Table Olives*. Chapman & Hall, London.

MAFRA, I.; LANZA, B.; REIS, A.; MARSILIO, V., CAMPESTRE, C.; DE ANGELIS, M.; COIMBRA, M.A. 2001. Effect of ripening on texture, microstructure and cell wall polysaccharide composition of olive fruit (*Olea europaea*). *Physiologia Plantarum*, 111: 439-447.

MAFRA, I., 2002. Efeito do amadurecimento e processamento nos polissacarídeos das paredes celulares da polpa da azeitona, Aveiro. Tese de doutoramento, Universidade de Aveiro.

MAFRA, I.; REIS, A.; COIMBRA, M.A. 2003. Efeito do processamento a azeitonas pretas oxidadas nos polissacarídeos das paredes celulares da polpa das azeitonas Douro. In: *Acta do 6º Encontro de Química dos Alimentos*, Lisboa, (Vol.1): 282-286.

MARSILIO, V.; LANZA, B.; DE ANGELIS, M. 1996. Olive cell wall components: physical and biochemical changes during processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70: 35-43.

Este trabalho foi financiado pelo projecto europeu FAIR CT-97 3053. Isabel Mafra foi financiada pela bolsa SFRH/BD/1245/2000.