



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

FERMENTAÇÃO DO TIPO CHUCRUTE: UMA ABORDAGEM COM SABORES
TRADICIONAIS PORTUGUESES

por

Luis Pedro Branco Martins da Silva

Abril, 2021



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

FERMENTAÇÃO DO TIPO CHUCRUTE: UMA ABORDAGEM COM SABORES TRADICIONAIS PORTUGUESES

Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação

por

Luís Pedro Branco Martins da Silva

Local: Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa

Orientação: Tim Hogg

Abril, 2021

Agradeço à minha família e amigos que me apoiaram ao longo de todo este longo processo,
em especial à Patrícia.

Resumo

A origem dos produtos fermentados está difusa no tempo, sendo que após a secagem, é o processo de conservação de alimentos mais antigo. A fermentação é um processo pelo qual se podem produzir alimentos que variam consoante o tipo de fermentação. Nos dias de hoje, os legumes e os vegetais fermentados resultam de uma indústria que controla parâmetros como ingredientes utilizados, temperatura, adição e concentração de sal. Ao produto final podem ser adicionados condimentos para tornar o produto final mais saboroso e auxiliam no processo de fermentação. Apesar de vegetais fermentados serem apreciados e consumidos regularmente em países como Estados Unidos, Alemanha ou países asiáticos, em Portugal estes produtos não são tão populares, e não existe nenhum produto vegetal fermentado com base em alimentos e aromas tipicamente nacionais. Do ponto de vista nutricional os alimentos fermentados podem ser interessantes. A sua digestibilidade pode ser melhorada, a biodisponibilidade de determinados nutrientes pode ser aumentada e é uma potencial fonte de probióticos. No decorrer do presente trabalho, tendo por base a couve coração-de-boi, elaboraram-se diversas fermentações criando um protocolo de fermentação válido utilizando como base aromas tradicionais da culinária portuguesa. Posteriormente, efetuaram-se estudos de validação do produto criado, com a elaboração de um *focus group* e de uma entrevista com um reconhecido *chef* de cozinha. Os resultados obtidos nas fermentações demonstraram-se satisfatórios. As características organolépticas do produto final enquadraram-se com o esperado. Os resultados obtidos tanto na elaboração do *focus group*, como da entrevista com o *chef* de cozinha, demonstraram que o produto final é potencialmente agradável para os consumidores e tem aplicabilidade culinária. Também ficaram em aberto uma série de questões que poderão ser abordadas em trabalhos posteriores no sentido de melhorar o produto. No global, todos os objetivos foram atingidos.

Palavras-chave: fermentação, aplicabilidade culinária, *focus group*

Abstract

The origin of fermented products is diffused in time, and after drying, it is the oldest food preservation process. Fermentation is a process by which foods can be produced that varies depending on the type of fermentation used. Nowadays, fermented vegetables are the result of an industry that controls parameters such as the ingredients, the temperature, salt addition and concentration. To the final product condiments can be added to make it more palatable and assist in the fermentation process. Although fermented vegetables are appreciated and regularly consumed in countries such as the United States, Germany or Asian countries, in Portugal these products are not as popular, and there isn't any fermented vegetable product based on foods and typically national flavorings. From a nutritional point of view fermented foods can be interesting. Its digestibility can be improved, the bioavailability of certain nutrients can be increased and it is a potential source of probiotics. In the course of the present study, based on pointed cabbage, several fermentation processes were elaborated creating a protocol of valid fermentation using as base traditional flavorings of Portuguese cuisine. Afterwards, validation studies of the created product were carried out, with the elaboration of a focus group and an interview with an acknowledged chef. The results achieved in the fermentations were satisfactory. The organoleptic characteristics of the final product were in line with what was expected. The results obtained from both the focus group and the chef interview demonstrated that the final product is potentially pleasing to consumers and has culinary applicability. There were also a number of open questions that could be addressed in further work to improve the product. Overall, all objectives were met.

Keywords: fermentation, culinary applicability, focus group

Em primeiro lugar quero agradecer ao professor Tim Hogg por todo o seu apoio incondicional ao longo de todo o trabalho. Quero agradecer também às professoras Cristina Mena e Paula Teixeira, à Marta Guimarães, e finalmente ao chef Hélio Loureiro e a todos os participantes nos procedimentos do trabalho, especialmente aos que colaboraram no *focus group*.

Índice

Resumo	3
Abstract	4
1. Introdução	7
1.1. Origens e desenvolvimento histórico	7
1.2. Ciência e tecnologia das fermentações de vegetais atualmente	7
1.3. O processo de fermentação aplicado aos vegetais	8
1.4. Atributos dos produtos finais - saúde e estabilidade	10
1.6. Características do trabalho	12
1.7. Objetivos do trabalho	13
2. Material e métodos	14
2.1. Produção e monitorização das fermentações	14
2.1.1. Corte	14
2.1.2. Adição de sal	14
2.1.3. Pressão sobre os vegetais	14
2.1.4. Colocação no frasco	14
2.1.5. Processo de escolha dos sabores a estudar	15
2.1.6. Protocolo de fermentação	16
2.2. Segurança Alimentar durante o procedimento	17
2.3. Microbiologia preditiva	17
2.4. <i>Focus group</i> com potenciais consumidores	18
2.5. Entrevista com chef de cozinha	18
3. Resultados e Discussão	19
4. Conclusões gerais	26
5. Trabalho futuro	27
6. Bibliografia	28

1. Introdução

1.1. Origens e desenvolvimento histórico

A origem dos produtos fermentados está difusa no tempo, sendo que, após a secagem, a fermentação é o processo de conservação de alimentos mais antigo. Segundo Manas *et al.* (2008), acredita-se que o primeiro produto da fermentação a ser descoberto foi o álcool, através da fermentação de frutos. Posteriormente, este processo tornou-se popular porque para além de conservar o alimento também lhes confere uma variedade de sabores, formas e outros atributos organoléticos que os tornam em produtos interessantes. Recentemente, devido ao conhecimento dos eventuais efeitos nutricionais e terapêuticos, os produtos fermentados têm-se tornado bastante populares, conforme constatado por Farnworth *et al.* (2008).

A utilização da fermentação para produção alimentar teve início nas regiões do sul da Ásia, em zonas do mundo que atualmente correspondem a países como Índia, Bangladesh, Paquistão e Butão. Existem também indícios de civilizações com sistemas de agricultura e produção animal muito desenvolvidos que utilizavam e dominavam a fermentação (Farnworth *et al.*, 2008). Conforme descrito por Breidt *et al.*, 2013, também artefactos do Egito e do médio oriente sugerem que o processo de fermentação era conhecido e utilizado nesta região do globo. O livro de poemas chinês *Shijing* (11000 a 600 A.C) já fazia referência “aos milhares de vinhos” do império chinês. Os *pickles* também são mencionados diversas vezes na Bíblia. Quando se fala em produtos fermentados, é obrigatório falar do queijo e do pão (7000 A.C.), do vinho (6000 A.C.) de bebidas de leite fermentado (5000 A.C.) e de cerveja à base de cereais (4000 A.C.). Mais tarde, outros alimentos tiveram proveniência da fermentação: produtos cárneos (1500 A.C), preservação de vegetais (300 A.C.) e fermentação de outros cereais e legumes (500-1000 D.C) (Breidt *et al.*, 2013; Farnworth *et al.*, 2008).

1.2. Ciência e tecnologia das fermentações de vegetais atualmente

Apesar de existirem várias definições de fermentação e, conseqüentemente, vários tipos, neste trabalho ir-se-á considerar que o processo de fermentação espontânea. Este tipo de fermentação é um processo anaeróbio, ou seja, decorre sem a presença de oxigénio, como referido por Helmenstine, (2017). Existem diferentes tipos de fermentação que geram produtos diferentes, como o álcool (utilizado na produção de cerveja e vinho, por exemplo), ácidos orgânicos como o ácido láctico e o ácido acético (utilizado na produção vegetais fermentados e laticínios, por exemplo), dióxido de carbono (utilizado na produção de pão) e aminoácidos (utilizado na fermentação de peixes) (Breidt *et al.*, 2013). Conforme descrito por Kratz (2012), durante a fermentação de legumes a glucose e a frutose são utilizados e convertidos em ácido láctico, ácido acético, etanol e dióxido de carbono por bactérias ácido-láticas (BAL) e outros fermentos. Inicialmente, ocorre uma fermentação homofermentativa, no caso da fermentação láctica, dá-se uma fermentação homoláctica, onde o único produto formado é o ácido láctico. Esta fase consiste na quebra da glicose dando origem a duas moléculas de ácido láctico. Seguidamente inicia-se a fase heterofermentativa, neste caso heteroláctica, onde são formados

mais produtos para além do ácido láctico. Esta fase envolve um metabolismo mais complexo do que a fase homoláctica (Manas et al., 2014; Breidt et al., 2013; Kratz, 2012). A glicose, um açúcar que contém seis carbonos, é convertida em dióxido de carbono e uma pentose, açúcar com cinco carbonos, que é posteriormente convertida em ácido láctico e um composto com dois carbonos, que pode ser etanol ou ácido acético (Manas et al., 2014; Breidt et al., 2013; Kratz, 2012).

A evolução do conhecimento sobre a ação de determinados microrganismos é fundamental para perceber como este processo transforma os alimentos. Este conhecimento apenas existe desde meados do século XVII, quando *Anton Van Leeuwenhoek* demonstrou a existência de microrganismos. Também *Louis Pasteur*, no século XIX, contribuiu significativamente para o aumento do conhecimento por trás deste fenómeno ao estabelecer os papéis dos microrganismos na fermentação e ao comprovar a existência de diferentes tipos de fermentações. Desde então, os conhecimentos nas áreas da microbiologia, bioquímica, tecnologia alimentar e engenharia alimentar têm aumentado permitindo que nos dias de hoje exista uma enorme variedade de produtos alimentares fermentados desde produtos lácteos, cereais, frutas, vegetais, carne e peixe e até produtos resultantes da mistura destes ingredientes (Breidt et al., 2013).

1.3. O processo de fermentação aplicado aos vegetais

O desenvolvimento de vegetais fermentados teve lugar numa altura em que as civilizações iniciaram a colheita e armazenamento de alimentos (Farnworth, 2008). Acredita-se que o primeiro vegetal a ser fermentado foi o pepino, cerca de 2000 A.C., e ainda hoje é dos mais populares (Breidt et al., 2013). Os vegetais frescos são difíceis de armazenar mantendo as melhores condições de frescura. Ao mesmo tempo, são ricos em açúcares e ligeiramente ácidos. Estes componentes induzem o crescimento de fermentos lácticos (Breidt et al., 2013). As civilizações que desenvolveram os primeiros processos de fermentação, adicionavam sal ou açúcar aos vegetais, de modo a aumentar o seu tempo de vida. Estas civilizações já sabiam que a adição de sal aos alimentos, para além de preservar os alimentos, melhora as suas qualidades organolépticas (Farnworth, 2008). Nos dias de hoje, os legumes e vegetais fermentados resultam do controlo de parâmetros como ingredientes, temperatura e adição e concentração de sal, que variam de vegetal para vegetal (Helmenstine, 2017; Katz, 2012). Ao produto final podem ser adicionados condimentos a gosto, como alho, cebolinho, chili, molhos de carne ou peixe, gengibre ou outro, que também desempenham um papel fundamental na fermentação, como será abordado seguidamente (Katz, 2012). Segundo o método de produção de *sauerkraut*, chucrute em português, para que a fermentação de um legume ocorra será necessário colocá-lo em sal ou numa salmoura (água e sal em concentrações variáveis) seguido da adição de condimentos consoante o gosto (Breidt et al., 2013; Farnworth, 2008; Katz, 2012)

Conforme referido pela FAO, (2008), atualmente, os principais produtos da indústria de vegetais fermentados nos Estados Unidos e na Europa são os pepinos, as azeitonas, os *pickles* e o chucrute (Farnworth, 2008; FAO, 2008). Na Ásia, muitos outros vegetais fermentados são comercializados, incluindo *pickles*, couve napa, e o *kimchi*, este último principalmente na Coreia

do Sul (Farnworth, 2008). Durante o século XX muitos desenvolvimentos na área da química e microbiologia permitiram melhorar o processo de fermentação de vegetais. Desde a identificação dos principais microrganismos responsáveis pela fermentação, métodos de pasteurização, desenvolvimento métodos de fermentação controlada, reconhecimento da importância da enzima malolática, do *Lactobacillus* na produção de dióxido de carbono durante a fermentação de pepinos, a adição de cálcio para melhorar a textura de *pickles* entre muitos outros (FAO, 2008). O processo de fermentação permite a obtenção de vegetais que podem ser armazenados por longos períodos de tempo, um ano ou mais, sem necessidade de refrigeração ou adição de conservantes (Farnworth, 2008; Katz, 2012). Os vegetais possuem na sua matriz uma série de microrganismos responsáveis pela sua deterioração (*Pseudomonas*, *Erwinia* e *Enterobacter*) bem como outros fermentos e bolores responsáveis pela diminuição do tempo de vida dos vegetais (Breidt et al., 2013). Ao colocar os vegetais na salmoura, o crescimento das BAL é potenciado em detrimento do crescimento de microrganismos que deterioram os vegetais (Breidt et al., 2013; Farnworth, 2008; Katz, 2012). As BAL estão presentes nos vegetais frescos em baixas quantidades, quando comparado com os microrganismos responsáveis pela deterioração. A difusão de ácidos orgânicos na salmoura durante a fermentação, e a diminuição do pH daí resultante, influencia o crescimento microbiano nos vegetais. Por outro lado, as BAL são mais resistentes a este ambiente ácido e enquanto os açúcares dos vegetais se difundem na salmoura, estas bactérias crescem rapidamente, produzindo ácido láctico, o que irá consequentemente diminuir mais o pH, inibindo o crescimento e a atividade dos microrganismos indesejados e a sua atividade enzimática (Breidt et al., 2013; Farnworth, 2008). Um dos principais BAL responsáveis pela iniciação da fermentação espontânea em vegetais é o *Leuconostoc mesenteroides* e outras espécies do género *Leuconostoc* (Breidt et al., 2013; FAO, 2008). Esta espécie cresce rapidamente numa grande variedade de temperatura (de 5°C a 35°C) e a uma concentração de sal variada (entre 0 a 5%). O *L. mesenteroides* realiza uma fermentação heterolática dos açúcares dos vegetais, produzindo dióxido de carbono, ácido láctico e ácido acético (Breidt et al., 2013; Katz, 2012). O dióxido de carbono produzido providencia as condições ideais anaeróbicas favoráveis à estabilização do ácido ascórbico e a manutenção da cor natural dos vegetais (Breidt et al., 2013). Estas espécies, contudo, não são tão resistentes a ambientes ácidos como as espécies homoláticas, como o *Lactobacillus plantarum* (Breidt et al., 2013; Katz, 2012; FAO, 2008). Assim, com a acidificação produzida após o início da fermentação, o crescimento das espécies *Leuconostoc* é diminuído, já as espécies *Lactobacillus* têm crescimento potenciado. Em salmouras com concentração de sal elevado (de 6 a 12%, como na produção de pepino fermentado) as espécies *Lactobacillus plantarum* dominam a fermentação desde o início (Breidt et al., 2013; FAO, 2008). Do ponto de vista organolético, os vegetais fermentados apresentam por norma um sabor mais ácido que varia de intensidade consoante o tempo de fermentação. (Farnworth, 2008)

Aos vegetais em fermentação podem ser adicionadas especiarias, vinho, vinagre e outros ingredientes à couve para melhorar o seu aroma. Muitos destes ingredientes na verdade podem também ajudar na fermentação (Manas et al., 2014; Katz, 2012). Outros ingredientes

quando adicionados podem potenciar o crescimento das BAL, uma vez que representam uma fonte de nutrientes como açúcares, vitaminas e minerais e ajudam a combater os microrganismos indesejados ao diminuir o pH, por outro lado também adicionam aromas e sabores agradáveis ao produto final (Katz, 2012). Também a adição de especiarias e ervas aromáticas pode contribuir para o processo de fermentação, uma vez que possuem propriedades antimicrobianas que controlam o crescimento dos microrganismos indesejados. Ingredientes como o alho ou pimentas inibem o crescimento destes microrganismos o que beneficia a atividade das BAL e consequentemente ajudam a uma melhor fermentação, para além de acrescentarem sabor ao produto final (Katz, 2012).

Vários vegetais são fermentados, mas os mais utilizados são: couves (repolho ou couve napa), cenoura, nabo, rabanete, pepino, azeitonas, tomates e pimentos entre muitos outros. Cada fermentação tem a sua especificidade de parâmetros para que esta decorra nas melhores condições (Breidt et al., 2013; Farnworth, 2008).

1.4. Atributos dos produtos finais - saúde e estabilidade

Outro aspeto a ter em conta quando se fala em vegetais fermentados, são os eventuais benefícios nutricionais inerentes aos mesmos, facto que pode tornar estes alimentos mais interessantes deste ponto de vista. A fermentação em si pode melhorar a digestibilidade destes vegetais uma vez que os seus nutrientes se encontram parcialmente digeridos pelos microrganismos responsáveis pela fermentação (Katz, S.E. 2012). De acordo com Didari et al., 2015, devido ao alto conteúdo de ácido láctico, o produto fermentado pode conter uma concentração elevada de cálcio, fósforo e ferro bem como melhorar a absorção de vitamina D. Outra vantagem destes alimentos é a remoção de compostos anti nutricionais (Manas et al., 2014; Katz, 2012). Muitos vegetais possuem toxinas e compostos anti nutricionais na sua matriz. Estes compostos podem interferir com a absorção dos nutrientes presentes no alimento, ou até mesmo resultar em efeitos fisiológicos indesejados. Com o processo de fermentação, muitos destes compostos são removidos pelas BAL, microrganismos responsáveis pela fermentação. (Katz, 2012; Didari et al., 2015)

Os vegetais fermentados podem também ser uma potencial fonte de probióticos. Probiótico é um termo atribuído a microrganismos vivos associados a benefícios à saúde humana (Didari et al., 2015). Estes são capazes de modificar positivamente a microbiota intestinal e prevenir a colonização de outros microrganismos patogénicos (Didari et al., 2015; Cuello-Garcia et al. 2015). Conforme referido por Heller et al., 2001, os principais microrganismos benéficos à saúde que estão normalmente presentes nestes alimentos são os das seguintes espécies: *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* e *Leuconostoc*. Uma revisão elaborada por Christa et al., 2014, constatou inclusivamente que os vegetais fermentados aparentam ter efeitos anticarcinogénicos.

Por outro lado, os vegetais fermentados possuem uma durabilidade longa. Numa altura em que os consumidores cada vez mais se preocupam com a utilização de aditivos e de

compostos sintéticos, procurando alimentos com rótulos limpos, menores listas de ingredientes e de origem natural, os vegetais fermentados são uma boa opção pois não possuem aditivos químicos para se conservarem durante mais tempo (Katz, 2012; Didari et al., 2015). Os conservantes são adicionados aos alimentos para prolongar o seu tempo de vida ao combater determinados microrganismos responsáveis pela deterioração dos alimentos, no caso dos produtos fermentados isso não é necessário, uma vez que esse papel cabe aos microrganismos responsáveis pela fermentação que controlam esses microrganismos indesejados através do seu metabolismo, nomeadamente pela produção de ácidos orgânicos, dióxido de carbono, peróxido de hidrogénio e outros compostos antifúngicos e antibióticos (Manas et al., 2014; Farnworth, 2008). Deste ponto de vista, os vegetais fermentados apresentam todas as vantagens da ingestão dos vegetais em cru, com uma redução dos açúcares, utilizados pelos microrganismos responsáveis pela fermentação e com uma durabilidade, digestibilidade e biodisponibilidade de determinados nutrientes potenciadas e com o benefício de ser um produto totalmente natural (Katz, 2012, Heller et al. 2001)

1.5. Considerações de Segurança alimentar

A segurança alimentar associada a este tipo de produtos merece muita atenção. O problema relativamente à segurança alimentar de grande parte dos produtos fermentados está maioritariamente relacionado com más condições de fermentação ou falhas no procedimento. De acordo com Rout, 1994, os principais perigos relacionados com a segurança alimentar envolvem o crescimento bacteriano, contaminação por toxinas devido a contaminações cruzadas e produção de toxinas por bactérias ou fungos. A fermentação assegura a segurança alimentar dos produtos através da inibição do crescimento bacteriano e degradação de toxinas, aumentando o tempo de vida útil do produto (Rout, 1994). Conforme Borresen et al., 2012, descreveram, as BAL têm a habilidade de bloquear o crescimento de microrganismos patogénicos pela competição de nutrientes e pela inibição bacteriana. Alguns destes inibidores são ácidos orgânicos, peróxido de hidrogénio e bacteriocina. Acido láctico e ácido acético são particularmente efetivos na inibição do crescimento de bactérias gram-negativas, já o peróxido de hidrogénio tem um efeito importante na oxidação das principais bactérias patogénicas. Para além disso, algumas espécies de BAL produzem um composto antimicrobiano, a bacteriocina. A presença de bacteriocina nos produtos fermentados resulta na interferência da biossíntese da parede celular e a formação de poros na parede celular dos microrganismos patogénicos. De acordo com Montarjemi, 2014, a segurança alimentar associada a produtos fermentados é verificada inclusivamente em países onde a prática de fermentações caseiras é comum, sendo um método de conservação ao alcance de populações onde outros métodos de conservação não estão disponíveis, como a refrigeração ou o congelamento.

De entre os microrganismos patogénicos mais comuns que podem ameaçar o produto, salientam-se *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* e *Escherichia coli*. A tabela 1 resume as condições de ambiente que permitem o crescimento destes microrganismos, de acordo com a Escola Superior de Biotecnologia, 2005. Dados recolhidos em produtos

fermentados no mercado norte americano de 2001 a 2010, indicam que o pH de couve fermentada varia de 3.2 a 3.4, tendo uma concentração de sal de 2 a 3% (Breidt et al., 2013). Tendo em conta estes dados, verifica-se que com o valor de pH do produto não permite o crescimento destes microrganismos patogénicos no produto fermentado. Para além disso, o produto vegetal fermentado é conservado em temperaturas de refrigeração, entre 0°C e 5°C que, como também pode ser verificado na tabela 1, apenas a *Listeria monocytogenes* seria capaz de se desenvolver nesta temperatura caso tivesse capacidade de crescer nas condições de ambiente verificadas. No entanto, como já foi visto, as condições ideais de crescimento não estão reunidas.

Tabela 1 – Condições favoráveis ao crescimento e inibição de microrganismos patogénicos – valores mínimos

Microrganismo	T°C	pH	Aw	NaCl*
<i>Salmonella</i>	7	4,5	0,93	3 a 4%
<i>Listeria monocytogenes</i>	-0,4	4,3	0,92	>10%
<i>Clostridium botulinum</i>	10	4,6	0,935	<10%
<i>Escherichia coli</i>	7	4,5	0,95	6,5%

*valores a partir dos quais ocorre a inibição do crescimento de cada uma das espécies

1.6. Características do trabalho

Neste trabalho decidiu-se utilizar a couve coração-de-boi, ou repolho, para a elaboração das fermentações. Escolheu-se este produto uma vez que é parte integrante de diversos pratos típicos da culinária portuguesa. Segundo a balança alimentar portuguesa, 2012-2016, a disponibilidade de hortícolas em Portugal rondou em 2016 os 295,9 g/hab/dia. Já Lopes et al., 2017, no Inquerito Alimentar Nacional e de Atividade Física 2015-2016, concluiu que em Portugal o consumo de hortícolas foi de 153 g/hab/dia. Verifica-se assim um excedente de disponibilidade dos produtos hortícolas em Portugal relativamente ao seu consumo (Lopes et al., 2017). Este consumo de hortícolas encontra-se 9% abaixo do valor recomendado, de acordo com Roda dos Alimentos. Por isso, torna-se ainda mais pertinente a utilização deste tipo de produtos noutras aplicações alimentares, de modo a utilizar o seu excedente em alimentação humana e fomentar o aumento do seu consumo podendo assim, eventualmente, contribuir para uma aproximação do que está recomendado segundo a Roda dos Alimentos. A couve coração-de-boi, é assim conhecida devido à sua forma de coração. Pertence ao género *Brassica*, que engloba todos os diferentes tipos de couves. Estas possuem pequenas diferenças entre si, no entanto partilham a maioria das características nutricionais. A couve coração tem uma folha compacta e crocante. Em relação aos seus macronutrientes, de acordo com o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2006, esta apresenta um teor de 5,8% de hidratos de carbono sendo 3,2% de açúcar. O seu teor de proteína é 1,28%. Contém cerca de 2,5% de fibra. É maioritariamente constituída por água, sendo esta 90% da sua composição. Trata-se de um alimento rico em vitamina A, K, e em potássio.

Para a elaboração das fermentações executadas no decorrer deste trabalho utilizou-se o método para a produção de chucrute, uma vez que é um processo relativamente simples e que pode ser utilizado em vários tipos de vegetais. O chucrute é preparado ao fermentar a couve repolho cortada em juliana e colocada numa salmoura ou juntando apenas sal. Apesar de ser muito popular na Alemanha (*Sauerkraut* é uma palavra alemã que significa couve ácida), pensa-se que teve origem também na China, e que foi trazido para a Europa durante a invasão Mongol no centro da Europa no século XIII (Farnworth, 2008). Tornou-se muito popular nos Estados Unidos da América e em muitas regiões europeias, nomeadamente no norte da Europa. Inicialmente as folhas de couve eram cobertas de vinagre (Farnworth, 2008). Posteriormente, a couve era cortada às tiras, e colocada em recipientes cobertos por sucos ácidos de frutas ou vinagre. Não se sabe ao certo quando é que a adição de sucos ácidos foi substituída pelo sal, mas pensa-se que isso aconteceu por volta do século XVI (Farnworth, 2008). Atualmente, o chucrute é uma das mais importantes indústrias de vegetais fermentados, e faz uso dos últimos conhecimentos de microbiologia e engenharia alimentar (Farnworth, 2008]. De acordo com Stamer et al., 1971, o principal microrganismo envolvido na fermentação do chucrute é o *Leuconostoc mesenteroides*, uma vez que este cresce rapidamente entre as temperaturas de de 5°C a 35°C a uma concentração de sal entre 0 a 5%. stas características fazem com que o *L. mesenteroides* cresça mais do que qualquer outro microrganismo responsável pela fermentação láctica, como já foi referido. Na preparação do chucrute, é utilizada uma concentração de sal de 2% a uma temperatura de 18°C. A primeira fase da fermentação da couve consiste numa fermentação heteroláctica, já abordada anteriormente, e demora cerca de uma semana. Depois, os microrganismos heterolácticos reduzem a sua atividade e inicia-se a fase homoláctica (Breidt et al., 2013). Quanto mais tempo a couve permanecer em fermentação, mais ácido será o seu sabor (Breidt et al., 2013).

1.7. Objetivos do trabalho

Este trabalho teve objetivos diferentes consoante as diferentes etapas de desenvolvimento do mesmo. Inicialmente, o objetivo passou por uma análise bibliográfica das principais fermentações de vegetais, com maior ênfase nas fermentações espontâneas efetuadas por bactérias lácticas. Outro objetivo passou pela familiarização da melhor metodologia de produção de couve fermentada em escala laboratorial. Posteriormente, o objetivo passou por executar as fermentações incorporando aromas e condimentos tradicionalmente utilizados na culinária portuguesa. Finalmente, após se obterem produtos finais com resultados satisfatórios, o principal objetivo passou por testar o produto final junto de peritos e potenciais consumidores finais do produto desenvolvido.

2. Material e métodos

Até à obtenção do protocolo de fermentação final, foram efetuadas muitas fermentações apenas com os objetivos de perceber qual a melhor forma de procedimento e controlar o desenvolvimento das BAL, através da análise constante do pH. Nestas fermentações não foram utilizados condimentos nem especiarias. No anexo III encontram-se enumerados os valores de pH obtidos nas fermentações iniciais. Assim, tendo o procedimento de produção de chucrute como base, foram elaboradas as seguintes etapas durante a realização das fermentações.

2.1. Produção e monitorização das fermentações

2.1.1. Corte

Esta etapa consistiu no corte da couve em tiras, fatias ou juliana. Nas fermentações, o corte dos vegetais permite aumentar a superfície de contacto do vegetal e a saída dos seus sucos. Quanto mais fino e uniforme forem os cortes, maior é a superfície de contacto exposta e mais facilmente saem os sucos do vegetal. Por essa razão, nas atividades laboratoriais, utilizou-se o equipamento Robot Coupe que permitiu cortar a couve de forma fina e uniforme, e agiliza o processo quando utilizadas grandes quantidades de couve.

2.1.2. Adição de sal

A adição de sal foi essencial tanto para o processo de fermentação como para a obtenção de produtos finais com melhores características organoléticas. No processo de fermentação de vegetais, o sal facilita o processo de saída dos sucos dos vegetais, através do processo de osmose. Para além disso, também torna o produto final mais crocante. Do ponto de vista microbiológico, o sal promove um ambiente seletivo para as BAL, responsáveis pela fermentação, tornando-o mais favorável ao seu crescimento, em detrimento de outras bactérias responsáveis pela eventual deterioração dos vegetais. Nas atividades laboratoriais utilizou-se sal grosso marinho.

2.1.3. Pressão sobre a couve

A couve foi pressionada para que o processo de saída dos seus sucos fosse facilitado. Com a pressão, a parede celular da couve quebrou, libertando os sucos. O procedimento adotado para exercer pressão foi a colocação de um recipiente cheio de água por cima do recipiente que continha a couve, durante pelo menos quatro horas ou até que a couve estivesse já submersa nos sucos.

2.1.4. Colocação no frasco

Nesta etapa colocaram-se as ervas aromáticas ou especiarias. O principal cuidado a ter foi a manutenção dos vegetais totalmente submersos nos seus sucos. Estes tinham tendência a flutuar, entrando em contacto com oxigénio na superfície. Devido a isso, podem-se desenvolver microrganismos responsáveis pela deterioração dos vegetais resultado em características organoléticas indesejadas ou bolores. O procedimento utilizado para manter os vegetais

submersos, com os recursos ao alcance, foi a colocação de gobelés no interior dos frascos de vidro que, com a pressão da tampa sobre os frascos ao fechar, a couve ficou totalmente submersa nos seus sucos, não permitindo que estas flutuassem.

Este procedimento foi efetuado e testado vezes suficientes até se terem obtido resultados satisfatórios. Inicialmente, utilizou-se apenas couve-coração sem adição de ervas aromáticas ou especiarias, para se compreender o processo de fermentação e desenvolver um procedimento fiável. Só após a obtenção de produtos finais de acordo com as características organoléticas, físicas e químicas esperadas, iniciou-se o processo de escolha dos ingredientes a utilizar nas fermentações futuras.

2.1.5. Processo de escolha dos sabores a estudar

Uma vez que um dos objetivos do presente trabalho foi atribuir um aroma tradicionalmente mais português ao produto final, o processo de escolha dos condimentos a utilizar teve este facto em consideração. Foram selecionados condimentos que fazem parte de grande parte dos pratos típicos portugueses. Recorreu-se também ao Roteiro Gastronómico de Portugal, 1997, pois possui uma vasta base de dados de receitas tradicionais portuguesas. Tendo sido selecionados, aleatoriamente, alguns desses aromas para teste. No final, foram selecionados como condimentos, os coentros em semente, o piri-piri, os cominhos e o louro. É importante referenciar que existe uma elevada quantidade de condimentos que poderiam ter sido utilizados. De notar também que uma das principais preocupações neste processo foi o de pensar em produtos finais completos, não apenas de aroma agradável, mas também com texturas e cores diferentes. Razão pela qual se utilizou semente de coentros, pois para além de conferir um aroma mais intenso, também dá textura ao produto final. O piri-piri confere um contraste em termos de cor, assim como os cominhos. Já o louro é utilizado em inúmeras receitas pelo que é considerado tradicional português.

2.1.6. Protocolo de fermentação

Após as atividades laboratoriais efetuadas, chegou-se à conclusão de que o seguinte procedimento obteve bons resultados no final.

Ingredientes

- Couve coração
- Sal
- Condimentos

Material utilizado

- Balança
- Bacias de plástico
- Frascos de vidro
- Robot coupe
- Gobelés

Procedimento

1. Higienizar as mãos, e todo o material em contacto com o a couve (talheres, bancadas, frascos de vidro);
2. Tirar e descartar as primeiras folhas e cortar a base da couve, lavar o exterior exposto com água corrente;
3. Cortar a couve em juliana com o auxílio do *robot coupe* previamente higienizada, o resultado pode ser verificado na figura 1;
4. Espalhar uma quantidade de sal (figura 2) na couve cortada que represente uma concentração de 3% p/p, durante pelo menos 4 horas, com peso em cima para facilitar a perda de água e de sucos da couve (Figura 3);



Figura 1 - Couve cortada em juliana



Figura 2 – Sal



Figura 3 – Pressão sobre a couve

5. Quando os sucos da couve estiverem em quantidade considerável, dividir a couve em quantidades equivalentes pelos diferentes frascos com os respectivos temperos adicionados em cada um dos frascos e misturar bem;
6. Ter o cuidado de garantir que a totalidade da couve fica submersa nos seus sucos;
7. Colocar na estufa a 20° (figura 4);



Figura 4 – Frascos de fermentação

2.2. Segurança Alimentar durante o procedimento

Os cuidados de higienização tanto do manipulador como dos materiais diretamente em contacto com os ingredientes permitiu diminuir as probabilidades de ocorrências de contaminações cruzadas, que colocariam em causa a segurança do produto final. Pela mesma razão, foram retiradas as folhas externas e da base da couve. Este procedimento permitiu descartar as partes da couve que poderiam mais facilmente estar contaminadas tanto por organismos patogénicos, que colocariam em causa a segurança, como por organismos deterioradores da qualidade do produto final, que dificultariam o correto desenvolvimento da fermentação, resultando num produto final com menor qualidade.

2.3. Microbiologia preditiva

Conforme referido por Oliveira et al., 2013, a microbiologia preditiva é um método que descreve, de forma quantitativa, quais os efeitos de fatores intrínsecos (atividade da água, pH) e fatores extrínsecos (temperatura) no crescimento e inibição de microrganismos em alimentos. Trata-se de modelos matemáticos derivados de estudos quantitativos sob determinadas condições experimentais, gerando curvas de crescimento e inibição microbiana. Estes modelos permitem prever a influencia de cada fator sobre o crescimento do microrganismo em questão. Assim, utilizou-se um programa de microbiologia preditiva com o intuito de fornecer mais informações sobre a segurança alimentar do produto final. O programa utilizado foi o *ComBase*. Foram feitos dois testes relativos ao crescimento microbiano. Num dos testes, testou-se a

resposta às condições iniciais do produto, durante o período de fermentação (tabela 2). Noutro teste, testaram-se as condições relativas ao período após a fermentação, durante igualmente uma semana (tabela 2). Os microrganismos testados foram os mencionados na tabela 1. Os dados mencionados na tabela 2 foram obtidos com recurso aos resultados obtidos em testes anteriores referenciados na tabela 3.

Tabela 2 – condições de ambiente testadas no programa *ComBase*

	pH	Temperatura	NaCl	Tempo
Condições iniciais	5.5	18°C	4%	7 dias
Condições finais	4.2	5°C	4%	7 dias

2.4. *Focus group* com potenciais consumidores

Com o objetivo de perceber qual a reação inicial de um grupo de potenciais consumidores do produto em questão e também deduzir possíveis opções de melhoria que poderiam ser implementadas futuramente no mesmo, efetuou-se um *focus group*. Para tal, selecionou-se um grupo de potenciais consumidores deste tipo de produtos, com recurso a um questionário partilhado entre possíveis candidatos (Anexo I). O questionário foi partilhado entre antigos estudantes da Escola Superior de Biotecnologia e outras pessoas identificadas individualmente como eventuais candidatos. No final, foram selecionadas 8 pessoas que correspondiam ao desejado, tendo sido selecionados 4 participantes do género masculino e 4 do género feminino. No decorrer da discussão de grupo, foram debatidos os temas previamente definidos no guião do *focus group* (Anexo II), tendo sido a mesma gravada com recurso a um telemóvel para posterior análise. Foram efetuadas fermentações com recurso a 3 condimentos diferentes, alho e salsa, coentro e louro. O procedimento efetuado foi o já descrito anteriormente. O produto destas fermentações foi o utilizado no momento da prova durante o *focus group*.

2.5. Entrevista com chef de cozinha

Outro procedimento efetuado no sentido de obter uma análise externa ao produto fermentado foi uma entrevista, nomeadamente numa perspetiva prática do ponto de vista culinário acerca da aplicabilidade do produto final. Nesse sentido, realizou-se uma entrevista individual ao chef de cozinha Hélio Loureiro. Para a entrevista, preparou-se uma ficha resumo das características organolépticas do produto e da forma como seria expectável decorrer o seu consumo, bem como a sua versatilidade relativamente à adição de condimentos desejados. A entrevista teve a duração de cerca de uma hora.

3. Resultados e Discussão

Após a realização das fermentações, obteve-se um produto de acordo com o esperado e o reportado em bibliografia, já mencionado na introdução. A couve fermentada apresentou-se de textura crocante e sabor ligeiramente ácido, tal como esperado. Em relação aos aromas, como também era esperado, em todas as fermentações verificou-se um aroma ácido, devido à presença de ácido láctico resultante da fermentação láctica ocorrida na couve. Em todos os testes efetuados verificou-se que o aroma resultante do condimento adicionado se revelou suficientemente identificável, apesar da acidez característica. Esta diferença de aromas entre cada frasco tornou cada fermentação com aromas únicos. Com a adição dos condimentos, para além de estes conferirem à couve fermentada um aroma mais complexo e variado, também permite tornar o produto final adequado à combinação com outro tipo de alimento, criando combinações únicas, dependendo do condimento adicionado. Este facto torna o produto muito versátil do ponto de vista culinário, podendo-lhe ser adicionado o condimento desejado para que possa servir de acompanhamento ideal a um determinado alimento específico, por exemplo, testar aroma de alho e salsa para acompanhar o produto final num prato de bacalhau.

No parâmetro analisado para controlo do produto, o pH, também se verificou uma concordância ao longo das fermentações relativamente ao evoluir dos valores de pH e ao descrito na literatura. A tabela 3 resume os valores de pH recolhidos, ao longo de uma semana, no decorrer de uma fermentação com recurso a diferentes condimentos. Conforme pode ser verificado na tabela, os valores de pH foram gradualmente diminuindo, indiciando que se deu de facto um crescimento de BAL e a fermentação decorreu com normalidade. Por outro lado, os valores de pH atingidos ao oitavo dia, não se enquadram com o verificado na literatura como sendo o pH final da maioria dos produtos fermentados existentes no mercado, entre 3,2 e 3,4. [2] Isto pode ser devido às condições de fermentação serem diferentes nos métodos comparados, e não sendo, por isso, diretamente comparáveis com as condições do presente trabalho. Verificou-se ainda, que a diminuição de pH não foi igual em todos os frascos de fermentação, consoante o condimento utilizado, o que pode indicar que os diferentes condimentos poderão ter uma influência no processo de fermentação, conforme também se encontra descrito na literatura [2, 3]. No entanto, uma vez que a diminuição de pH se deu em todos os frascos de fermentação, pode-se concluir que nenhum dos condimentos utilizados inibiu o crescimento das BAL. Comparando também os dados relativos ao pH das fermentações com condimentos com as fermentações iniciais efetuadas sem adição de condimentos, disponíveis no anexo III, verifica-se uma concordância nos valores de ambos. Considera-se, assim, que o processo de fermentação decorreu com sucesso atingindo os objetivos esperados.

Outro resultado importante do presente trabalho foi o protocolo de fermentação por ele gerado. O processo de fermentação pode variar de produto para produto, e no decorrer do presente trabalho foram efetuados diversos procedimentos antes de se atingir o processo final, mencionado no capítulo anterior. Tendo sido este o que resultou em produtos satisfatórios, sendo facilmente replicável. Uma das principais dificuldades em efetuar as fermentações foi encontrar

uma solução para que o conteúdo dos frascos de fermentação não tivesse contacto com o oxigénio, no topo dos frascos, uma vez que quando isto se verifica, dá-se o crescimento de bolores. Este problema foi ultrapassado inserindo um gobelé no interior do frasco, pressionando as couves para baixo. Outra questão muito ponderada foi a adição de sal. Conforme já foi descrito, a fermentação poder-se-ia dar com concentrações de sal variáveis, entre 2 a 5%. No entanto, por questões relacionadas com a saúde e com a palatibilidade do produto final, tentou-se desenvolver fermentações com concentrações de sal reduzidas. Neste trabalho utilizou-se 3% de concentração de sal. Verificou-se que em todos os casos as fermentações decorreram com normalidade com esta concentração.

Tabela 3 – Variação do pH dos frascos de fermentação ao longo dos dias, para os diferentes condimentos

	1 – Coentros	2 – Piri-piri	3 – Cominhos	4 – Louro
Dia 1	5.50	5.56	5.49	5.60
Dia 2	5.65	5.63	5.72	5.59
Dia 3	4.87	4.64	5.68	4.61
Dia 4	4.34	4.38	4.97	4.24
Dia 5	4.24	4.27	4.64	4.19
Dia 6	4.19	4.25	4.52	4.20
Dia 7	4.18	4.20	4.39	4.17
Dia 8	4.20	4.14	4.20	3.98
pH inicial – 5.95				
T – 20°C				
A partir do dia 8, os frascos foram colocados no frigorífico a cerca de +5°C				

A realização do *focus group* foi muito relevante para o amadurecimento do conceito relativo ao produto. Os principais resultados obtidos encontram-se sintetizados na tabela 4. A totalidade dos participantes referiu que poderia consumir o produto com frequência diária, idealmente como acompanhamento de refeições principais (almoço e jantar). Uma vez que o produto tem uma elevada percentagem de sal, concluiu-se no *focus group* que este poderia ser adicionado em pratos com baixo teor de sal, servindo inclusivamente como substituto de sal em determinados pratos, diminuindo assim a quantidade de sal ingerida na refeição, reduzindo assim também o impacto na saúde associado ao consumo excessivo de sal. Esta solução resolveria, de facto, o principal problema identificado com o excesso de sal. Para além disso, os participantes referiram que o produto seria consumido idealmente como complemento a uma refeição, em pequenas porções, e não como elemento principal de um prato. Isto devido ao seu aroma forte e salgado. Algumas sugestões dos participantes passaram por: saladas, cachorros ou hambúrgueres, sopas e até em alguns alimentos doces, podendo ser interessante devido ao contraste de aromas. Em relação aos condimentos a utilizar, todos os participantes demonstraram curiosidade em qualquer condimento adicionado ao produto, não excluindo

nenhum tipo de especiaria ou erva aromática. Já quanto à apresentação do produto, nomeadamente em relação à embalagem, os participantes concluíram que o ideal seria uma apresentação em frasco de vidro. Deveria, também, ser feito um forte investimento na embalagem do mesmo. Uma vez que se trata de um produto com pouca notoriedade em Portugal, este deveria ser promovido de forma a salientar os seus pontos fortes. A sua localização no supermercado também não deveria ser ao acaso. Esta deveria ser colocada junto à zona de alimentos *gourmet* pois, segundo os participantes, este deveria ser o segmento de mercado do produto em questão. Por conseguinte, o preço do produto, para alguns participantes, deveria ser elevado. Para outros participantes, o preço não deveria ser muito elevado pois se trata de um produto pouco apreciado no nosso país e o preço não deveria representar um entrave à sua aquisição por parte dos consumidores, pois já existirão outros entraves associados com o aroma e com o pouco hábito de consumo de produtos semelhantes. Neste tema, não se verificou consenso. De facto, o preço poderia ser uma questão sensível e decisiva para o sucesso do produto. Por esta razão, considera-se adequada a realização de mais métodos de investigação específicos para determinar, com rigor, qual o posicionamento de preço para o produto realizado. Uma das sugestões mais relevantes deixadas pelos participantes foi a hipótese de incluir no projeto o conceito de economia circular. A economia circular baseia-se no conceito de reduzir, reutilizar ou recuperar recursos que de outra maneira seriam resíduos e não teriam aproveitamento útil. Assim, a economia circular permite a manutenção do valor dos produtos durante mais tempo. Este conceito teria interesse para o trabalho em questão, por exemplo, no aproveitamento de matérias-primas que devido ao seu aspeto físico não seriam comercializadas. No caso de matérias primas em fim de vida, seria necessário recorrer a mais testes uma vez que estes produtos apresentam uma eventual quantidade de bactérias deterioradoras do produto que poderiam por em causa o sucesso do processo de fermentação. No entanto, devido à pertinência do conceito na atualidade, considera-se um tema a considerar para o presente trabalho.

Tabela 4 – Síntese dos principais resultados obtidos após a realização do *focus group*

Questões	Respostas
Frequência da utilização	Possibilidade de consumo diário, como acompanhamento das principais refeições e nunca como elemento principal do prato, especialmente devido ao elevado teor de sal. Devido também a isso, o produto final idealmente pode ser consumido em pequenas porções. O produto pode ser utilizado num prato com baixo teor de sal, servindo como elemento principal de tempero, reduzindo o teor de sal total na refeição e tornando o alimento final com um aroma mais apropriado.
Consumo associado do produto	Dependendo do tipo de condimento, os participantes referiram que imaginam este produto ser utilizado numa vasta gama de alimentos. Algumas das sugestões fornecidas como potencialmente interessantes foram cachorros, hamburguers, sopas e até em alguns alimentos doces, causando um contraste de aromas que pode, segundo alguns participantes, ser interessante, dependendo também do tipo de condimento utilizado.
Condimentos utilizados	Não foram feitas grandes observações relativamente a este tema, todos os participantes revelaram interesse em qualquer condimento e especiaria referindo que dependendo do que fosse acompanhado, qualquer condimento ou especiaria poderá ser adequado
Em relação ao produto	Idealmente o produto deveria ser comercializado numa embalagem de vidro pois este material torna o produto mais diferenciado. Foi referido também que a apresentação deste produto, caso fosse comercializado, deveria ser feito um forte investimento na sua promoção por se tratar de um produto com pouca referencia no nosso mercado. Este dever-se-ia posicionar no mercado <i>gourmet</i> . Relativamente ao preço não se verificou consenso entre os participantes. Para alguns, o seu preço não deveria ser muito elevado pois se trata de um produto pouco conhecido e o preço não deveria ser um entrave à sua compra, para outros, o seu elevado preço poderia tornar o produto diferenciado enquadrando-o no mercado <i>gourmet</i> .
Outras questões	Uma das sugestões mais relevantes por parte dos participantes foi tentar enquadrar o produto no conceito de economia circular, servindo como reaproveitamento de matérias primas que de outra maneira não teriam valor comercial.

A entrevista com um chef de cozinha permitiu fornecer um olhar prático sobre as possíveis aplicações culinárias associadas a este tipo de produto. O chef de cozinha entrevistado foi o chef Hélio Loureiro. Para além do seu olhar culinário, derivado da sua experiência na área alimentar, o chef colaborou com conceitos uteis que foram para além da culinária. Inicialmente, o chef sugeriu a utilização de matéria-prima excedentária, em que a sua disponibilidade é superior ao seu consumo que, como já foi verificado, acontece com o produto escolhido para a elaboração do presente trabalho. Este conceito torna-se especialmente importante pois permite uma nova utilização de produtos que, normalmente, não seriam utilizados para alimentação humana ou seriam exportados. Neste caso, pode ser dada uma utilização prática de produtos nacionais. O chef sugeriu também optar por utilizar produtos unicamente de origem nacional, diminuindo a pegada ecológica e associar ao produto o conceito de quilómetro zero. Este facto também foi tido em conta e seguido no presente trabalho. Este cuidado torna-se especialmente mais importante numa altura em que os consumidores dão bastante importância ao consumo de produtos nacionais e, em alguns casos, até locais. Desse ponto de vista, faz todo o sentido tentar sempre que possível, incluindo nos condimentos a utilizar, optar por ingredientes de origem nacional e local. Em relação a utilizações mais práticas, também foi discutido com o chef a hipótese de um produto nutricionalmente completo, ou seja, rico em todos os macronutrientes de forma equilibrada, correspondentes a uma refeição, com a utilização da couve fermentada sendo prático de consumir. Por exemplo, num frasco com leguminosas e cereais. Desde modo o produto desenvolvido poderia atingir o vegetarianismo, tendência que se encontra em franca expansão mesmo dentro de consumidores que não sendo vegetarianos restritos, optam por, ocasionalmente, consumir refeições vegetarianas. Neste caso seria necessário estudar em que condições essas fermentações poderiam ser feitas e de que modo este produto poderia ser criado. Em relação à utilização culinária, segundo o chef, o produto com as características apresentadas, pode combinar em pratos de porco ou pato, por serem sabores mais fortes. A sua utilização em pratos de peixe não poderia ocorrer com a maioria dos peixes grelhados pois o forte aroma da couve poderia sobrepor-se ao próprio peixe, que não é desejado. No entanto, em peixes confecionados em estufado de caldo, poderia ser uma alternativa viável. Com estes conselhos do chef, abre-se uma grande variedade de opções para acompanhar com o produto criado. Para finalizar, o chef recomendou uma pequena receita de elaboração fácil com a utilização a recursos unicamente de origem nacional. A receita recomendada pelo chef foi a seguinte:

Ingredientes

- Couve fermentada;
- Broa de Avintes;
- Azeite qb;
- Sardinha ou cavala em conserva;

Preparação:

- Cortar a broa em fatias e levar a dourar no forno com um fio de azeite e uma sardinha/cavala por cima;
- Acompanhar com a couve fermentada;

Outra questão importante e que esteve sempre presente no decorrer durante a execução do presente trabalho foi a segurança alimentar do produto final. Conforme já foi descrito, segundo a literatura, este tipo de fermentação é considerada segura se for feita corretamente. Os principais perigos associados à contaminação e à segurança alimentar neste tipo de produtos prendem-se com más práticas durante a preparação da fermentação que possam por em causa tanto o sucesso da fermentação como a existência de eventuais contaminações cruzadas. No decorrer do procedimento das fermentações efetuadas no presente trabalho, foram tidos todos os cuidados de higienização para que a contaminação cruzada não acontecesse. Cruzando os dados sintetizados na tabela 1 referente aos valores de pH após 8 dias de fermentação com os dados da tabela 1 referente às condições ideais de crescimento dos principais microrganismos patogénicos, percebe-se que, relativamente ao pH, nenhum dos microrganismos apresentados tem facilidade em crescer nas condições do ambiente de cada um dos frascos de fermentação.

Também no seguimento do tema da segurança alimentar, foram efetuados testes de microbiologia preditiva no programa *ComBase*. Foram elaborados testes tendo em conta as condições de ambiente iniciais e finais. Segundo a figura 5, que diz respeito à curva de crescimento de microrganismos tendo em conta as condições de ambiente iniciais, verifica-se que todos os quatro microrganismos testados têm capacidade de crescer nestas condições. Apesar disso, estes resultados devem ser interpretados com cautela, pois parte-se do princípio que os microrganismos se encontram presentes no alimento, o que não deve acontecer. Razão pela qual são tão importantes as precauções tomadas mencionadas nos capítulos anteriores, com o objetivo de reduzir uma eventual contaminação com o produto final. Por outro lado, deve-se ter em consideração que estes modelos não têm em conta a presença de microrganismos concorrentes no alimento e a quantidade de nutrientes disponíveis nesse mesmo meio. Tratando-se de um produto com condições de ambiente favoráveis ao crescimento das BAL, conforme já foi descrito, é expectável que a competição por nutrientes não facilite o crescimento de microrganismos patogénicos. Em relação ao crescimento nas condições de ambiente finais (figura 6), verifica-se que nenhum dos microrganismos teria capacidade de crescer nessas mesmas condições. O que corresponde ao expectável.

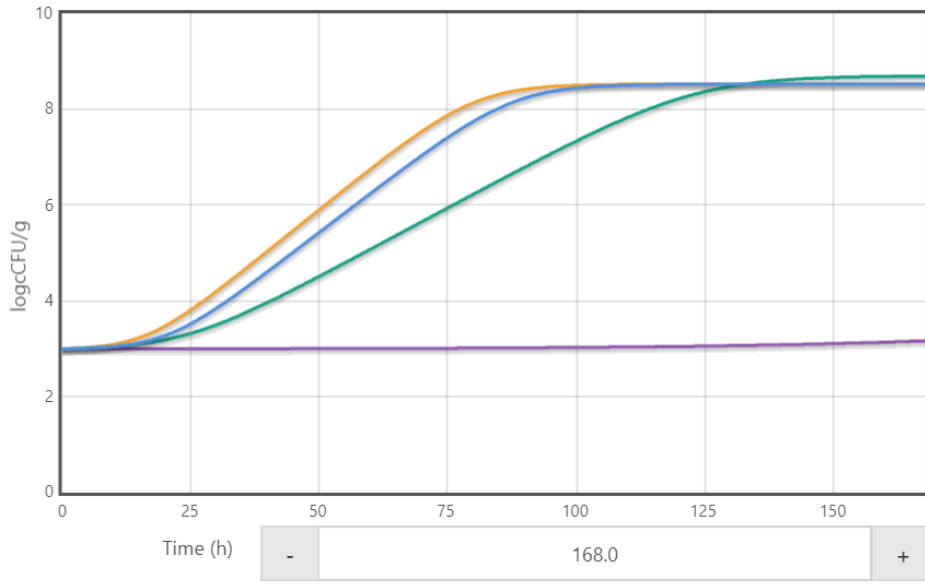


Figura 5 – curva de crescimento microbiano obtido através de microbiologia preditiva, tendo em conta as condições ambiente iniciais

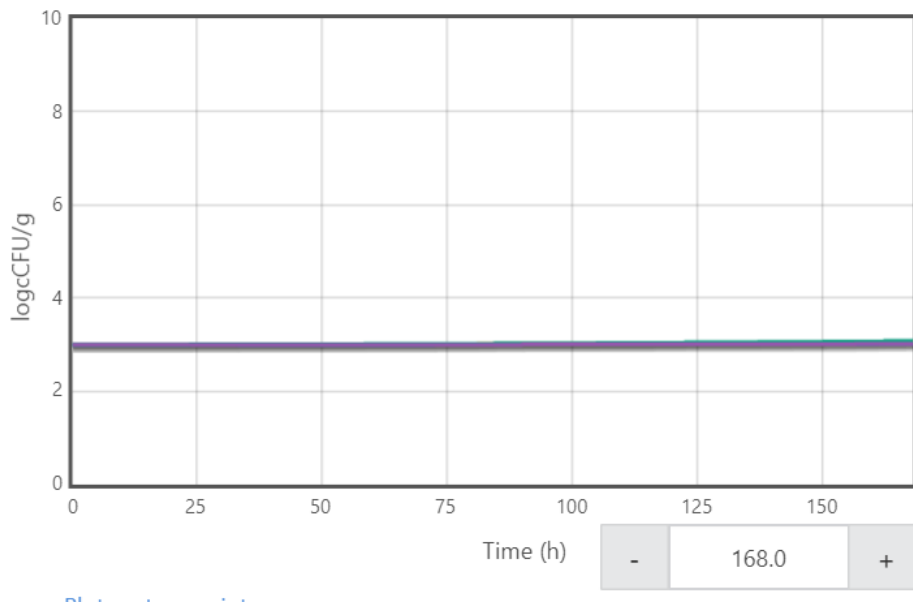


Figura 6 – curva de crescimento microbiano obtido através de microbiologia preditiva, tendo em conta as condições de ambiente finais.

4. Conclusões gerais

Após a elaboração do presente trabalho consideram-se atingidos os objetivos estabelecidos. O processo de fermentação foi dominado e percebido, foram utilizados nas fermentações condimentos e especiarias utilizadas tradicionalmente na culinária portuguesa e foram efetuados métodos de pesquisa no sentido de validar a utilidade do produto. Podem-se retirar as seguintes conclusões:

- Os vegetais fermentados são tão antigos quanto as primeiras civilizações, e era utilizado como método de conservação dos vegetais;
- Atualmente, o seu consumo é muito popular em muitas regiões da Ásia, norte da Europa e Estados Unidos da América;
- A fermentação de vegetais acontece por intermédio de bactérias ácido-láticas (BAL) e outros fermentos que convertem os açúcares disponíveis dos vegetais em ácido láctico, ácido acético, etanol e dióxido de carbono;
- Os vegetais fermentados são alimentos nutricionalmente interessantes uma vez que a sua digestibilidade pode ser melhorada, a biodisponibilidade de determinados nutrientes poderá estar aumentada, é uma potencial fonte de probióticos, trata-se de um alimento natural e possui todos os benefícios inerentes ao vegetal utilizado na fermentação;
- Os vegetais fermentados podem ser interessantes do ponto de vista de muitas tendências do mercado agro-alimentar, nomeadamente o facto de ser um produto natural e de origem vegetal;
- Em Portugal o consumo de vegetais fermentados tem pouca tradição sendo que este não é muito popular;
- A segurança alimentar deste tipo de produto é assegurada devido à atividade biológica das BAL e devido às boas práticas de higiene durante a elaboração do procedimento;
- A couve coração-de-boi é uma opção viável na elaboração de um vegetal fermentado uma vez que as fermentações decorreram com normalidade;
- Uma das principais dificuldades do procedimento é garantir que os vegetais permanecem submersos nos frascos de fermentação, sendo muito importante encontrar mecanismos que façam com que isto aconteça;
- Após a elaboração do protocolo final, foram obtidos produtos com resultados satisfatórios, de acordo com o esperado, de textura crocante, sabor ligeiramente ácido.
- A adição de condimentos conferiu ao produto final um aroma mais completo e variado, permitindo conjugar o produto final com uma variedade diversa de confeções culinárias;
- A diminuição de pH ao longo do período de fermentação, permitiu confirmar o sucesso no decorrer das mesmas;
- Após a realização do *focus group*, concluiu-se que o produto tem potencial para ser apreciado pelos consumidores, necessitando de mais estudos para confirmar;
- Após a entrevista com o chef Hélio Loureiro, ficou claro que existe aplicação prática para o produto apresentado;

5. Trabalho futuro

Para completar o presente trabalho e eventualmente tornar o produto mais comercial, ainda ficam procedimentos por efetuar. Alguns desses procedimentos são:

- Testar o produto com os seus diferentes condimentos em receitas práticas percebendo em que tipo de pratos poderia ter mais sucesso;
- Pensar na embalagem e no rótulo do produto bem como nas questões associadas à sua comercialização;
- Estudar o posicionamento de mercado pretendido para o produto, especialmente, relativamente ao seu preço;
- Testar a validade da utilização do conceito de economia circular na elaboração do produto;
- Pensar em formas alternativas de apresentação do produto, como por exemplo, utilizar o produto em refeições completas prontas a consumir;
- Efetuar estudos de mercado em consumidores para perceber a aceitabilidade ao produto e de que modo poderia eventualmente ser comercializado;
- Testar a realização de fermentações com concentrações de sal o mais reduzido possível;

6. Bibliografia

- Manas, R.S., Marimuthu, A., Ramesh C.R., Rizwana Parveen Rani. 2014. "*Fermented fruits and vegetables of Asia: a potencial source of probiotics*". Department of biotechnology, Indian institute of tecnology. Disponível: <https://www.hindawi.com/journals/btri/2014/250424/> [data da consulta: 08/03/2017]
- Breidt, F, McFeeters, R.F., Perez-Diaz, I, Lee, C.H. 2013. "*Fermented Vegetables*". Food microbiology, fundamentals and fronteirs. 4th ed. Washinton DC. pp-15. Disponível: <https://fbns.ncsu.edu/USDAARS/Acrobatpubs/P376-400/p380.pdf> [data da consulta: 08/08/2017]
- Farnworth, E.R. 2008. "*Handbook of fermented and functional food*". 2nd ed. Nova-York. pp-22
- Helmenstine, A.M. 2017. "*What Is Fermentation in Chemistry?*". Disponível: <https://www.thoughtco.com/what-is-fermentation-608199> [data da consulta: 08/08/2017]
- Katz, S.E. 2012. "The art of fermentation". Chelsea Green Publishing. 528pp
- FAO. 1998. "*Fermented fruits and vegetables - a global perspective*". Agricultural Services Bulletin. Vol 134. Disponível: <http://www.fao.org/docrep/x0560e/x0560e00.htm> [data da consulta: 09/03/2017]
- Stamer, J.R., Stoyla, B.O., Dunkel, B.A. 1971. "*Growth rates and fementation patterns of lactic acid bactéria associated with sauerkraut fermentation*". Jornal of milk and food techology. Disponível: <http://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0022-2747-34.11.521?code=fopr-site> [data da consulta: 20/08/2017]
- Didari, T, Mozaffari, S, Nikfar, S, Abdollahi, M. 2015. "*Effectiveness of Probiotics in Irritable Bowel Syndrome: Updated Systematic Review with Meta-Analysis*". *World Journal of Gastroenterology*. Disponível: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25780308> [data de consulta: 09/10/2017]
- Cuello-Garcia, C.A., Brožek, J.K., Fiocchi, A, Pawankar, R, Yepes-Nuñez, J.J., Terracciano, L, Gandhi S, Agarwal, A, Zhang, Y, Schünemann, H.J. 2015. "*Probiotics for the Prevention of Allergy: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*". *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Disponível: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26044853> [Data da consulta: 06/06/2018]
- Heller, K.J. 2001. "*Probiotic bactéria in fermented foods: product characteristics and starter organís*". *American Journal of Clinical Nutrition*. Disponível: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11157344> [data da consulta: 09/12/2017]
- Christa, R, Ostermann, T, Boehm, K, Molsberger, F. 2014. "*Regular Consumption of Sauerkraut and Its Effect on Human Health: A Bibliometric Analysis*". *Global Advances in Health and Medicine*. Disponível: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25568828> [data da consulta: 21/06/2018]

Balança Alimentar Portuguesa 2012-2016, Instituto Nacional de Estatística, I. P. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=289818234&PUBLICACOESmodo=2&xlang=pt. [data da consulta: 19/10/2018]

Lopes, C, Torres, D, Oliveira, A, Severo, M, Alarcão, V, Guiomar, S, Mota, J, Teixeira, P, Rodrigues, S, Lobato, L, Magalhães, V, Correia, D, Carvalho, C, Pizarro, A, Marques, A, Vilela, S, Oliveira, L, Nicola, P, Soares, S, 2017. E. Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física, IAN-AF 2015-2016: Relatório de resultados. Universidade do Porto. ISBN: 978-989-746-181-1. Disponível em: www.ian-af.up.pt. [data da consulta: 27/06/2018]

Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge, 2006. Tabela de composição de alimentos. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www2.insa.pt/SITES/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetailAlimento.aspx?ID=IS562> [data da consulta: 03/05/2018]

Rout, M.J.R. 1994. Fermented foods and food safety. Department of Food Science, Agricultural University. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0963996994900973> [data da consulta: 06/06/2018]

Borresen, E.C, Handerson, A.J., Kumar, A, Weir, T.L., Ryan, E.P. 2012. Fermented Foods: Patented Approaches and Formulations for Nutritional Supplementation and Health Promotion. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5175401/> [data da consulta: 29/06/2018]

Motarjemi, Y, 2002. Impact of small scale fermentation technology on food safety in developing countries. International Journal of Food Microbiology. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12036144> [data da consulta: 29/06/2018]

Escola Superior de Biotecnologia, 2005. *Clostridium botulinum* Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE). Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/clostridium-botulinum.aspx> [data da consulta: 07/07/2018]

Escola Superior de Biotecnologia, 2005. *Salmonella*. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE). Disponível em: <http://www.asae.gov.pt/?cn=541054135462AAAAAAAAAAAA> [data da consulta: 07/07/2018]

Escola Superior de Biotecnologia, 2005. *Listeria monocytogenes* Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE). Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/listeria-monocytogenes.aspx> [data da consulta: 07/07/2018]

Escola Superior de Biotecnologia, 2005. *Escherichia coli*. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE). Disponível em: <http://www.asae.gov.pt/?cn=541054135465AAAAAAAAAAAA> [data da consulta: 07/07/2018]

Roteiro Gastronómico de Portugal, 1997. Disponível em: www.gastronomias.com. [data da consulta: 13/07/2018]

Oliveira, Aline Pedrosa et al, 2013. Microbiologia Preditiva. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20AGRARIAS/Microbiologia%20Preditiva.pdf>. [data da consulta: 10/10/2018]

ANEXO I – Questionário de seleção de participantes para Focus Group

Entrevista de grupo - inovação alimentar

Sou aluno de mestrado, em biotecnologia e inovação alimentar, da Universidade Católica Portuguesa, e na sequência do projeto final foi desenvolvido um produto vegetal fermentado com aromas e sabores utilizados na gastronomia portuguesa. Considero que você poderá ser um potencial candidato a participar numa entrevista de grupo onde será provado e avaliado o produto com a finalidade de obter a sua mais sincera opinião sobre diversos tópicos relacionados com o mesmo.

Gosta de experimentar produtos novos?

- Sim
- Não

Tem boa tolerância a produtos de aroma ácido? (ex: iogurte natural, pickles?)

- Sim
- Não

É elegível para colaborar no meu projeto. Como já foi referido, tratar-se-á de uma entrevista de grupo. Terá a duração de 45 minutos, aproximadamente, em que o objetivo será dar a sua opinião sobre diferentes tópicos acerca do protudo experimentado. O local da entrevista será na Escola Superior de Biotecnologia, no Porto, num sábado, a combinar entre todos os participantes, por volta das 11h30.

Tem disponibilidade e interesse em participar?

- Sim
- Não

Em caso de não correspondência das condições necessárias definidas para a participação no focus group:

Infelizmente não é elegível para participar no meu projeto. Agradeço no entanto ter respondido às questões iniciais e ter demonstrado interesse em participar.

Questionário ainda disponível em:

<https://goo.gl/forms/K3wQGCVd0MMGWGto2>

ANEXO II – Guião para o Focus Group

Objetivo: perceber, dentro de um grupo de potenciais consumidores experientes deste tipo de produtos, a frequência do consumo deste tipo de produtos, em que ocasiões poderia ser consumido, com que tipo de alimentos poderia ser consumido entre outras questões a serem debatidas. O objetivo final é gerar uma boa quantidade de ideias que permitam obter conclusões acerca dos potenciais pontos fortes e fracos do produto para eventual investigação futura.

Número de participantes: 8

Tipo de participantes: pessoal ligado ao meio académico ou da indústria alimentar; potenciais consumidores deste tipo de produtos e que não tenha aversão a experimentar alimentos novos;

Quantidade de amostras testadas: 4 (alho e salsa, piri-piri, cominhos, louro) – apenas sugestões

Duração total: 45 min/1h

Horário do focus group: preferencialmente à hora de almoço (entre as 12h/14), nunca depois do almoço.

Incentivo: (a definir)

Local: Escola Superior de Biotecnologia, UCP

Guião

- 1- Boas-vindas, apresentação do plano do focus group, questões relacionadas com a confidencialidade
- 2- Breve introdução teórica do produto
 - a. O que se trata
 - b. Como foi produzido, etc
- 3- Prova do produto
- 4- Questões
 - a. Frequência da utilização
 - i. - Com base nas características dos produtos apresentados, com que frequência imaginaria consumir alguns destes produtos?
 - ii. - Consumo diário, semanal, ou apenas esporádico?
 - iii. - O produto apresentado combina melhor com que tipo de refeição? (lanches, ou refeições principais)
 - b. Consumo associado deste produto
 - i. - Este produto seria idealmente consumido com que tipo de alimentos? Carnes, peixes?
 - ii. - Imagina alguma receita, de preferência tipicamente portuguesa, em que este produto poderia ser incluído? Se sim, qual? Apresentar algumas sugestões em caso de impasse.

- c. Condimentos adicionados
 - i. - Para além dos condimentos adicionados, que outro condimento acredita que poderiam ser adicionados
Apresentar algumas sugestões em caso de impasse:
- d. Em relação ao produto
 - i. Que tipo de embalagem considera que seria mais apropriada para este produto ser apresentado?
 - ii. Que prazo de validade considera razoável?
 - iii. Que preço consideram que seria justo para este produto? Um produto semelhante (chucrute alemão, simples, vendido no el corte ingles) custa 2,89€ 250 gramas. Considera que este produto, para a mesma quantidade, deveria ser mais caro ou mais barato?
- e. Há alguma coisa que não tenha sido debatida e que gostaria de acrescentar?

ANEXO III – Valores de pH obtidos em fermentações iniciais

Tabela 4 – Valores de pH obtidos em fermentações iniciais sem adição de especiarias e condimentos

pH inicial	5.84	5.91
Dia 1	5.44	5.52
Dia 2	5.53	5.61
Dia 3	4.98	4.72
Dia 4	4.41	4.38
Dia 5	4.29	4.19
Dia 6	4.12	4.05
Dia 7	4.08	3.90
Dia 8	3.98	3.87