

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia**  
**Agroindustrial**



**Tese**

**CARACTERIZAÇÃO DE AZEITES VIRGEM EXTRA “GOURMET” VARIETAIS E  
“BLENDS” COMERCIALIZADOS NO MERCADO DO RIO GRANDE DO SUL**

**ROGÉRIO OLIVEIRA JORGE**

Pelotas, 2010

# **ROGÉRIO OLIVEIRA JORGE**

Engenheiro Agrônomo  
M. Sc. Em Ciências

## **CARACTERIZAÇÃO DE AZEITES VIRGEM EXTRA “GOURMET” VARIETAIS E “BLENDS” COMERCIALIZADOS NO MERCADO DO RIO GRANDE DO SUL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Orientador: PhD. Rui Carlos Zambiasi (DCA – UFPEL)

Co-Orientador: Dra. Ana Cristina Richter Krolow (CPACT - EMBRAPA)

PELOTAS

Rio Grande do Sul – Brasil

Dezembro de 2010

J82c Jorge, Rogério Oliveira

Caracterização de azeites virgem extra “gourmet” varietais e “blends” comercializados no mercado do Rio Grande do Sul / Rogério Oliveira Jorge ; orientador Rui Carlos Zambiasi; co-orientador Ana Cristina Richer Krolow. - Pelotas,2010.103f.- Tese ( Doutorado ) –Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1.Azeite de oliva 2.Parâmetros de qualidade 3.Padrão de comercialização I Zambiasi, Rui Carlos(orientador) II .Título.

CDD 665.3

**ROGÉRIO OLIVEIRA JORGE**  
Engenheiro Agrônomo  
M. Sc. Em Ciências

**CARACTERIZAÇÃO DE AZEITES VIRGEM EXTRA “GOURMET” VARIETAIS E  
“BLENDS” COMERCIALIZADOS NO MERCADO DO RIO GRANDE DO SUL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciência e Tecnologia Agroindustrial).

Comissão de orientação:

Prof. PhD. Rui Carlos Zambiasi (Orientador) – DCA/ UFPEL

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Cristina Richter Krolow (Co-orientadora) – CPACT/EMBRAPA

Comissão examinadora:

Prof. Dr. Paulo Romeu Gonçalves – IQG/UFPeI

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tatiana Valesca Rodriguez Alicieo – DCA/UFPeI

Prof. Dr. Fabrízio da Fonseca Barbosa – DCA/UFPeI

À minha esposa Zaida  
e ao nosso filho Gabriel,  
dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi pela orientação, apoio e sugestões.

Aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – UFPel, pelos conhecimentos repassados.

Ao secretário Marcos pela presteza, atenção e dedicação com que executa o seu trabalho, o meu muito obrigado.

Ao meu saudoso e querido professor Pedro Luiz Antunes, pela orientação no início deste trabalho, pelos ensinamentos recebidos a minha eterna gratidão.

A pesquisadora Ana Cristina Richter Krolow, pelo imprescindível apoio, pela co-orientação, amizade e auxílio financeiro para a realização deste trabalho.

A Embrapa Clima Temperado, pela disponibilização do laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

A professora Rosa de Oliveira Treptow, pela amizade, apoio e estímulo.

Aos amigos e colegas Andressa Carolina Jacques, Vagner Brasil Costa e Francine Manhago Bueno, pela amizade, auxílio e incentivo.

Ao meu pai, Albertino pelo apoio, companheirismo e carinho durante todos estes anos, o meu muito obrigado por tudo.

A minha saudosa mãe Elecy, pelos ensinamentos de honestidade, dignidade e seriedade, que no meio desta minha caminhada fez a sua passagem, nos deixando a certeza de um até breve... Saudades! Obrigado por tudo, Valeu mãe!

Aos meus companheiros de caminhada Zaida e Gabriel, amores da minha vida, por tudo que enfrentamos durante esta trajetória, pelo amor e compreensão, por todas as privações e ausências que passaram para que pudéssemos atingir este objetivo a minha eterna gratidão. Amo vocês!

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei,  
não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.

As facilidades nos impedem de caminhar,  
mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

**Chico Xavier**



## RESUMO

JORGE, Rogério Oliveira. **Caracterização de azeites virgem extra “gourmet” varietais e “blends” comercializados no mercado do Rio Grande do Sul.** 2010. 103 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O Brasil não possui até o momento produção comercial de azeite de oliva, sua demanda interna é atendida pela importação do produto de países europeus e países do cone sul tradicionalmente produtores e exportadores de azeite de oliva. O mercado de azeite no Brasil tem crescido muito nos últimos anos, somente no período de 2004 a 2009 houve um aumento de 78%, ou seja, a importação anual brasileira aumentou de 23 para 42 mil toneladas. Levando em consideração o crescimento do consumo do azeite de oliva, e a constatação de uma alta incidência de adulteração nos produtos comercializados, análises mais freqüentes deste produto no mercado, utilizando metodologias de análises que atendam as normas vigentes da legislação brasileira, devem ser adotadas para um controle mais eficiente. Para isto foram realizadas determinações de acidez, peróxidos, absorção a 232 e 270 nm, estabilidade oxidativa, composição de ácidos graxos, tocoferóis, carotenóides totais, clorofilas totais e fenóis totais. Estas determinações foram realizadas em doze marcas de azeite “virgem extra” comercializadas no Rio Grande do Sul. Entre as marcas analisadas, quatro marcas apresentaram alterações significativas na sua composição de ácidos graxos que denotam indício de adulteração, sendo também reprovadas para o consumo humano devido a seu elevado índice de peróxidos. Com relação às análises de conteúdo de tocoferóis, carotenóides totais, clorofilas totais e fenóis totais, os azeites das diferentes marcas analisadas não apresentaram valores que denotassem qualquer problema no que diz respeito a qualidade do produto. No que se refere à composição de ácidos graxos, tomando por base valores estabelecidos pelo COI e pela atual legislação brasileira, os azeites das doze marcas analisadas encontraram-se fora dos padrões exigidos para comercialização.

## ABSTRACT

JORGE, Rogério Oliveira. **Caracterização de azeites virgem extra “gourmet” varietais e “blends” comercializados no mercado do Rio Grande do Sul.** 2010. 103 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Brazil does not yet have any commercial production of olive oil, its domestic demand is met through product importation from European and Southern Cone countries, that traditionally produce and export olive oil. The olive oil market in Brazil has grown considerably in recent years, only between the years of 2004 and 2009 there was an increase in 78%, the annual Brazilian importation increased from 23 to 42 thousand tons. Considering the increasing consumption of olive oil, and finding a high incidence of adulteration in products sold here, more frequent reviews of this product on the market, using analytical methods that meet the standards of Brazilian law, must be adopted for a more efficient control. The acidity, peroxide value, absorption at 232 and 270 nm, oxidative stability, fatty acid composition, tocopherols, carotenoids, chlorophylls and total phenols were performed. These measurements were performed in twelve brands of olive oil "extra virgin" marketed in Rio Grande do Sul. Among the olive oil brands tested, four olive oil brands showed significant changes in its fatty acid profile that shows evidence of tampering, and also disapproved for human consumption in compared to its high peroxide value. Regarding the content of tocopherols, carotenoids, chlorophylls and total phenols, the olive oil of all brands showed a value that denotes any problem with regard to product quality. As regards the fatty acid profile, based on values established by the IOC and by current Brazilian law, the olive oil of all twelve brands tested were outside the standards required for marketing.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Cromatograma que representa o perfil de ácidos graxos do azeite de oliva virgem “gourmet” da variedade Manzanilla, de origem (amostra A)..... 61
- FIGURA 2.** Cromatograma típico da separação dos tocoferóis em azeite de oliva (azeite de oliva virgem extra “gourmet” da variedade Picual, de origem uruguaia), por HPLC, com coluna de fase reversa e detector de fluorescência a 290 nm de excitação e de 330 nm de emissão..... 67

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1.</b> Valores de acidez (% ácido oléico) encontrados nas amostras de azeite de oliva virgem extra.....	52
<b>TABELA 2.</b> Valores de peróxidos (meq O <sub>2</sub> /Kg) presentes nas amostras de azeite de oliva virgem extra.....	54
<b>TABELA 3.</b> Absorções relativas a 232 e 270 nm presentes nas amostras de azeite de oliva virgem extra.....	57
<b>TABELA 4.</b> Valores da estabilidade oxidativa (horas) das amostras de azeite de oliva virgem extra.....	59
<b>TABELA 5.</b> Perfil de ácidos graxos (área % relativa) presentes nas amostras de azeites virgem extra.....	63
<b>TABELA 6.</b> Conteúdo de tocoferóis (mg. Kg <sup>-1</sup> ) presentes nas amostras de azeite de oliva virgem extra.....	68
<b>TABELA 7.</b> Conteúdo de carotenóides (mg. Kg <sup>-1</sup> ) das amostras de azeite de oliva virgem extra.....	71
<b>TABELA 8.</b> Conteúdo de clorofila (mg. Kg <sup>-1</sup> ) das amostras de azeite de oliva virgem extra.....	73
<b>TABELA 9.</b> Conteúdo de Fenóis Totais (mg. Kg <sup>-1</sup> ) das amostras de azeite de oliva virgem extra.....	76

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	x
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
<b>2.1 Introdução histórica</b> .....	17
<b>2.2 Distribuição geográfica da cultura da oliveira</b> .....	18
<b>2.3 Azeite de oliva</b> .....	20
<b>2.4 Elaboração do azeite de oliva</b> .....	21
<b>2.5 Composição do azeite de oliva</b> .....	23
<b>2.6 Produção mundial do azeite de oliva</b> .....	25
<b>2.7 Consumo do azeite de oliva</b> .....	26
<b>2.8 Produção do azeite de oliva no Brasil</b> .....	26
<b>2.9 Classificação do azeite de oliva</b> .....	27
<b>2.10 Critérios de qualidade e pureza do azeite de oliva</b> .....	29
<b>2.10.1 Acidez</b> .....	31
<b>2.10.2 Índice de Peróxidos</b> ....	31
<b>2.10.3 Absorbância no ultravioleta</b> .....	32
<b>2.10.4 Estabilidade a oxidação</b> .....	32
<b>2.10.5 Composição de ácidos graxos</b> .....	33

<b>2.10.6 Tocoferóis</b> .....	34
<b>2.10.7 Pigmentos</b> .....	36
<b>2.10.8 Polifenóis totais</b> .....	38
<b>2.11 Legislação do azeite de oliva</b> .....	39
<b>2.12 Adulteração do azeite de oliva</b> .....	40
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	44
<b>3.1 Material</b> .....	44
<b>3.2 Padrões para cromatografia</b> .....	45
<b>3.3 Sistema cromatográfico</b> .....	45
<b>3.4 Métodos</b> .....	46
<b>3.4.1 Teor de acidez</b> .....	46
<b>3.4.2 Índice de Peróxidos</b> ....	46
<b>3.4.3 Determinação de absorção específica a 232 e 270 nm</b> .....	46
<b>3.4.4 Estabilidade oxidativa</b> .....	47
<b>3.4.5 Conteúdo de tocoferóis</b> .....	47
<b>3.4.6 Composição de ácidos graxos</b> .....	48
<b>3.4.7 Determinação de carotenóides totais</b> .....	48
<b>3.4.8 Determinação de clorofilas totais</b> .....	48
<b>3.4.9 Determinação de fenóis totais</b> .....	48
<b>3.4.10 Análise estatística</b> .....	49

<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>50</b>
4.1 Teor de acidez.....	50
4.2 Índice de peróxido.....	53
4.3 Determinação de absorção específica a 232 e 270 nm.....	55
4.4 Estabilidade oxidativa.....	58
4.5 Composição de ácidos graxos.....	60
4.6 Conteúdo de tocoferóis.....	67
4.7 Determinação de carotenóides totais.....	70
4.8 Determinação de clorofilas totais.....	72
4.9 Determinação de fenóis totais.....	75
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>79</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>81</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>101</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Desde a descoberta dos efeitos benéficos da dieta mediterrânea, o consumo do azeite de oliva passou a ser popularizado. Vários indícios apontam que o azeite de oliva virgem extra possui propriedades antioxidantes, atuando contra o envelhecimento, no combate ao mau colesterol, contra doenças cardíacas e até na prevenção de determinados tipos de câncer. Porém, muitos azeites que se encontram disponíveis no mercado, embora se apresentem como puros, não podem ser considerados “virgem extra” ou “extra virgem”, como é comumente denominado, e nem sequer produzidos de forma a preservar a totalidade dos nutrientes responsáveis pelos benefícios à saúde (URSELL, 2001).

O Brasil não possui até o momento produção comercial de azeite de oliva, sua demanda interna é atendida através da importação do produto de países europeus e países do cone sul, que são tradicionais produtores e exportadores de azeite de oliva. O mercado de azeite no Brasil tem crescido muito nos últimos anos, somente no período de 2004 a 2009 houve um aumento de 78%, ou seja, a importação anual brasileira aumentou de 23 para 42 mil toneladas (IOOC, 2010c; CIVANTOS, 2008).

O azeite de oliva de melhor qualidade é denominado como virgem extra ou extra virgem, o qual é obtido da primeira prensagem a frio da azeitona. Também por prensagem são obtidos azeites de qualidade pouco inferior ao azeite extra virgem, mas comumente comercializados no mercado brasileiro, denominados de azeite



virgem. Existem ainda os azeites de “*orujo*” ou “*pomace oil*”, que são obtidos pela extração com solventes dos resíduos da prensagem da azeitona, e por isto precisam ser refinados para tornarem-se apropriados para o consumo humano. Dentre esta variedade de azeites encontrados no mercado, estão os azeites “gourmets” varietais, os quais apresentam qualidade superior por serem produzidos de forma mais elaborada nos lagares, com a preocupação de produção de um azeite que mantenha as características próprias da cultivar processada e os chamados azeites “blends” que são azeites compostos pela mistura de duas ou mais cultivares, onde na maioria das vezes a mistura é feita com o intuito de melhorar as características físico-químicas e sensoriais do azeite à ser embalado (APARÍCIO, 2003b).

O Conselho Oleícola Internacional (COI) e a Comissão do Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2001) estabelecem critérios de qualidade e identidade para as diferentes categorias de azeites de oliva. A legislação brasileira vigente para o azeite de oliva é estipulada pela Resolução 482/99 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual fornece subsídios para a aplicação de exigências legais, contidas no Código de Defesa do Consumidor brasileiro e outras legislações pertinentes, quanto à qualidade dos produtos, pois podem indicar descrições, classificações impróprias de qualidade e/ou adulterações do azeite de oliva comercializado no Brasil (ANVISA, 1999).

Recentemente foi elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento uma instrução normativa (Portaria nº 419), que visa estabelecer o regulamento técnico dos azeites de oliva, o qual institui parâmetros que definem o padrão oficial de classificação brasileira, com os requisitos de identidade e qualidade, os quais estão baseados nos critérios internacionais de comercialização do produto. Nesta normativa, os aspectos de identidade são definidos de acordo com a matéria-prima utilizada nos processos de obtenção dos produtos, e a qualidade está ligada a questões como percentual de acidez e índice de peróxidos, os quais são indicativos determinantes do grau de deterioração do produto (BRASIL, 2010).

Os constituintes dos óleos comestíveis podem ser agrupados dentro de duas frações, uma saponificável, que representa em torno de 99% do conteúdo, onde são encontrados majoritariamente triacilgliceróis; e outra insaponificável, onde estão presentes compostos minoritários, como os fenóis, os quais contribuem para o sabor e incrementam a estabilidade oxidativa dos óleos (BARRANCO et al., 2004; APARÍCIO e HARWOOD, 2003; MATÍAS e LASTA, 2001; MARSICO, 1955).

Como principais índices de qualidade do azeite de oliva, podem ser citados o teor de acidez, o índice de peróxidos e a absorbância na região do ultravioleta a 232 e 270 nm.

Com a finalidade de auxiliar no diagnóstico da qualidade do azeite de oliva comercializado no Rio Grande do Sul, foi realizada a análise do perfil de ácidos graxos, como ferramenta para diagnosticar possíveis indícios de adulteração destes azeites, uma vez que diversos trabalhos conduzidos por Aued-Pimentel (2002) e pelo Inmetro (2000), demonstram haver alto percentual de azeites de oliva adulterados no mercado brasileiro.

Outras análises como estabilidade a oxidação, conteúdo de tocoferóis, conteúdo de clorofilas totais, carotenóides totais e polifenóis totais foram realizadas com o intuito de se obter maiores informações a respeito da qualidade do azeite diagnosticado.

Assim, este estudo teve como objetivo fazer um levantamento sobre a qualidade de azeites de oliva “gourmets” varietais e “blends” comercializados no Rio Grande do Sul, evidenciando a qualidade do produto comercializado na região.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Introdução histórica**

A origem da oliveira está perdida no tempo, coincidindo e misturando-se com a expansão das civilizações do Mediterrâneo, que durante séculos governaram o destino da humanidade e deixaram a sua marca na cultura ocidental. A oliveira selvagem teve origem na Ásia Menor, onde é extremamente abundante e cresce em densas florestas. Esta planta parece ter se espalhado a partir da Síria até a Grécia, embora outras hipóteses apontam para o Egito e Etiópia, ou a determinadas zonas da Europa, como a sua região de origem (IOOC, 2010d).

No século 16 aC, os fenícios começaram a divulgar as oliveiras nas Ilhas gregas, e acabaram introduzindo-a em todo o continente grego entre os séculos 14 e 12 aC. Neste período ocorreu um crescimento de seu cultivo, passando a ter grande importância no século 4 aC, quando então são conhecidos os primeiros decretos regulando o plantio desta cultura (IOOC, 2010c).

A partir do século 6 aC ocorreu a propagação da oliveira em todos os países do Mediterrâneo, atingindo Trípoli, Tunísia e ilha da Sicília. Destes locais é introduzida para o sul da Itália, onde o cultivo então se expande de norte a sul, da Calábria à Ligúria (IOOC, 2010d).

Quando os romanos chegam na África do Norte, os berberes conheciam as técnicas de enxertia das oliveiras selvagens, e a partir de então se desenvolve o cultivo da oliveira em todos os territórios por eles ocupados.

Os romanos continuaram com a expansão da oliveira para os países ribeirinhos do Mediterrâneo, usando-a como uma arma pacífica em suas conquistas para dominar estes povos. Foi introduzido em Marselha por volta de 600 aC e espalhou de lá para toda a Gália. A oliveira surge na Sardenha, na época romana, enquanto na Córsega é dito ter sido introduzida após a queda do império romano.

A olivicultura foi introduzida na Espanha durante a dominação marítima dos fenícios (1050 aC), mas não se desenvolveu de forma notável até a chegada do domínio romano (45 aC). Após a terceira guerra púnica, os olivais ocupavam uma grande extensão da Bética, atual Andaluzia, espalhando-se em direção às áreas centrais e da costa mediterrânea da Península Ibérica, incluindo Portugal. Os árabes levaram suas variedades para o sul de Espanha e influenciam de forma decisiva a expansão do cultivo da oliveira, tanto que os vocábulos em espanhol “*aceituna*” (azeitona) e “*aceite*” (azeite), e as palavras em português azeitona e azeite, possuem raízes árabes (IOOC, 2010d).

Com a descoberta da América (1492) espalha-se o cultivo da oliveira além dos países da costa mediterrânea. As primeiras árvores de oliveira foram embarcadas em Sevilha para as Índias Ocidentais e posteriormente para o continente americano. Em 1560, as oliveiras já estavam sendo cultivadas no México, e depois no Peru, Califórnia, Chile e Argentina, onde uma das plantas trazidas durante a Conquista - a árvore “*el viejo Arauco*” vive até os dias de hoje (AYERZA; SIBBETT, 2001).

Mais recentemente a oliveira continuou a se espalhar fora do mediterrâneo, sendo hoje cultivada em locais tão distantes de suas origens como a África do Sul, Austrália, Japão e China (CIVANTOS, 2008).

## **2.2 Distribuição geográfica da cultura da oliveira**

O habitat da oliveira se concentra entre as latitudes 30° e 45°, tanto no hemisfério Sul como no hemisfério Norte, em regiões climáticas do tipo mediterrâneo, caracterizado por um verão seco e quente. No hemisfério sul, os olivais estão sendo cultivados em latitudes mais tropicais com clima modificado pela altitude (IOOC, 2010d).

Para uma boa frutificação a planta tem necessidade de exposição durante o inverno a temperaturas próximas a zero grau, que induzem ao repouso vegetativo, podendo admitir até temperaturas inferiores a 10° abaixo de zero (BARRANCO; FERNANDEZ-ESCOBAR; RALLO, 2004).

Muitos dos olivais existentes estão implantados em zonas de escassa qualidade intrínseca, desfavorável para outros cultivos, situados em encostas onde a erosão acaba por eliminar boa parte dos nutrientes do solo, ou mesmo em zonas de baixa pluviometria. A rusticidade da oliveira permite que se desenvolva nestas condições, porém quando tratadas como qualquer outra fruta as produções aumentam em quantidade e qualidade (ALLALLOUT et al.,2009)

O patrimônio oleícola existente atualmente é de aproximadamente 1 bilhão de oliveiras, ocupando uma superfície de aproximadamente 10 milhões de hectares, sendo 98% do total situado nos países da costa do mediterrâneo; 1,2% no continente americano, 0,4% na Ásia oriental e outros 0,4% na Oceania (IOOC, 2010d).

A oliveira é uma oleácea perene, extremamente rústica, de longevidade excepcional. A espécie doméstica pode alcançar mais de 20 metros de altura, possui folhas estreitas e pequenas flores brancas. O fruto, a azeitona, é uma drupa típica, arredondada, de 15 a 30 milímetros de comprimento e 15 a 20 milímetros de diâmetro, sendo muito carnosa em certas variedades. No verão apresenta coloração verde e no outono vermelho-claro ou quase preta (BARRANCO; FERNANDEZ-ESCOBAR; RALLO, 2004; PEIXOTO, 1973).

A azeitona é constituída por pericarpo e caroço. O pericarpo é composto pelo epicarpo ou casca, pelo mesocarpo ou polpa e pelo endocarpo, que contém o caroço. A polpa representa de 66 a 85% do peso do fruto, o endocarpo de 13 a 30% e a casca de 1,5 a 3,5%. O caroço não excede a 3% do peso do fruto. Cerca de 96 a 98% do total de óleo da azeitona encontra-se no pericarpo e o restante, isto é, 2 a 4% encontra-se no caroço (RAPOPORT, 2004).

Alguns trabalhos relatam como a composição do óleo pode ser influenciada pela latitude. A quantidade de ácido linoléico aumenta quando a temperatura diminui, contrário ao que acontece com o ácido oléico. Além disso, percebeu-se que o conteúdo de esteróis apresenta grandes flutuações. A concentração de beta-

sitosterol, campesterol e estigmasterol decresce quando o clima se torna mais frio. A composição química do azeite de oliva também varia sob influência da altitude. Oliveiras cultivadas próximas ao mar Mediterrâneo produzem óleos diferentes do que aquelas cultivadas nos Alpes (BOSKOU, 1998; APARICIO; FERREIRO; ALONSO, 1994).

### 2.3 Azeite de oliva

O azeite de oliva é o óleo extraído da azeitona (*Olea europaea* Linné), que quando obtido por sistemas de elaboração adequados e procedente de frutos frescos de boa qualidade, sem defeitos nem alterações e com adequada maturação, possui excepcionais características organolépticas, sendo praticamente o único entre os óleos que pode ser consumido cru, conservando íntegro o seu conteúdo de vitaminas, ácidos graxos e outros componentes menores de elevada importância nutricional (ALBA, 2008; DI GIOVACCHINO et al., 2002; DI GOVACCHINO, 1998).

As diferentes variedades de azeitonas, pela composição química do perfil de ácidos graxos dos frutos, podem ser separadas em quatro grupos, cuja classificação se estabelece em função da relação observada entre os ácidos graxos monoinsaturados (oléico e palmitoléico), poliinsaturados (linoléico e linolênico) e o conteúdo de ácido palmítico (GÓMEZ-RICO et al., 2008; RALLO et al., 2004):

**grupo I:** variedades caracterizadas por apresentarem azeites com conteúdo muito alto de ácido oléico, baixos teores de ácido linoléico e palmítico, e uma relação monoinsaturados/poliinsaturados superior a 11%. Como exemplo citam-se as variedades Canetera, I-55 e Picual;

**grupo II:** variedades caracterizadas por apresentarem azeites com teores de ácido palmítico e oléico de médio a alto, conteúdo médio de ácido linoléico e uma relação monoinsaturados/poliinsaturados entre 6% a 11%. Como exemplos deste grupo citam-se as variedades Arbosana, Farga, Grossal Vimbodí, Hojiblanca, I-50, Joanenca, Llumeta, Manzanilla de Sevilla, Marfil, Menya e Verdiell;

**grupo III:** variedades caracterizadas por apresentarem azeites com conteúdo de médio a alto de ácido palmítico e linoléico, e conteúdo médio a baixo de ácido oléico. A relação de monoinsaturados/poliinsaturados encontra-se entre 4% a 6%. Citam-se, como exemplo deste grupo, as variedades Arbequina, Argudell, Becarut, Corbella, Curivell, Empeltre, Fulla de Salze, Morrut, Palomar, Sevillenca e Verdal;

**grupo IV:** variedades caracterizadas por apresentarem azeites claramente desequilibrados, com um conteúdo muito alto de ácido linoléico e palmítico, conteúdo muito baixo de ácido oléico e uma relação de monoinsaturados/poliinsaturados inferior a 4%. Como exemplos deste grupo, podem ser citadas as variedades Blanqueta e Villalonga.

Observa-se que nenhuma variedade reúne todas as características desejáveis. Frutos relativamente pequenos; grande susceptibilidade a doenças; e elevada resistência ao desprendimento, o que dificulta a colheita mecanizada; são as características mais comuns que prejudicam a difusão das novas variedades.

## **2.4 Elaboração do azeite de oliva**

A colheita da azeitona destinada à extração do azeite deve ser realizada antes de apresentar-se completamente madura, num período próprio, por proporcionar um azeite de melhor qualidade, tanto do ponto de vista das características sensoriais como de alguns índices físico-químicos de qualidade. Com isso, a produção do azeite de oliva começa com a seleção das azeitonas, que devem ser firmes e não apresentar nenhum dano físico, pois não adianta dominar a técnica de produção de azeite se a extração se faz com frutos imperfeitos, que resultam num produto de qualidade inferior. É praticamente impossível mascarar o sabor de um azeite obtido de frutos ruins (ALBA, 2008, FERNÁNDEZ-BOLAÑOS et al., 2006).

As etapas de elaboração do azeite de oliva, segundo Uceda et al. (2006), incluem:

a) operações prévias: recepção do fruto, caracterização do fruto, adequação da azeitona, limpeza, lavagem e armazenamento do fruto;

- b) preparo da pasta: moagem e batimento;
- c) separação das fases sólidas e líquidas: prensagem e centrifugação (sistema de duas fases e sistema de três fases);
- d) separação de fases líquidas: decantação natural e centrifugação;
- e) armazenamento e maturação do azeite.

Estes passos envolvem a produção de azeite natural, sem que haja processo químico algum. Trata-se de uma tarefa difícil, demorada e pouco rentável, pois, para cada 5 kg de azeitonas, produz-se, em média, apenas 1 litro de azeite (GIL –RIBES et al., 2004; BARRANCO; TORO; RALLO, 1998).

A principal diferença entre as denominações “azeite” e “óleo” e, no caso, “azeite de oliva” e “óleo de sementes”, está relacionada às origens: no primeiro caso, a extração se faz dos frutos, enquanto que nas sementes, o óleo é extraído com a utilização de solventes. Os azeites provenientes das oliveiras são obtidos mediante a pressão física dos frutos, sem o uso de produtos químicos. Assim, o azeite de oliva pode ser considerado um produto natural, de alta qualidade, um verdadeiro sumo de fruta, diante da imensa maioria de óleos vegetais que são extraídos de sementes oleaginosas moídas e que requerem o uso de solventes (LUCHETTI, 2003; BOSKOU, 1998).

Tanto a polpa como a semente da oliveira contêm material lipídico, e tanto o óleo da semente como o da polpa do fruto da oliveira são semelhantes em composição em ácidos graxos (UCEDA; HERMOSO; AGUILLERA, 2008).

A elaboração do azeite de oliva apresentou apenas pequenas variações até a década de 70, sendo realizada através do sistema tradicional de prensas e capachos. A partir deste período foi introduzido o sistema contínuo de três fases, no qual é realizado a centrifugação de pastas mediante a substituição das prensas pela centrífuga horizontal ou decanter. Este sistema apresenta as vantagens básicas de maior simplicidade mecânica, obtenção contínua do azeite e menor necessidade de mão de obra.



Em princípios dos anos 90, foi introduzido um novo sistema de centrifugação de duas fases, embasado em pequena modificação no decanter, originando um subproduto, “alperujo”, que substitui os subprodutos tradicionais, “alpechin” (água de vegetação) e “orujo” (bagaço), do sistema de extração de três fases. Este novo sistema permite menor consumo de água e de energia.

## **2.5 Composição do azeite de oliva**

O azeite de oliva é composto em sua maior parte (98,5% a 99,5%) pela chamada fração saponificável, que é constituída pelos triglicerídeos, ésteres de glicerina com ácidos graxos e os ácidos graxos livres. Os ácidos graxos predominantes são formados por 18 átomos de carbono, que podem estar unidos entre si por ligações simples, denominados de ácidos graxos saturados, ou estarem unidos por ligações simples e uma dupla, ácidos graxos monoinsaturados, ou também estarem unidos por três ligações duplas, denominados de ácidos graxos poliinsaturados. No entanto, o ácido graxo predominante no azeite de oliva é o ácido oléico, que é monoinsaturado (IOOC, 2010c; GIMENO et al., 2002).

A outra fração de azeite de oliva, denominada de insaponificável, embora sendo uma fração menor, é formada por vários compostos e apresenta grande importância do ponto de vista biológico. O conteúdo de clorofila, que é responsável pela cor verde, e o conteúdo de carotenóides, que é responsável pela pigmentação amarelada, determinam a coloração de cada azeite. Os componentes voláteis desta fração, embora não interfiram diretamente na cor, influenciam no odor e no sabor dos azeites. Os polifenóis são responsáveis em parte pelo sabor, porém sua natureza antioxidante determinam de maneira decisiva a estabilidade do azeite, ou seja sua conservação e sua resistência aos fenômenos degenerativos (CONSTANTE, 2006).

A polpa das azeitonas contém, na sua maioria, compostos fenólicos hidrossolúveis. No entanto, o azeite contém apenas pequena quantidade de fenóis. A classe dos fenóis inclui uma série de substâncias diferentes, de que fazem parte os compostos fenólicos simples, como o ácido vanílico, ácido gálico, ácido cumárico,

ácido caféico, tirosol e hidroxitirosol. O teor de compostos fenólicos no azeite depende da forma de cultura e do grau de maturação dos frutos. Como exemplo, a concentração de hidroxitirosol, tirosol e luteolina é tanto maior quanto maior for o grau de maturidade das azeitonas, enquanto que o teor total em compostos fenólicos e de alfa-tocoferol reduz com o grau de maturidade (HARWOOD; SÁNCHEZ, 2003). A intensidade do amargor do azeite de oliva tem sido atribuída à presença dos compostos fenólicos (GARCÍA, et al., 2001).

O azeite contém também alfa-tocoferol, que dentre os tocoferóis, é o que apresenta a mais elevada atividade da vitamina E, em quantidades que variam entre 1,2 e 43 mg/100g. Outros tocoferóis ( $\beta$  e  $\gamma$ ) estão presentes apenas em pequenas quantidades. Os componentes secundários do azeite não apresentam apenas um efeito benéfico sobre a saúde, como também desempenham um papel importante na estabilidade do azeite. Diversos pesquisadores afirmam que independentemente da quantidade de compostos fenólicos contidos no azeite extra virgem, estes compostos estão altamente relacionados com a sua estabilidade (BLEKAS; TSIMIDOU; BOSKOU, 1995).

A qualidade do azeite de oliva é afetada por vários fatores, tais como técnicas agronômicas, estação do ano, estado sanitário das oliveiras, estágio de maturação, sistema de colheita e transporte, método e tempo da estocagem e tecnologias de processamento. A preservação da qualidade depende das condições adotadas para estocar o produto e do tempo da estocagem. Os azeites de qualidade elevada são obtidos de azeitonas frescas, sadias e colhidas no ponto ótimo de maturação. Entretanto, o meio ambiente e a variedade da azeitona são os fatores que basicamente mais afetam a tipicidade do produto (BARRANCO, 2004; RALLO; CUEVAS, 2004; GIOVACCHINO, 2003).

No entanto, dentro de uma mesma espécie o conteúdo e a composição destes componentes podem variar devido às condições agronômicas e climáticas, à qualidade do fruto ou da semente, ao sistema de extração do óleo e aos processos de refino. Também durante a estocagem do óleo, reações de hidrólise, de esterificação e de oxidação podem originar alterações nos compostos majoritários e minoritários do produto (CERT; MOREDA; PÉREZ-CAMINO, 2000).

O azeite de oliva virgem obtido pela primeira prensagem a frio mantém grande quantidade dos compostos antioxidantes e de compostos que caracterizam seu aroma. Vários estudos têm sugerido que os antioxidantes presentes no azeite de oliva virgem, além de contribuírem para sua estabilidade oxidativa, protegem contra o câncer e aterosclerose. (LUNA; MORALES; APARICIO, 2006; SÁNCHEZ; SALAS, 2003; SANCHOS; BOTA; DE CASTRO, 2002).

Atualmente, graças a pesquisadores como Gurr (2003), conhecemos os efeitos benéficos do consumo de azeite de oliva na saúde humana. Neste momento não parece que haja dúvida alguma acerca da relação entre os níveis de colesterol e a possibilidade de sofrer um infarto coronário. Tanto é assim que todas as medidas recomendadas para prevenir a enfermidade se baseiam fundamentalmente na diminuição do nível de colesterol por métodos dietéticos (MARTÍNEZ DE VICTORIA; MAÑAS, 2008; VARELA; RUIZ-ROSO, 2003).

## **2.6 Produção mundial do azeite de oliva**

Segundo o Conselho Oleícola Internacional (COI), atualmente a área plantada mundialmente com oliveiras é de 10 milhões de hectares. A produção mundial encontra-se em torno de 16 milhões de toneladas, sendo a Espanha o maior produtor, com 38% do total produzido, seguida da Itália e Grécia, com 20% e 11%, respectivamente. A produção mundial de azeite de oliva atingiu, em 2009, um volume de 2,7 milhões de toneladas. A azeitona e o azeite movimentam, anualmente, cerca de US\$ 2,5 bilhões, sendo que o azeite representa 98% deste valor. Espanha, Itália e Tunísia são os maiores exportadores de azeite de oliva e, juntos, respondem por quase 80% das exportações do produto (IOOC, 2010c).

A Comunidade Européia é dominante no setor de produção de azeite de oliva; até a década de 1970 ocupava o terceiro lugar na produção mundial de azeite, com uma quantia de 425.000 toneladas. Em 1981, após a inclusão da Grécia na Comunidade, passou para cerca da metade do total produzido no mundo. Em 1986, depois da adesão da Espanha e Portugal, a Comunidade se tornou referência no mercado, atingindo 80% da produção mundial. Na década de 1990 a produção de azeite de oliva pela Comunidade Européia foi de mais de 51% (IOOC, 2010c).

## **2.7 Consumo do azeite de oliva**

Embora o azeite de oliva ocupe somente 3% da quantia de óleos vegetais comestíveis disponíveis no mercado mundial, ele é tradicionalmente o óleo mais utilizado na sua área de produção. Desde 1990, entretanto, uma quantia significativa de azeite de oliva tem sido consumida em áreas não produtoras (IOOC, 2010c).

Com um consumo de mais de 254.000 toneladas, os Estados Unidos tornaram-se o terceiro maior mercado consumidor de azeite de oliva, ficando atrás somente de Espanha e Itália. Há também um consumo apreciável na Austrália, Japão, Canadá e Brasil, com consumo anual em torno de 17.000 a 42.000 toneladas (IOOC, 2010c).

O percentual de venda do azeite de oliva virgem extra em relação às vendas de azeite de oliva vem crescendo anualmente, ocupando 37% no Brasil e Austrália, 50% no Japão, 54% nos Estados Unidos e 61% no Canadá (IOOC, 2010c).

Nos três últimos anos, os países membros da Comunidade Européia (CE) que ocupam os primeiros lugares nos setores de produção e exportação de azeite de oliva são Espanha, Itália e Grécia. Os maiores importadores mundiais são Estados Unidos, que possui uma posição de destaque, Itália e Brasil, e os que mais consomem são Espanha, Itália, Estados Unidos e Grécia (IOOC, 2010c).

## **2.8 Produção do azeite de oliva no Brasil**

Tanto a azeitona quanto o azeite de oliva são presença constante na mesa dos brasileiros, o que justifica sua posição no mercado mundial; o Brasil é o 3º maior país importador de azeite de oliva e o 2º maior importador de azeitona de mesa do mundo.

O Brasil não possui, até o momento, produção comercial de azeite de oliva e sua demanda interna é atendida através da importação do produto de países europeus e países do mercosul tradicionalmente produtores e exportadores de azeite de oliva. O mercado de azeite no Brasil tem crescido muito nos últimos anos. Somente entre os anos de 2004 e 2009 houve um aumento de 78%, ou seja, a

importação anual brasileira cresceu de 23 para 42 mil toneladas (IOOC, 2010c; CIVANTOS, 2008; CONAB, 2007).

No Brasil os primeiros plantios de oliveira em escala comercial estão localizados no estado de Minas Gerais. Atualmente os maiores plantios de oliveira no país estão nos estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul. A área total implantada nestes dois estados atinge 600 hectares, sendo que muitas destas áreas estão entrando em produção. Porém, ainda pode-se considerar que o Brasil importa 100% do volume total consumido de azeite de oliva e azeitona de mesa no país.

## **2.9 Classificação do azeite de oliva**

A qualidade do azeite de oliva pode ser influenciada por vários fatores, tais como: variedade da oliveira, condições climáticas e do solo, práticas de cultivo, estágio de maturação das azeitonas, infestação por pragas, tempo de processamento das olivas após a colheita, entre outros. Por exemplo, azeitonas colhidas e logo processadas produzem óleo com aroma e sabor de melhor qualidade, com baixa acidez e coloração mais esverdeada do que o óleo obtido de olivas processadas após um longo período de armazenamento.

O azeite de oliva de melhor qualidade é denominado como virgem extra ou extra virgem, o qual é obtido da primeira prensagem a frio da azeitona. Também por prensagem são obtidos azeites de qualidade inferior, mas comumente comercializados no mercado brasileiro, denominados de azeite virgem. Existem ainda os azeites de “*orujo*” ou “*pomace oil*”, que são obtidos pela extração com solventes dos resíduos da prensagem da azeitona, e por isto necessitam serem refinados para tornar-se apropriado para o consumo humano. Dentre esta variedade de azeites encontrados no mercado, estão os azeites “gourmets” varietais, os quais apresentam qualidade superior por serem produzidos de forma mais elaborada nos lagares, com a preocupação de produção de um azeite que mantenha as características próprias da cultivar processada (APARÍCIO; HARWOOD, 2003).

O Conselho Oleícola Internacional (COI) e a Comissão do Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2001) estabelecem critérios de qualidade e identidade para as diferentes categorias de azeites de oliva. A legislação brasileira vigente para o azeite de oliva é estipulada pela Resolução 482/99 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a qual fornece subsídios para a aplicação de exigências legais, contidas no Código de Defesa do Consumidor brasileiro e outras legislações pertinentes, quanto à qualidade dos produtos, pois podem indicar descrições, classificações impróprias de qualidade e/ou adulterações do azeite de oliva comercializado no Brasil (ANVISA, 1999).

Recentemente foi elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento uma instrução normativa (Portaria nº 419), visando estabelecer o regulamento técnico dos azeites de oliva, que define o padrão oficial de classificação brasileira, com os requisitos de identidade e qualidade, os quais estão baseados nos critérios internacionais de comercialização do produto. Nesta normativa, os aspectos de identidade são definidos de acordo com a matéria-prima utilizada nos processos de obtenção dos produtos e a qualidade está ligada a questões como percentual de acidez e índice de peróxidos, os quais são indicativos determinantes do grau de deterioração do produto (BRASIL, 2010).

Segundo esta instrução normativa do MAPA (BRASIL, 2010), os azeites são classificados nas categorias:

- **Azeite de Oliva Virgem Extra:** azeite de oliva virgem obtido do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura, mantendo-se a natureza do produto sem se levar a deterioração, possuindo acidez livre de no máximo 0,8%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria;
- **Azeite de Oliva Virgem:** azeite de oliva virgem obtido do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura, mantendo-se a natureza do produto sem se levar a deterioração, com acidez livre de no máximo 2,0%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria;

- **Azeite de Oliva Virgem Comum:** azeite de oliva virgem com acidez livre de no máximo 3,3%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria;
- **Azeite de oliva refinado:** azeite de oliva obtido de azeites de oliva virgens mediante técnicas de refino que não provoquem alterações na estrutura glicérica inicial, com acidez livre de no máximo 0,3%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria;
- **Azeite de Oliva:** azeite constituído pela mistura de azeite de oliva refinado e azeites de oliva virgens aptos para o consumo humano, com acidez livre de no máximo 1,0%, expressa em ácido oléico, cujas demais características correspondam às estipuladas para esta categoria.

## 2.10 Critérios de qualidade e pureza do azeite de oliva

Segundo Cert (1995), o controle analítico das gorduras vegetais tem como finalidade determinar as características principais de qualidade, pureza e resíduos estranhos. A qualidade determina as categorias dos azeites e, a pureza garante a ausência de misturas do azeite com outros óleos, como consequência de uma contaminação acidental durante o processo de extração, envase ou transporte, ou de uma prática fraudulenta derivada da diferença de preços entre os óleos. Os resíduos que geralmente se controlam são os restos de tratamentos agrícolas nas plantações (praguicidas e herbicidas), os produtos empregados na obtenção dos óleos (solventes, contaminantes da água), contaminantes ambientais e substâncias naturais de caráter tóxico presentes no vegetal de onde se extrai o óleo.

De acordo com três organizações internacionais (Conselho Oleícola Internacional - COI, União Européia - EU e Codex Alimentarius Commission), os parâmetros de qualidade e pureza para o azeite de oliva incluem: acidez, índice de peróxidos, absorção de luz ultravioleta (K270 e K232), análise sensorial, conteúdo de tocoferóis e fenóis, pigmentos, composição em ácidos graxos, presença de isômeros trans, esteróis, eritrodiol e uvaol, ceras, trilinoleína e triglicerídeos ECN 42, estigmastadienos e esterenos (CERT, 1995).

A fração insaponificável do azeite de oliva não excede mais que 2% do total do óleo e é constituída de compostos minoritários. Incluem nesta fração muitas substâncias com natureza e estrutura química bastante diferente, o que leva a considerá-la como impressão digital para os óleos. Desta forma, a matéria insaponificável é de grande utilidade na autenticação ou caracterização das variedades de azeites de oliva virgem ou na identificação de suas origens geográficas (BORTOLOMEAZZI, et al., 2001).

A determinação dos constituintes minoritários é essencial para a avaliação analítica de qualidade, origem, método de extração, processo de refino e possível adulteração dos óleos vegetais. Os principais grupos de compostos que compõem a fração insaponificável dos óleos vegetais são: alcoóis graxos, ésteres de cera, hidrocarbonetos, tocoferóis, tocotrienóis, esteróis, compostos fenólicos, voláteis, pigmentos, compostos glicerídicos minoritários e ácidos triterpênicos (APARICIO, 2003 a).

Dentre os principais componentes da matéria insaponificável do azeite de oliva encontram-se: tocoferóis, predominando o alfa-tocoferol; os esteróis, sendo o beta-sitosterol e o avenasterol os principais; os compostos fenólicos e flavonóides; pigmentos, como clorofilas e carotenos, e os compostos voláteis responsáveis pelo aroma de azeite de oliva virgem (VAZ-FREIRE; GOUVEIA; FREITAS, 2008; CONSTANTE, 2006).

A aplicabilidade de um método analítico para caracterizar um óleo vegetal está baseada na identificação daqueles componentes que expressam uma ligação com sua origem e atributos de qualidade do óleo. Entretanto, isto é uma tarefa difícil porque a fração insaponificável contém várias classes de compostos com ampla faixa de polaridade, diferentes concentrações e estrutura química variada. Por isso, os métodos requerem geralmente o isolamento e a determinação dos micro constituintes por meio de vários processos de separação, identificação e quantificação (BACCOURI et al., 2008; BAETEN et al., 2003; CERT; MOREDA; PÉREZ-CAMINO, 2000).



### **2.10.1 Acidez**

Um dos fatores que influencia na qualidade do azeite de oliva é a acidez. O conteúdo de acidez depende de vários fatores, como por exemplo, as pragas a que a oliveira esteve exposta, do clima e da manipulação das azeitonas, do processo de produção e armazenamento do azeite, entre outros (FIGUERES et al., 1997; TOUS et al., 1998). Qualquer injúria induzida na azeitona durante a colheita, transporte e estocagem pré-processamento, por exemplo, originam danos nos tecidos que facilitam a ação das lípases, as quais degradam os triacilgliceróis pela hidrólise, liberando ácidos graxos livres e, conseqüentemente, induzindo ao aumento da acidez (UCEDA et al., 2006; TOUS et al., 1997; PEIXOTO et al., 1998).

A quantidade de ácidos graxos livres é um importante índice de qualidade, sendo utilizado como critério determinante na classificação do azeite de oliva dentro das várias categorias comerciais do produto. A determinação do conteúdo de ácidos graxos livres foi introduzida no princípio do século passado como critério de classificação, sendo expresso em porcentagem de ácido oléico (BOSKOU, 1998; AUED-PIMENTEL et al., 2008).

O grau de acidez não tem relação direta com o sabor do azeite de oliva, segundo a regulamentação do Conselho Oleícola Internacional (COI) e outros conselhos, como a Resolução nº 22/77 e o Codex Alimentarius (MORETTO; FETT, 1998; PEIXOTO et al., 1998; WALKYRIA et al., 1976). O azeite de oliva próprio para o consumo humano deve apresentar uma acidez, de acordo com a classificação do mesmo, que pode ser, no máximo, de 3,3% (PEIXOTO et al., 1998).

### **2.10.2 Índice de Peróxidos**

O índice de peróxidos fornece um indício do grau de oxidação inicial do azeite de oliva. Estes peróxidos orgânicos ou produtos provenientes do estágio inicial da oxidação da gordura, devido à ação do oxigênio, atuam sobre o iodeto de potássio, proporcionando a medida do conteúdo de oxigênio reativo, expresso em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de azeite. O limite do índice de

peróxido para que o azeite de oliva seja considerado próprio para o consumo humano é de 20 meq. de  $O_2$  ativo.  $kg^{-1}$  (MORETTO; FETT, 1998).

O índice de peróxidos, da mesma forma que o teor de acidez, também é utilizado como critério de classificação. As papilas humanas são muito sensíveis a alguns compostos oriundos do processo de oxidação, de forma que são necessárias apenas pequenas quantidades destes compostos para alterar o sabor do azeite (ANGEROSA; LANZA; MARSILIO, 1996; SALVADOR et al., 2000; APARÍCIO, 2003a).

### **2.10.3 Absorbância no ultravioleta**

Um dos critérios de qualidade utilizado pelo Conselho Oleícola Internacional (COI) para a determinação da autenticidade do azeite de oliva ou para verificação de sua qualidade, baseia-se nos métodos espectrofotométricos na região do ultravioleta. Elevados coeficientes de extinção na região do ultravioleta se deve a oxidação ou ao desdobramento de produtos formados durante o armazenamento do azeite, ou também podem ser decorrentes de alterações ocorridas durante o processo de refino, indicando a presença de azeite ou de óleo refinado na amostra analisada (BOSKOU, 1998; AGUILERA et al., 2005).

### **2.10.4 Estabilidade a oxidação**

A determinação da estabilidade oxidativa baseada no aumento da condutividade elétrica foi originalmente desenvolvida por Hadorn & Zurcher (1974), utilizando o equipamento denominado Rancimat 617. Neste aparelho, o fluxo de ar passa através do óleo (mantido sob aquecimento em temperatura que varia de 100 a 140°C), depois borbulha em água deionizada, arrastando os ácidos carboxílicos voláteis (principalmente ácido fórmico), gerados do processo de oxidação, que se solubilizam, aumentando a condutividade elétrica da água.

A estabilidade oxidativa de um azeite é definida como o tempo necessário para o óleo começar a mostrar sinais de rancificação, sendo o resultado expresso em horas. Depende das características próprias do azeite (grau de insaturação, teor

de antioxidantes, estado de oxidação, etc.) e varia segundo as condições de temperatura, luz, contato com o oxigênio, qualidade e tamanho dos recipientes, etc, a que esteja submetida a sua conservação ( GÓMEZ-ALONSO et al., 2007).

O Rancimat 617 (Brinkmann Instruments, Inc.) foi o primeiro equipamento a utilizar a medida de condutividade elétrica para determinar o período de indução. Atualmente, o modelo comercializado é o Rancimat 679 (Metrohm-Herisau, Switzerland).

O estudo da variabilidade experimental do período de indução no Rancimat foi realizado por Rauen-Miguel et al. (1989), com óleo de soja e variação na quantidade de amostra (2,5 e 5 g), no fluxo de ar (10, 15 e 20 L/h), e temperatura (110, 120, 130 e 140 °C). Estes autores observaram que a temperatura foi o parâmetro mais importante em relação à variabilidade do período de indução. A menor variabilidade experimental foi obtida a 130 e 140 °C, fluxo de ar de 10 L/h e 5 g de amostra.

Ensaio colaborativo de determinação de estabilidade oxidativa no Rancimat 617 (Metrohm-Herisau, Switzerland) foi realizado em 11 laboratórios da Holanda e da Inglaterra. As condições utilizadas foram de 2,5 gramas de amostra, fluxo de ar de 18 a 20 L/h e temperatura de 100 °C, para os óleos de colza e palma. O coeficiente de variação obtido foi menor que 8% (WOESTENBURG; ZAALBERG, 1986).

### **2.10.5 Composição de ácidos graxos**

O conhecimento da composição de ácidos graxos do azeite de oliva, tanto qualitativa quanto quantitativamente, tem sido um tema de grande interesse devido a sua importância na descrição e detecção de possíveis adulterações deste (POIANA; MINCIONE, 2004).

Os ácidos graxos, salvo em algumas exceções, são os componentes fundamentais e majoritários do azeite. Não se encontram normalmente como ácidos graxos livres, normalmente os ácidos graxos estão formando ésteres, habitualmente com a glicerina, para dar lugar aos glicéridos (mono, di e triacilgliceróis) e fosfatídeos. Também podem formar ésteres com alcoóis graxos de estrutura linear

(ceras) ou terpênica (ésteres de terpenos e ésteres de esteróis) (BECKER, et al., 2005; APARICIO, HARWOOD, 2003; AMELIO; RIZZO; VARAZINI, 1993).

Os ácidos graxos componentes dos triacilgliceróis são os constituintes mais importantes do azeite, sendo responsáveis pelos seus efeitos benéficos para a saúde, sobretudo devido ao valor elevado da razão ácidos monoinsaturados/ácidos poliinsaturados. A composição em ácidos graxos depende da zona de produção, latitude, clima, variedade da azeitona e o seu estágio de maturação, sendo os ácidos oléico, linoléico e palmítico os ácidos graxos mais abundantes no azeite (CUNHA, et al, 2006; BELTRÁN, et al., 2004; PEREIRA, et al., 2002).

#### **2.10.6 Tocoferóis**

Os tocoferóis possuem um papel biológico importante como antioxidantes naturais, contribuindo para a estabilidade do azeite de oliva. Os tocoferóis, juntamente com os tocotrienóis, constituem um grupo de substâncias designadas coletivamente por vitamina E. Os tocotrienóis distinguem-se dos tocoferóis pela presença de três insaturações na cadeia lateral. Na natureza existem 4 tocoferóis e 4 tocotrienóis, em ambos os casos designados por alfa, beta, gama e delta, que diferem entre si pelo número e posição do grupo metil no anel aromático (HUANG; FRANKEL; GERMAN, 1994).

No azeite de oliva o alfa-tocoferol representa aproximadamente 90-95% do teor de tocoferóis totais; os tocoferóis beta e gama encontram-se abaixo dos 10% e o delta em proporções ainda mais baixos. O teor de tocoferóis, contudo, depende muito da cultivar, portanto, diversos trabalhos com azeites apresentam uma ampla gama de concentrações (BOSKOU, 1998). Psomiadou et al. (2000), ao analisarem o teor de alfa tocoferol de 90 amostras de azeite virgem de diferentes cultivares e regiões da Grécia, durante três safras consecutivas, concluíram que mais de 60% das amostras continham valores superiores a  $200 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de alfa-tocoferol, variando os valores extremos entre 98 e  $370 \text{ mg.Kg}^{-1}$ . Estes valores são muito superiores aos referidos por Andrikopoulos et al. (1989), que oscilavam entre 81 e  $142 \text{ mg.Kg}^{-1}$ , com um valor médio de  $113 \text{ mg.Kg}^{-1}$ . Os primeiros autores quantificaram ainda o beta-tocoferol e o gama-tocoferol, variando as concentrações entre 0 e 9 e entre 0 e 40

mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente, sendo o valor médio de delta-tocoferol de 4 mg.Kg<sup>-1</sup>. Psomiadou et al. (2003) encontraram nas 52 amostras de azeite da cultivar Koroneiki, um teor médio de 262 mg.Kg<sup>-1</sup> de alfa-tocoferol.

Em diversos trabalhos de autores italianos referentes as amostras de azeite daquele país, também se faz referência a teores médios de alfa-tocoferol muito variáveis, compreendidos entre 55 e 315 mg.Kg<sup>-1</sup> (CONTE et al., 1993; FEDELI; CORTESI, 1993; ESTI et al., 1996; MANZI et al., 1998). Mais recentemente, Ranalli et al. (2004) em um estudo de quatro cultivares (Leccino, Dritta, Coratina e Carolea) registraram valores de tocoferóis totais (somatório dos valores de alfa, beta e gama-tocoferóis) entre 143 e 285 mg.Kg<sup>-1</sup>. Cerretani et al. (2006) em diferentes cultivares da Sardenha (cvs. Bosana, Carolea, Nocellara del Belice, entre outras) encontraram teores de tocoferóis totais entre 212 e 377 mg.Kg<sup>-1</sup>.

Na Espanha, para azeites da cultivar Arbequina, foram encontrados teores de alfa-tocoferol de 230 mg.Kg<sup>-1</sup> (JIMENEZ; HERMOSO;UCEDA, 1995). Em azeites da cultivar Cornicabra, o teor de alfa-tocoferol oscilou entre 55 e 234 mg.Kg<sup>-1</sup>, com um valor médio de 157 mg.Kg<sup>-1</sup>, apresentando apenas 5% dos azeites analisados um teor inferior a 100 mg.Kg<sup>-1</sup> (SALVADOR et al., 1998, 2003). Em um estudo com duas variedades de procedência espanhola (cvs. Hojiblanca e Picual) verificaram-se concentrações médias de 187 mg.Kg<sup>-1</sup> de alfa-tocoferol, 1,5 mg.Kg<sup>-1</sup> de beta-tocoferol e 11 mg.Kg<sup>-1</sup> de gama-tocoferol para o azeite da cultivar Hojiblanca e 208 mg.Kg<sup>-1</sup> de alfa-tocoferol, 1,5 mg.Kg<sup>-1</sup> de beta-tocoferol e 15 mg.Kg<sup>-1</sup> de gama-tocoferol para o azeite da cultivar Picual (APARÍCIO et al., 1999). Em estudo recente de Pardo et al. (2007) com azeites monovarietais foi encontrado teores médios de tocoferóis totais de 190 mg.Kg<sup>-1</sup> para a cultivar Picual, 206 mg.Kg<sup>-1</sup> para a cultivar Cornicabra, 210 mg.Kg<sup>-1</sup> para a cultivar Manzanilla e 250 mg.Kg<sup>-1</sup> para a cultivar Arbequina.

Além da influencia da cultivar, também a localização geográfica contribui para as oscilações nos teores de tocoferóis, como mostraram os resultados do estudo realizado por Aguilera et al. (2005). Neste estudo verificou-se que duas cultivares de origem italiana (cvs. Frantoio e Leccino) produzidas em duas regiões da Espanha

(Jaén e Córdoba) apresentaram teores médios de tocoferóis muito distintos. Para a cultivar Frantoio obtiveram-se valores de  $148 \text{ mg.Kg}^{-1}$  e  $275 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de alfa-tocoferol,  $2 \text{ mg.Kg}^{-1}$  e  $2,8 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de beta-tocoferol e de  $0,75$  e  $8 \text{ mg.Kg}^{-1}$  de gama-tocoferol, para as regiões de Jaen e Córdoba, respectivamente.

De forma geral quando se comparam azeites virgens de diferentes origens, os azeites de origem grega são os que apresentam a concentração mais elevada de alfa-tocoferol.

Alguns autores sugerem que a determinação do teor de tocoferóis e tocotrienóis seja um parâmetro importante para detectar a adulteração do azeite com outros óleos (DIONISI et al., 1995). Por exemplo, enquanto no azeite são raros os estudos que relatam a presença de tocotrienóis, a exceção de Agramount et al. (1997) que em azeites da região de Tarragona relatam a presença de beta e gama tocotrienóis e de Benitez-Sanchez et al. (2003) que relatam em azeites da cultivar Picholine de Marrocos a presença de alfa, beta e gama-tocotrienol, no óleo de palma, a presença de quatro isômeros de tocoferóis é uma constante, o que pode servir como referencial de autenticidade.

A composição de tocoferóis e tocotrienóis por si só não permite o controle de qualidade do azeite, mas pode, contudo, juntamente com a avaliação dos outros parâmetros ser bastante útil (DHIFI et al., 2004). A interpretação de dados na avaliação da qualidade de azeites pode ser perniciosamente influenciada por diversos fatores. Portanto, é fundamental que se proceda de maneira criteriosa a caracterização qualitativa e quantitativa do maior número de parâmetros. Só assim se poderão traçar os perfis químicos característicos do azeite e recolher dados que possam vir a ser úteis para outros estudos, como por exemplo, a avaliação de adulterações.

### **2.10.7 Pigmentos**

A cor do azeite de oliva virgem vai desde o verde (escuro a claro) ao dourado ou amarelo, e é considerado um parâmetro importante da qualidade, enumerando-se como um dos atributos para avaliar o azeite. Esta coloração se deve ao conteúdo de

pigmentos presentes nos azeites e dependem da variedade e do grau de maturação do fruto. Alguns pigmentos estão envolvidos nos mecanismos de auto-oxidação e na foto-oxidação (MOYANO et al., 2008; GIUFFRIDA et al., 2007).

Os pigmentos podem ser divididos em dois grupos, quais sejam as clorofilas e os carotenóides. Cada estágio de maturação da azeitona possui limites determinados de concentração de pigmentos. Quando os frutos são verdes, as clorofilas e os carotenóides estão agrupados no cloroplasto em uma relação de 5:1. Estudos realizados nas variedades Hojiblanca e Manzanilla tem demonstrado que a proporção dos pigmentos cloroplásticos é idêntica para ambas variedades e se mantêm inalterada até o momento em que entram em ação as antocianinas (TSIMIDOU;BOSKOU, 1998).

O conteúdo de clorofila em azeites de oliva varia entre 1 a 20 ppm (BOSKOU, 1998). A clorofila em plantas verdes consiste em duas formas, clorofilas *a* e *b*. A clorofila *a* difere da clorofila *b* por apresentar na posição 3 do grupo tetrapirrólico o radical - **CH<sub>3</sub>** (metil) no lugar do -**CHO** (aldeído).

Segundo Chiaviaro et al. (2008) a concentração de clorofilas nos azeites depende:

- Do sistema empregado na extração: na extração por centrifugação encontramos um maior teor de clorofilas quando comparado ao sistema de extração por prensagem;
- Da maturação dos frutos: o conteúdo de clorofilas é superior no primeiro período de colheita que ao final do período de colheita, onde será maior o conteúdo de xantofilas.

Nos primeiros estágios de colheita da azeitona, predominam as clorofilas, porém ao final do período de colheita a concentração deste pigmento é diminuída a tão somente algumas poucas partes por milhão, assim como, durante o processamento industrial de extração do azeite de oliva há a degradação parcial das clorofilas e carotenóides, sendo maior a destruição de clorofilas que a de carotenóides.

O conteúdo de carotenóides do azeite varia de 1 a 20 mg.Kg<sup>-1</sup>, estando na dependência de fatores como:

- Sistema de extração empregado (a concentração de carotenóides é maior no sistema que utiliza centrifugação);
- Sistema de moagem das azeitonas (tem-se observado diferenças entre as mesmas variedades quando se utilizam diferentes, moinhos, martelos fixos ou móveis).

### **2.10.8 Polifenóis totais**

A fração fenólica do azeite de oliva consiste em uma mescla heterogênea de componentes presentes no mesocarpo da azeitona e que não estão em nenhum outro óleo vegetal. São considerados como uma parte importante do sistema químico de defesa do fruto. É atribuído a eles diversas funções, dentre as quais a sua atividade antimicrobiana e a proteção frente ao dano oxidativo ao limitar os efeitos da luz UV (KIRITSAKIS; CHRISTIE, 2003; MORALES; TSIMIDOU, 2003; GÓMEZ-ALONSO; SALVADOR; FREGAPANE, 2002).

Estes compostos afetam a estabilidade frente a oxidação, sabor e aroma do azeite obtido do fruto, sendo identificados como os principais responsáveis pelas propriedades antioxidantes do azeite de oliva virgem extra. Por outra parte, os polifenóis também contribuem nas propriedades sensoriais dos azeites de oliva virgens, participando assim dos atributos positivos que permitem a classificação dos azeites através de um painel de avaliadores. Estão relacionados com a adstringência e o amargor, sabor característico dos azeites obtidos de azeitonas verdes ou em “envero” (MORALES; PRZYBYLSKI, 2003).

A concentração de fenóis totais varia entre 50 e 200 mg/Kg de azeite, porém se pode encontrar azeites com conteúdos de até 1000 mg/Kg. Os níveis de polifenóis são muito variáveis, uma vez que dependem de um grande número de fatores, tais como:

- Grau de maturação do fruto;



- Sistema de extração empregado: os azeites obtidos através de um sistema de centrifugação contínua, contêm menos polifenóis que os azeites obtidos por outros sistemas;
- Variáveis que intervêm no processo de extração no lagar: diferenciais na maquinaria de moagem, tempos de contato do azeite com a água no processo de extração, volume total de água, etc.;
- Processo de filtração;
- Variáveis climatológicas e agronômicas do cultivo ou safra;
- Variedade da azeitona.

Durante a maturação do fruto ou durante o processamento das azeitonas, tem lugar uma série de reações químicas e enzimáticas, que dão lugar ao surgimento de fenóis livres. Estes, apesar de apresentarem caráter polar, são retidos no azeite em quantidades pequenas. Diversas enzimas endógenas ativam-se durante o tratamento, tais como a polifenoloxidase (PPO), peroxidase (POD) e a lipooxigenase (LPO) (CONSTANTE, 2006). As enzimas polifenoloxidase e peroxidase catalisam a oxidação de fenóis durante o processo de bateção (VÁZQUEZ RONCERO; JANER del VALLE, 1973; VÁZQUEZ RONCERO; MAESTRO DURÁN; GRACIANI CONSTANTE, 1971).

A quantidade de água utilizada durante o processo de extração, afeta a sua concentração. Quando a quantidade de água é grande, são separados mais polifenóis do azeite. Isto ocorre porque a água produz uma solubilização dos tecidos, ou mais particularmente pela separação das substâncias coloidais (proteínas e polissacarídeos), que ligam estes compostos.

Os azeites produzidos em sistemas de duas fases, não empregam água quente, não possuem água de descarte, assim, apresentam concentrações mais altas em compostos fenólicos, tornando-os mais estáveis à autooxidação.

### **2.11 Legislação do azeite de oliva**

A Resolução nº 482 da ANVISA, de 23 de setembro de 1999, republicada em 20 de junho de 2000, que regulamenta o setor de óleos vegetais comestíveis comercializados no país estabelece limites máximos e mínimos para alguns

parâmetros físico-químicos e compostos presentes nos óleos, responsáveis pela sua identidade, qualidade e pureza. Estes limites devem ser seguidos e utilizados como parâmetros durante as avaliações químicas e físico-químicas dos óleos realizadas pelos laboratórios de vigilância, valendo também para a classificação dos diferentes tipos de azeite de oliva (ANVISA, 1999).

Os principais parâmetros de qualidade considerados na nova legislação brasileira (BRASIL, 2010) para azeite de oliva, para classificação do azeite nas diferentes categorias são: acidez livre; índice de peróxidos e extinção específica no ultravioleta (Tabela 2, em anexo). Quanto aos limites de tolerância para identidade de azeites de oliva, o principal parâmetro de identidade considerado na legislação a entrar em vigor ainda no ano de 2010 é a composição em ácidos graxos (Anexo C) que está baseado na legislação do Conselho Oleícola Internacional (IOOC, 2010c).

## **2.12 Adulteração do azeite de oliva**

Antoniassi et al. (1998) e Antoniosi Filho, Carrilho e Lanças (1993) relatam que em azeite de oliva podem ocorrer dois tipos de adulteração: adição de outros óleos vegetais e mistura de azeite de oliva virgem e óleos de oliva refinados de qualidades distintas.

O elevado valor de mercado do azeite de oliva favorece certas práticas fraudulentas, que visam à obtenção de maiores lucros por parte dos produtores ou enlatadores deste tipo de óleo (DUCAUZE, 2006; CERCACI; RODRIGUEZ-ESTRADA; LERCKER, 2003; AUED-PIMENTEL, 1991).

O azeite de oliva tem sido alvo de diversos tipos de adulteração, que incluem a adição de outros óleos vegetais de baixo valor comercial, óleos vegetais parcialmente hidrogenados, óleos vegetais submetidos à remoção de esteróis (desterolizados), óleos reesterificados, ou até mesmo azeite de oliva refinado, obtido de frutos avariados ou da extração com solventes da torta residual de prensagem das olivas (PEIXOTO; SANTANA; ABRANTES, 1998).

A presença de óleos de qualidade inferior no azeite de oliva extra virgem geralmente reflete em parâmetros físicos e químicos, tais como K 232-270, o índice

de peróxido e a razão de *trans*-2-hexenal/ hexanal, bem como nas avaliações sensoriais. A autenticação e a detecção da adulteração do azeite de oliva normalmente são baseadas na técnica de cromatografia, incluindo a cromatografia gasosa de alta resolução e a cromatografia líquida de alta eficiência (FRAGAKI *et al*, 2005; ANDRIKOPOULOS; GIANNAKIS; TZAMTZIS, 2001).

A complexidade que envolve a composição dos diferentes tipos de azeite de oliva, bem como as consequências dos processos de refino, hidrogenação e reesterificação torna a detecção da adulteração, muitas vezes, um problema de difícil solução. Por isso, vários índices são recomendados para a verificação da pureza do azeite de oliva (PEIXOTO; SANTANA; ABRANTES, 1998).

Em 1989, Lanzón, Cert e Albi desenvolveram um método analítico sensível para detectar pequenas quantidades de azeite de oliva refinado em azeite de oliva virgem. O método baseava-se na detecção de estigmasta-3,5- dieno, substância que se forma a partir da desidratação do beta-sitosterol como consequência do tratamento térmico favorecido pelas terras clarificantes durante o refino.

Estigmasta-3,5-dieno e outros compostos originários da desidratação dos esteróis são produzidos durante o processo de refino, principalmente nas etapas de clarificação e desodorização. Logo, eles não devem estar presentes em azeite de oliva virgem. A presença destes compostos em azeites declarados virgem representa fraude por mistura com óleos refinados (AMÉLIO; RIZZO; VARAZINI, 1998; DOBARGANES; CERT; DIEFFENBACHER, 1999; AMELOTTI, 1985).

A Comissão Européia regulamenta que o limite máximo de estigmastadienos em amostras de azeite de oliva virgem seja de 0,15 mg. Kg<sup>-1</sup> e amostras de azeite de oliva submetidas ao refino está na faixa de 2 – 45 mg. Kg<sup>-1</sup>.

Segundo Mariani e Venturini (1997), a determinação da fração esterólica é utilizada para distinguir os diferentes óleos que podem estar presentes em misturas. Entretanto, esta mesma fração pode ser destruída por algumas tecnologias, dificultando o reconhecimento dos diferentes óleos. Um bom exemplo é o óleo de girassol com alto conteúdo em ácido oléico adicionado ao azeite de oliva. Ambos possuem uma composição em ácidos graxos muito semelhante, enquanto a

composição esteróica é consideravelmente diferente. Porém, com a desesterolização do óleo de girassol, estas diferenças desaparecem, tornando este óleo praticamente não identificável no azeite de oliva. Esta fraude, vista da disponibilidade de óleo de girassol “alto oléico” nos países da Comunidade Europeia e na Argentina, é fácil de ser executada e, portanto, deve ser monitorada pelos países importadores (CONTINÁS et al., 2008).

As fraudes geralmente são feitas de modo que se tornem não detectáveis pelos métodos de controle convencionais, como por exemplo, a determinação da composição em ácidos graxos. Como a faixa de ácido oléico é grande, a concentração do óleo adicionado é ajustada de tal forma que a concentração dos ácidos graxos no óleo resultante esteja dentro dos limites estabelecidos para azeite de oliva. A determinação de óleo de avelã em azeite de oliva é uma questão de interesse, por ele ser um adulterante difícil de ser detectado nas concentrações de interesse (5 – 20%). Isto se deve principalmente ao fato de que o conteúdo de alguns compostos em óleos adulterados pode estar em alguns casos dentro dos limites estabelecidos para azeite de oliva genuíno (BLANCH, et al., 2000). A composição em ácidos graxos da avelã é muito semelhante à do azeite de oliva, sendo que o ácido oléico e ácido linoléico são os principais ácidos graxos em ambos os óleos. Além disso, fica difícil fazer a distinção com base na composição em ácidos graxos devido a certos fatores como clima e origem geográfica (PARCERISA, et al., 2000; APARICIO; MORALES; ALONSO, 1997).

Segundo Gamazo-Vázquez, García-Falcón e Simal-Gándara (2003), a contaminação acidental do azeite de oliva pode ocorrer durante o envase, etapa na qual a linha de processo de engarrafamento pode trazer resíduos de outros óleos vegetais engarrafados anteriormente. Os autores descrevem um procedimento químico e instrumental baseado na determinação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa com detecção em espectrometria de massa, para detecção e quantificação de outros óleos vegetais presentes no azeite de oliva, a fim de diagnosticar se a contaminação ocorreu na linha de envase.

A detecção, especialmente a determinação de baixos níveis de adulteração (abaixo de 10%) é um problema analítico. A maioria dos métodos para detecção de

misturas em óleos são baseados na medida dos produtos da desesterolização em azeite de oliva (TARANDJIISKA; MAREKOV, 1998).

O azeite de oliva é a princípio adulterado com outros óleos vegetais mais baratos. Os óleos mais utilizados para este propósito são os de milho, amendoim, algodão, girassol, soja e de semente de papoula (KIRITSAKIS;CHRISTIE, 2003; GORDON; COVELL; KIRSCH, 2001).

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Material**

Foram adquiridos no mercado 49 distintos azeites de oliva virgem extra varietais e blends, procedentes de diferentes origens (Espanha, Itália, Grécia, Chile, Argentina e Uruguai). Desta amostragem foram selecionados dois azeites de cada um destes seis países de origem, sendo selecionado de cada país, um azeite blend e um azeite varietal (gourmet).

No total foram analisadas doze amostras de azeites. Os azeites varietais foram escolhidos levando em consideração as variedades tradicionalmente produzidas nestes diferentes locais, ou seja, da Espanha, a variedade Manzanilla; da Itália, a variedade Frantoio; da Grécia, variedade Koroneiki; do Chile, variedade Frantoio; da Argentina, variedade Arauco; e do Uruguai, a variedade Picual. Todos os azeites escolhidos são tradicionalmente comercializados no estado do Rio Grande do Sul e foram produzidos e embalados nos países de origem, os quais foram adquiridos em diferentes pontos de venda (supermercados) em distintas cidades do Rio Grande do Sul. Todas as amostras estavam acondicionadas em embalagens de 500 mL de vidro âmbar, expostas no ponto de venda sob iluminação durante o expediente e temperatura ambiente, sendo todos os azeites produzidos na safra 2009. Foram selecionadas aleatoriamente duas embalagens de 500 mL de

cada origem, marca e lote de embalagem, perfazendo um total de 24 embalagens de 500 mL. As amostras foram armazenadas no laboratório, sob temperatura de congelamento de  $-18^{\circ}\text{C}$ , sendo após descongeladas em geladeira, homogeneizadas e então retirado uma alíquota de cada umas das embalagens (500 mL) de azeites das diferentes origens. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

### 3.2 Padrões para cromatografia

Para as análises dos tocoferóis os padrões utilizados foram  $\delta$ -Tocoferol e  $\gamma$ -Tocoferol (Sigma, na pureza de 90% e maior ou igual a 96%, respectivamente) e  $\alpha$ -Tocoferol (Merck de pureza 99%).

Para os ácidos graxos utilizou-se uma mistura contendo os ácidos capríco, caprílico, cáprico, caproléico, láurico, dodecenóico, mirístico, miristoléico, palmítico, palmitoleico, margárico, heptadecenóico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico, araquídico, gadoléico, eicosadienóico, eicosatrienóico, eicosatetranóico, behênico, erúcico, docosadienóico, docosatrienóico, tetraenóico, lignocérico e nervônico (Sigma).

### 3.3 Sistema cromatográfico

Para a determinação dos tocoferóis foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC (SHIMADZU) constituído por módulo de mistura dos solventes LC-10AT<sub>VP</sub>, degaseificador FCV-10AL<sub>VP</sub>, bomba reodine DGU-14<sub>A</sub>, sistema de controle SCL-10A<sub>VP</sub>, forno da coluna CTO-10AS<sub>VP</sub>, e amostrador automático SIL-10AF. Utilizou-se uma coluna de separação analítica de fase reversa, Nova-Pak C18 (3,9 cm x 150mm x 4 $\mu\text{m}$ ). Utilizou-se o detector de fluorescência para a identificação dos tocoferóis. Os dados foram processados com o uso do software Class-VP.

Os ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo gasoso-CG (Shimadzu GC-14B), provido com detector FID, com coluna capilar CP Sil 88 (J&W Scientific) de dimensão 50m x 0,250 mm, revestida por filme 0,25  $\mu\text{m}$ , com fase líquida DB-225.

Os dados foram processados com auxílio do software Glass-GC 10. As amostras foram injetadas manualmente com seringa (Perkin Elmer) de capacidade de 10  $\mu$ l.

### **3.4 Métodos**

#### **3.4.1 Teor de acidez**

O azeite foi pesado e dissolvido em solução de éter etílico:álcool etílico (2:1, v/v) na proporção de azeite:solvente de 1:10 (p/v). O volume de solvente utilizado foi de 25 mL, após adicionou-se fenolftaleína e titulou-se com KOH 0,1 N, segundo metodologia da AOCS (1992). Os resultados foram expressos em % de ácido oléico.

#### **3.4.2 Índice de Peróxidos**

Cinco gramas de amostra foram dissolvidas em 30 mL de solução ácido acético:clorofórmio (3:2, v/v); após agitar, foi adicionado 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio e colocado no escuro por 1 minuto agitando ocasionalmente a solução. Em seguida adicionou-se 30 mL de água destilada e 0,5 mL de solução de amido 1%, e logo após titulou-se com tiosulfato de sódio 0,1 N até a perda da coloração azulada, segundo metodologia da AOCS (1992). Os resultados foram expressos em meq. O<sub>2</sub>. Kg<sup>-1</sup> amostra.

#### **3.4.3 Determinação da absorção específica a 232 e 270 nm**

Pesou-se 25 mg de azeite de oliva e dissolveu-se em 25 mL de n-Hexano (hplc grade), logo após levou-se ao espectrofotômetro, onde utilizou-se a cubeta de cristal. A absorção da solução foi determinada a 232 e 270 nm, usando como referência o solvente puro. A extinção específica  $K^{1\%}_{1\text{cm}}$ , refere-se à absorção de uma solução a 1% do óleo no solvente, numa espessura de 1 cm e é convencionalmente indicada por K., de acordo com método COI/T.20/Doc. N°19 (IOOC, 2010b).



#### **3.4.4 Estabilidade Oxidativa**

As análises foram realizadas em um equipamento Rancimat, modelo 743, da Metrohm, seguindo a metodologia descrita na norma EN 14112. Para tanto, aproximadamente 3,0 g de azeite de oliva foram inseridos em frascos apropriados os quais foram aquecidos no equipamento Rancimat, na temperatura previamente programada (110°C) e fluxo de ar constante de 10 L/h.

Ao final do ensaio, o período de indução foi calculado automaticamente pelo software acoplado ao equipamento. O ensaio de estabilidade oxidativa foi realizado, em duplicata. Os resultados foram expressos em horas.

#### **3.4.5 Conteúdo de Tocoferóis**

Pesou-se 75 mg de azeite de oliva em balão volumétrico de 5mL e completou-se o volume com isopropanol. O extrato foi transferido para tubos “eppendorf”, centrifugou-se nas condições de 9.000 rpm por 6 minutos, utilizando-se o sobrenadante para a avaliação dos tocoferóis por cromatografia líquida. As condições cromatográficas para a análise dos tocoferóis foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Pestana et al. (2008).

Utilizou-se o detector fluorescência com excitação de 290 nm e emissão a 330 nm, a fase móvel inicial foi constituída por acetonitrila:metanol:isopropanol na proporção 50:40:10 (v/v/v) por 10 minutos; alterando-se linearmente para acetonitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v) até atingir 12 minutos; e retornando linearmente para a fase móvel inicial até 15 minutos de análise. Utilizou-se fluxo constante de 1 mL min<sup>-1</sup>. Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curva de calibração com os padrões respectivos. Os resultados foram expressos em mg.Kg<sup>-1</sup>.

### **3.4.6 Composição de ácidos graxos**

A composição de ácidos graxos dos óleos foi determinada por cromatografia em fase gasosa. A conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos foi realizada conforme método descrito por Hartman & Lago (1973). Condições cromatográficas: temperatura da coluna 200° C, split na razão de 1:50, temperatura do injetor 250° C, temperatura do detector 300° C, fluxo da fase móvel 1 mL/min. Os ácidos graxos foram identificados através da comparação dos tempos de retenção dos padrões puros de ésteres metílicos de ácidos graxos. A quantificação foi feita através da porcentagem da área do pico em relação à área total. Os resultados foram expressos em área percentual relativa.

### **3.4.7 Determinação de carotenóides totais**

Pesou-se 2,5 gramas de azeite de oliva e dissolveu-se em 10 mL de solução isoocatano:etanol (3:1, v/v). Logo após levou-se a diluição ao espectrofotômetro, onde utilizou-se a cubeta de cristal. A absorção da solução foi determinada a 450 nm, usando como referência o solvente puro, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). Os resultados foram expressos em mg.Kg<sup>-1</sup>.

### **3.4.8 Determinação de clorofilas totais**

Pesou-se 7,5 gramas de azeite de oliva e dissolveu-se em 25 mL de ciclohexano. Logo após levou-se ao espectrofotômetro, onde utilizou-se a cubeta de cristal. A absorção da solução foi determinada a 670 nm, usando como referência o solvente puro, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). Os resultados foram expressos em mg.Kg<sup>-1</sup>.

### **3.4.9 Determinação de fenóis totais**

Para obtenção do extrato, pesou-se uma amostra de 10 gramas de azeite de oliva, sendo a fração fenólica isolada através da extração da solução do azeite em

hexano com a solução de H<sub>2</sub>O:Metanol (60:40, v/v) por três vezes. O teor de fenóis totais foi determinado através da adição do reagente Folin-Ciocalteu, onde em uma amostra de 1,0 mL de extrato foi adicionado 10 mL de H<sub>2</sub>O e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu, deixando reagir por 3 minutos, após adicionou-se 1,5 mL de Carbonato de Sódio 20%. Após 2 horas foi realizada a leitura de absorvância da amostra em espectrofotômetro, utilizando o comprimento de onda de 765 nm, sendo o resultado expresso em mg de ácido caféico por kg de óleo, conforme metodologia descrita por Vázquez Roncero; Janer del Valle; Janer del Valle (1973).

#### **3.4.10 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada através da análise de variância (ANOVA), e comparação de médias pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de probabilidade, através do programa Statística 7.0 (STATSOFT, 1998).

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Para as análises das variáveis estudadas neste trabalho, foram tomados por base os limites estabelecidos para a categoria de azeite de oliva virgem extra, elaborada pelo Conselho Oleícola Internacional, descrito na “Norma comercial aplicável para azeites de oliva e para azeites de bagaço de oliva” (COI/T.15/NC nº 3/Rev. 4, 2009) (IOOC, 2010b), (Anexo B), a qual serve de base para a legislação brasileira que está sendo elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

### **4.1 Teor de acidez**

Os ácidos graxos participam majoritariamente na composição dos mono, di e triglicerídeos, que são os principais componentes de óleos e gorduras. Uma grande quantidade desses compostos nas formas livre indica que o produto passou por processos de hidrólise ou fermentação, alterando a concentração de íons hidrogênio, ou seja, o alimento está em processo de deterioração, tornando o produto mais ácido.

Portanto, o elevado teor de acidez indica que o óleo ou gordura passou por quebras em sua cadeia lipídica, liberando seus constituintes principais (ácidos graxos), por isso, o cálculo da acidez é de extrema importância na avaliação do estado de deterioração de alimentos que contenham lipídios em sua composição, avaliando o estado de rancidez hidrolítica no qual o óleo/gordura se encontra.

Pelos teores de acidez das amostras (Tabela 1) constatou-se que os azeites virgem extra “gourmet” da variedade Arauco de origem argentina (Marca C) e o azeite virgem extra “blend” de origem italiana (Marca F), apresentaram valores superiores ao limite máximo tolerado para esta categoria que é de 0,8% em ácido oléico (Anexo B), determinando um percentual de 16,7% do total de amostras analisadas como fora de padrão para a categoria virgem extra. As demais amostras analisadas apresentaram teores de acidez inferiores ao limite tolerado para a categoria virgem extra, ressaltando que o azeite virgem extra “gourmet” da variedade Frantoio, de origem italiana (Marca E), o azeite virgem extra “blend” de origem chilena (Marca J), o azeite virgem extra “gourmet” da variedade Picual, de origem uruguaia (Marca K) e o azeite virgem extra “blend” de origem uruguaia (Marca L) apresentaram valores bem inferiores às demais amostras, o que pode denotar azeite obtido de azeitonas de melhor qualidade ou sob melhores condições de processamento.

**Tabela 1.** Valores de acidez (% ácido oléico) encontrados nas amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	Acidez (% ác. Oléico)
Marca A	0,74 <sub>c</sub>
Marca B	0,42 <sub>fg</sub>
Marca C	0,87 <sub>b</sub>
Marca D	0,50 <sub>ef</sub>
Marca E	0,29 <sub>h</sub>
Marca F	1,01 <sub>a</sub>
Marca G	0,55 <sub>de</sub>
Marca H	0,65 <sub>cd</sub>
Marca I	0,65 <sub>cd</sub>
Marca J	0,33 <sub>gh</sub>
Marca K	0,26 <sub>h</sub>
Marca L	0,32 <sub>gh</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha "Blend"; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina "Blend"; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália "Blend"; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia "Blend"; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile "Blend"; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai "Blend".

Os valores obtidos nas determinações de acidez apresentaram-se similares aos dados reportados nas análises realizadas pelo Instituto Adolfo Lutz da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Laboratório Oficial da Agência Nacional de Saúde, no estado de São Paulo, por solicitação do Inmetro, que analisou 20 marcas diferentes de azeites de oliva comercializadas no mercado paulista, onde os teores de acidez oscilaram entre 0,21 e 1,35% de ácido oléico. Porém do total de amostras analisadas, 9 amostras apresentaram teor de acidez

acima de 0,8%, perfazendo um percentual de 45,0% das amostras como fora de padrão para a categoria virgem extra (INMETRO, 2000). Da mesma forma apresentaram-se similares aos dados encontrados por DUGO et al. (2004) que analisando 82 amostras de azeites de oliva de distintas variedades encontraram teores de acidez que variaram entre 0,14 e 1,50% de ácido oléico.

#### **4.2 Índice de peróxidos**

O índice de peróxidos expressa os miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de azeite, fornecendo uma indicação sobre a formação de hidroperóxidos, sendo uma das medidas mais diretas da fase inicial de oxidação dos lipídios. Este índice, da mesma forma que o teor de acidez, também é utilizado como critério de classificação dos azeites. As papilas humanas são muito sensíveis a alguns compostos oriundos do processo de oxidação de forma que são necessárias apenas pequenas quantidades destes compostos para alterar o sabor do azeite (ANGEROSA; LANZA; MARSILIO, 1996; SALVADOR et al., 2000; APARÍCIO; HARWOOD, 2003).

Comparando-se os índices de peróxidos das amostras analisadas (Tabela 2) ao limite de tolerância para a categoria azeite virgem extra (Anexo B), que é de 20 meq O<sub>2</sub>/Kg, pode-se verificar que quatro amostras de azeites, mais especificamente os azeites virgem extra “gourmet” da variedade Arauco, de origem argentina (Marca C), azeite virgem “blend” de origem argentina (Marca D), azeite virgem “blend” de origem italiana (Marca F) e o azeite virgem “blend” de origem grega (Marca H) apresentaram índices de peróxidos superiores ao limite de tolerância para a categoria “azeite de oliva virgem extra”, demonstrando que estes azeites se encontram em estágio avançado de oxidação. As demais amostras analisadas apresentaram índice de peróxidos inferiores ao limite tolerado para a categoria “virgem extra”.

**Tabela 2.** Valores de peróxidos (meq. O<sub>2</sub>/Kg) presentes nas amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	Índice de Peróxidos (meq. O <sub>2</sub> /Kg)
Marca A	14,44 <sub>de</sub>
Marca B	12,68 <sub>ef</sub>
Marca C	20,19 <sub>ab</sub>
Marca D	20,41 <sub>ab</sub>
Marca E	18,92 <sub>bc</sub>
Marca F	21,49 <sub>ab</sub>
Marca G	13,59 <sub>e</sub>
Marca H	22,15 <sub>a</sub>
Marca I	15,05 <sub>de</sub>
Marca J	16,92 <sub>cd</sub>
Marca K	9,69 <sub>fg</sub>
Marca L	9,35 <sub>g</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha "Blend"; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina "Blend"; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália "Blend"; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia "Blend"; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile "Blend"; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai "Blend".

Os azeites de origem uruguaia (Marcas K e L) foram os que apresentaram os menores valores de índice de peróxidos e de acidez. No entanto, não foi verificada uma correlação direta entre as duas determinações, como pode ser visualizado na amostra do azeite de origem italiana (Marca E), que apresentou um valor baixo de acidez (0,29% de ác. oléico) e um valor alto de índice de peróxidos (18,92 meq O<sub>2</sub>/Kg). Estas diferenças se justificam, uma vez que o índice de acidez consiste no percentual de ácidos graxos livres encontrados no azeite e o índice de peróxidos fornece uma indicação sobre a formação de hidroperóxidos, sendo uma das



medidas mais diretas da fase inicial de oxidação, portanto não há uma correlação direta entre estas duas determinações, porque as reações químicas que geram estes produtos são diferentes.

#### **4.3 Determinação da absorção específica a 232 e 270 nm**

A determinação de coeficientes de absorção específicos (extinção específica) na região ultravioleta auxilia na determinação da qualidade do azeite de oliva. A análise espectrofotométrica no ultravioleta pode proporcionar indicações sobre a qualidade do azeite, seu estado de conservação e as modificações induzidas pelos processos tecnológicos (KIRITSAKIS; CHRISTIE, 2003; BIANCHI et al., 2003).

As absorções determinadas nos comprimentos de onda de 232 e 270 nm, deve-se a presença de dienos e trienos conjugados, que são produtos secundários do processo de oxidação. Os valores destas absorções são expressos na extinção específica  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (extinção de uma solução de óleo a 1% em solvente, em uma espessura de 1 cm) que se expressa convencionalmente como K, também denominado coeficiente de extinção.

Pelos dados de absorções relativas a 232 e 270 nm encontrados nas amostras de azeite de oliva (Tabela 3), pode-se observar que duas amostras de azeite, mais especificamente os azeites virgem extra “gourmet” da variedade Arauco e o azeite virgem extra “blend”, ambos de origem argentina (Marcas C e D, respectivamente), apresentaram valores muito superiores ao limite de tolerância para a categoria virgem extra e virgem (Anexo B), onde com relação a absorção a 232 nm é de no máximo 2,50, para a categoria “azeites de oliva virgem extra” e de no máximo 2,60, para a categoria “azeite de oliva virgem”. A mesma tendência foi observada na absorção a 270 nm, onde o limite máximo para azeites de oliva virgem extra é de 0,22 e de 0,25 para azeites de oliva virgem, o que desqualifica as duas marcas, uma vez que com base nestes dados estes azeites não podem ser classificados como “azeite de oliva virgem extra” ou até mesmo como “azeite de oliva virgem”, ou seja não poderiam estar classificados como azeite virgem.

As demais amostras analisadas apresentaram valores de absorção a 232 e 270 nm, condizentes com os limites máximos de tolerância para a categoria “virgem extra”.

Vale salientar que elevados coeficientes de extinção na região do ultravioleta se deve a oxidação ou ao desdobramento de produtos formados durante o armazenamento do azeite ou, também, podem ser decorrentes de alterações ocorridas durante o processo de refino, indicando a presença de azeite ou de óleo refinado na amostra analisada, o que torna a interpretação de resultados bastante difícil (BOSKOU, 1998; AGUILERA et al., 2005).

**Tabela 3.** Absorções relativas a 232 e 270 nm presentes nas amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	K 232nm**	K270nm***
Marca A	2,47 <sub>b</sub>	0,20 <sub>bcd</sub>
Marca B	2,50 <sub>b</sub>	0,17 <sub>bcd</sub>
Marca C	3,54 <sub>a</sub>	0,40 <sub>a</sub>
Marca D	3,58 <sub>a</sub>	0,34 <sub>a</sub>
Marca E	2,48 <sub>b</sub>	0,12 <sub>d</sub>
Marca F	2,37 <sub>bc</sub>	0,13 <sub>cd</sub>
Marca G	1,93 <sub>bcd</sub>	0,21 <sub>bc</sub>
Marca H	2,48 <sub>b</sub>	0,22 <sub>b</sub>
Marca I	2,05 <sub>bcd</sub>	0,21 <sub>bc</sub>
Marca J	2,12 <sub>bc</sub>	0,14 <sub>cd</sub>
Marca K	1,42 <sub>d</sub>	0,20 <sub>bc</sub>
Marca L	1,76 <sub>cd</sub>	0,17 <sub>bcd</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha “Blend”; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina “Blend”; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália “Blend”; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia “Blend”; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile “Blend”; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai “Blend”.

Da mesma forma que na relação entre índice de peróxidos e teor de acidez, não houve relação direta entre o teor de acidez e a absorção específica a 232 e 270 nm, como esperado. Porém, observou-se uma relação entre os valores encontrados de índice de peróxidos e os valores de absorbância, como pode ser verificado nas amostras de azeite de origem argentina (Marcas C e D) que apresentaram os valores mais altos de absorbância a 232 (3,54 e 3,58, respectivamente), bem como os valores de índice de peróxidos destas mesmas amostras (Marcas C e D) estão

entre os mais altos valores encontrados (20,19 meq O<sub>2</sub>. Kg<sup>-1</sup> e 20,41 meq O<sub>2</sub>. Kg<sup>-1</sup>), respectivamente.

#### 4.4 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa é um parâmetro importante para a avaliação da qualidade dos óleos e gorduras, uma vez que fornece uma boa estimativa da susceptibilidade dos mesmos para a degeneração auto-oxidativa, que nos azeites de oliva virgens conduzem fundamentalmente à sua rancificação (GUTIÉRREZ ROSALES, 1989).

A estabilidade oxidativa de um azeite é definida como o tempo necessário para o óleo começar a mostrar sinais de rancificação. Depende das características próprias do azeite (insaturação, teor de antioxidantes, estado de oxidação, etc.) e varia segundo as condições de temperatura, luz, contato com o oxigênio, qualidade e tamanho dos recipientes, etc, a que esteja submetida a sua conservação ( GÓMEZ-ALONSO et al., 2007).

Com base nos dados da Tabela 4, pode-se observar um comportamento muito variável de todas as marcas, porém observa-se uma maior estabilidade do azeite virgem extra “gourmet” da variedade Picual, de origem uruguaia (Marca K), que apresentou uma estabilidade estatisticamente superior as demais. Por outro lado, o azeite virgem extra “blend”, de origem argentina (marca D), apresentou o menor período de indução.

**Tabela 4.** Valores da estabilidade oxidativa (horas) das amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	Estabilidade (horas)
Marca A	23,88 <sub>d</sub>
Marca B	23,47 <sub>e</sub>
Marca C	13,75 <sub>i</sub>
Marca D	9,04 <sub>j</sub>
Marca E	20,86 <sub>f</sub>
Marca F	13,60 <sub>i</sub>
Marca G	24,80 <sub>c</sub>
Marca H	15,41 <sub>h</sub>
Marca I	20,59 <sub>f</sub>
Marca J	26,03 <sub>b</sub>
Marca K	42,44 <sub>a</sub>
Marca L	17,16 <sub>g</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha “Blend”; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina “Blend”; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália “Blend”; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia “Blend”; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile “Blend”; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai “Blend”.

Nota-se uma relação direta entre a estabilidade verificada no Rancimat, o índice de peróxidos das amostras e os valores de absorção específica. Notadamente quatro marcas de azeites, o azeite virgem extra “gourmet” da variedade Arauco de origem argentina (Marca C), o azeite virgem “blend” de origem argentina (Marca D), o azeite virgem “blend” de origem italiana (Marca F) e o azeite virgem “blend” de origem grega (Marca H), apresentaram as menores estabilidades à oxidação (Tabela 4) e também os valores mais elevados de índice de peróxidos (Tabela 2), bem

como a ocorrência de altos valores de absorvância específica a 232 nm (Tabela 3), denotando a presença de produtos secundários de oxidação (dienos conjugados). Vale salientar que os azeites virgem extra “gourmet” da variedade Arauco de origem argentina (Marca C), o azeite virgem “blend” de origem argentina (Marca D), apresentaram valores de absorção específica a 232 nm (3,54 e 3,58, respectivamente) valores estes que excederam os limites tolerados para as categoria virgem extra e virgem (Anexo B). O alto valor do índice de peróxido demonstra maior susceptibilidade à oxidação, o que foi comprovado pela resistência à oxidação no teste do Rancimat.

Não foi encontrada relação entre os valores de estabilidade oxidativa e o teor de acidez dos distintos azeites analisados, a exemplo do azeite “blend” de origem argentina (Marca D), que apresentou a menor estabilidade oxidativa e apresentou um teor de acidez de 0,50 % de ácido oléico, embora o azeite varietal de origem uruguaia (Marca K) tenha apresentado o menor teor de acidez (0,26% de ácido oléico) e a maior estabilidade oxidativa (42,44 horas) dentre todos azeites analisados.

Os valores obtidos nas determinações de estabilidade a oxidação apresentaram similaridade aos dados reportados nas análises realizadas por Krichene et al. (2010) e Gómez-Alonso et al. (2007), que trabalharam com diferentes amostras comerciais de azeite de oliva virgem de diferentes variedades e origens, comercializadas no mercado espanhol, encontrando valores de estabilidade muito variáveis, entre 21,3 a 43,5 horas.

#### **4.5 Composição de ácidos graxos**

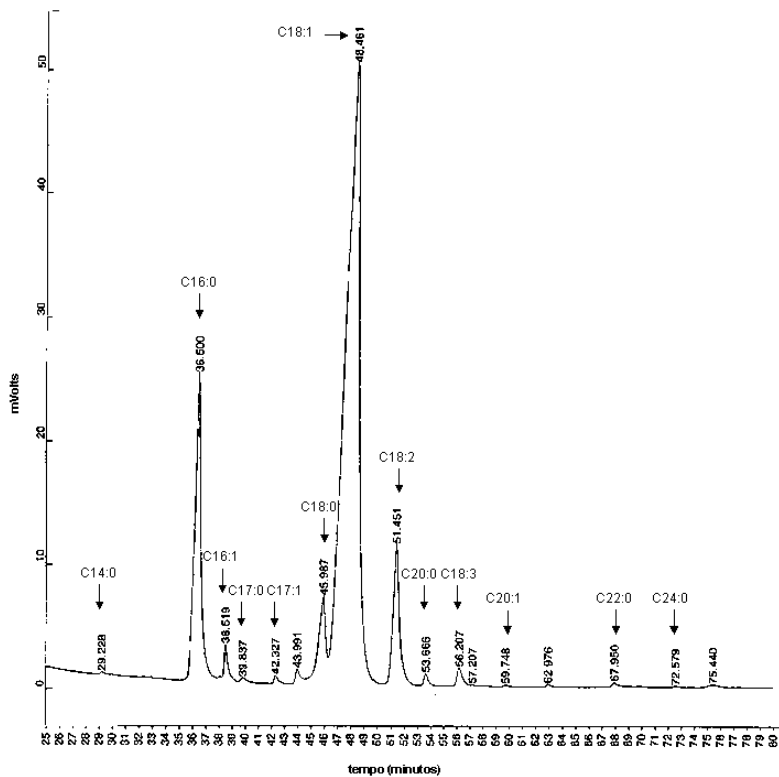
O conhecimento da composição de ácidos graxos do azeite de oliva, tanto qualitativa quanto quantitativamente, é de grande interesse devido a sua importância na descrição e detecção de possíveis adulterações.

Os ácidos graxos presentes no azeite de oliva são: mirístico (C14:0); palmítico (C16:0); palmitoleico (C16:1); heptadecanóico (C17:0); heptadecenóico (C17:1);

esteárico (C18:0); oléico (C18:1); linoléico (C18:2); linolênico (C18:3), araquídico (C20:0); eicosenóico (C20:1); Behênico (C22:0) e Lignocérico (C24:0) (KIRITSAKIS; CHRISTIE, 2003). Os limites aceitos pela legislação para estes ácidos graxos no azeite de oliva virgem podem ser verificados no Anexo C.

A composição de ácidos graxos difere de uma amostra para outra, dependendo da zona de produção do azeite de oliva, sendo os fatores principais que afetam esta composição a latitude, condições edafoclimáticas, variedade e grau de maturação da azeitona colhida (BOSKOU, 1998).

Pelo cromatograma típico do perfil de ácidos graxos das amostras de azeites virgem extra (Figura 1), observa-se a identificação de 13 picos, correspondentes aos ácidos graxos majoritários presente nas amostras.



**Figura 1.** Cromatograma que representa o perfil de ácidos graxos do azeite de oliva virgem “gourmet” da variedade Manzanilla, de origem espanhola (amostra A).

Observou-se diferenças importantes entre os azeites procedentes de diferentes cultivares e condições edafoclimáticas, que se refletem em alguns conceitos de identidade e qualidade (Tabela 5). As condições edafoclimáticas, em geral apresentam pequena influência sobre a composição de ácidos graxos dos azeites de uma mesma cultivar, salvo em condições extremas, onde pode existir forte incidência, sobretudo em variedades denominadas “pouco plásticas”, onde o meio pode chegar a alterar notavelmente a composição de ácidos graxos. Em algumas variedades a composição do azeite pode variar desde 52% até 74% de ácido oléico em função das condições de latitude e clima (TOUS; ROMERO; PLANA, 1998).



**Tabela 5.** Perfil de ácidos graxos (área % relativa) presentes nas amostras de azeites virgem extra.

AMOSTRAS	MARCAS											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Mirístico C14:0	0,02 g	0,14 e	0,58 c	0,06 ef	0,11 ef	0,88 b	0,36 d	1,02 a	0,07 fg	0,09 ef	0,10 ef	0,13 e
Palmítico C16:0	15,07 h	13,19 j	26,10 c	21,03 d	16,97 g	30,44 z	19,56 e	28,55 b	13,07 l	14,28 i	17,21 f	19,58 e
Palmitoleico C16:1	1,19 f	0,61 ij	1,42 c	2,07 a	1,34 d	0,86 g	0,59 j	0,66 hi	0,67 h	0,82 g	1,28 e	1,57 b
Heptadecanóico C17:0	0,18 cd	0,07 fgh	0,23 bc	0,07 fgh	0,03 h	0,30 a	0,13 de	0,25 ab	0,09 efg	0,11 ef	0,05 gh	0,11 ef
Heptadecenóico C17:1	0,27 a	0,07 def	0,05 ef	0,17 b	0,06 def	0,04 f	0,04 f	0,06 def	0,13 bc	0,17 b	0,10 cde	0,11 cd
Esteárico C18:0	5,27 i	6,83 f	14,28 c	5,64 h	5,82 g	18,91 a	11,15 d	17,75 b	5,08 j	4,73 m	4,86 l	8,05 e
Oléico C18:1	69,3 d	72,75 b	49,21 i	53,85 h	66,77 e	44,15 l	63,44 f	47,66 j	72,89 a	72,71 b	72,10 c	62,12 g
Linoleico C18:2	7,17 c	5,11 g	6,95 d	15,66 a	7,67 b	3,33 i	3,80 h	2,78 l	6,51 e	5,78 f	3,09 j	7,17 c
Linolénico C18:3	0,85 b	0,65 de	0,40 g	0,93 a	0,61 e	0,18 h	0,22 h	0,23 h	0,70 cd	0,73 c	0,62 e	0,50 f
Araquídico C20:0	0,40 ab	0,40 ab	0,40 ab	0,32 c	0,36 bc	0,36 bc	0,40 ab	0,45 a	0,45 a	0,36 bc	0,32 c	0,32 c
Eicosenóico C20:1	0,06 f	0,12 cde	0,21 b	0,10 def	0,10 def	0,22 ab	0,17 bc	0,27 a	0,09 ef	0,09 ef	0,13 cde	0,15 cd
Behênico C22:0	0,16 ab	0,07 cde	0,08 cde	0,04 e	0,12 bc	0,20 a	0,06 de	0,16 ab	0,09 cde	0,05 e	0,11 bcd	0,07 cde
Lignocérico C24:0	0,06 cd	0,00 e	0,09 bc	0,08 bcd	0,04 cde	0,12 ab	0,08 bcd	0,17 a	0,16 a	0,07 bcd	0,03 de	0,12 ab
$\Sigma$ Saturados	21,16i	20,70j	41,76c	27,24f	23,45g	51,21a	31,74d	48,35b	19,01m	19,69l	22,68h	28,38e
$\Sigma$ Monoinsaturados	70,72d	73,55c	50,89i	56,19h	68,27e	45,27l	64,24f	48,65j	73,78a	73,79a	73,61b	63,95g
$\Sigma$ Poliinsaturados	8,02c	5,76h	7,35e	16,59a	8,28b	3,51l	4,02i	3,01m	7,21f	6,51g	3,71j	7,67d

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha "Blend"; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina "Blend"; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália "Blend"; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia "Blend"; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile "Blend"; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai "Blend".

O azeite virgem extra “gourmet” da variedade Arauco, de origem argentina (Marca C), apresentou valores bastante alterados na proporção relativa de ácidos graxos, apresentando um dos quatro menores teores de ácido oléico (49.21%), juntamente com o azeite virgem extra “blend” (53,85%) também de origem argentina (Marca D), do azeite virgem extra “blend” (44.15%) de origem italiana (Marca F) e do azeite virgem extra “blend” (47.66%) de origem grega (Marca H), dentre todas as amostras analisadas. Nestas amostras, ocorreu um incremento na mesma proporção da redução no teor de ácido oléico (C18:1), nos teores dos ácidos esteárico (C18:0), palmítico (C16:0) e mirístico (C14:0), estando os valores destes quatro ácidos graxos fora dos limites estabelecidos pelo Conselho Oleícola Internacional (COI/T.15/NC nº 3/Rev. 4, 2009) (IOOC, 2010b) apresentados no Anexo C. O azeite virgem extra “blend”, de origem italiana (Marca F) foi o que apresentou o maior teor de ácidos graxos saturados e o menor teor de ácidos graxos monoinsaturados.

Os azeites virgem extra “blend” de origem espanhola (Marca B), o azeite virgem extra “gourmet” da variedade Koroneiki de origem grega (Marca G) e o azeite virgem extra “blend” de origem uruguaia (Marca L), apresentaram teores mais elevados dos ácidos esteárico (C18:0) e mirístico (C14:0), acarretando na extrapolação do percentual destes dois ácidos normalmente encontrados no azeite de oliva (Anexo C).

O azeite virgem extra “gourmet” da variedade Manzanilla, de origem espanhola (Marca A) apresentou o teor mais baixo de ácido mirístico (C14:0) dentre todas as amostras analisadas.

Os azeites virgem extra “gourmet” da variedade Frantoio de origem italiana (Marca E) e chilena (Marca I) apresentaram pequenas alterações nos teores de ácido esteárico e de ácido mirístico, estando estes valores fora dos limites estabelecidos pelo Conselho Oleícola Internacional como característico do azeite de oliva (Anexo C).

O azeite virgem extra “gourmet” da variedade Manzanilla, de origem espanhola (Marca A) apresentou uma pequena alteração do teor de ácido esteárico, estando o valor encontrado acima do limite de tolerância aceito para a categoria,

fazendo com que o mesmo apenas por esta pequena alteração seja enquadrado como fora de padrão para a categoria virgem extra.

Os azeites virgem extra “blend” de origem chilena (Marca J) e o azeite virgem extra “gourmet” da variedade Picual de origem uruguaia (Marca K), apresentaram pequenas alterações no teor de ácido mirístico, estando estes valores fora dos limites estabelecidos pelo Conselho Oleícola Internacional como característico do azeite de oliva (Anexo C).

O azeite virgem extra “gourmet” da variedade Frantoio, de origem chilena (Marca I) apresentou o teor mais alto de ácido oléico (C18:1) e de ácidos graxos monoinsaturados dentre as 12 amostras analisadas, bem como apresentou o menor teor de ácido palmítico (C16:0) e de ácidos graxos saturados.

Aparentemente todas as marcas analisadas apresentaram maiores teores de ácidos graxos saturados (mirístico, palmítico e esteárico) em conjunto ou separadamente, em detrimento do menor teor de ácido oléico presente nestes azeites.

Cabe ressaltar que as alterações encontradas na composição dos azeites de origem argentina (Marcas C e D), italiana (Marca F) e grega (Marca H), podem estar associadas a uma possível adulteração destes azeites, no entanto, ocorre a possibilidade de alteração da proporção dos ácidos graxos do azeite de oliva, até certos níveis, em função do grau inadequado de maturação da azeitona, conforme citado por Boskou (1998).

Segundo Beltrán et al. (2008) ao longo do processo de maturação do fruto se registram importantes alterações na composição dos ácidos graxos do azeite de oliva. Assim o conteúdo de ácido palmítico decresce da mesma forma que o conjunto de ácidos graxos saturados durante o período de maturação. O ácido oléico que é o ácido graxo majoritário no azeite de oliva (55-83%) apresenta uma evolução variável, uma vez que pode permanecer constante ou mostrar um ligeiro incremento em seu conteúdo durante o processo de maturação da azeitona, enquanto o ácido

linoléico tende a aumentar seu percentual relativo ao longo do processo de maturação do fruto.

Com base nos dados encontrados pode-se observar um aumento no grau de saturação e uma redução na proporção relativa dos ácidos graxos característicos (oleico), como uma consequência da oxidação ocorrida nos azeites analisados. Esta relação pode ser observada nos azeites de origem argentina (Marcas C e D) e nos azeites “blends” de origem italiana (Marca F) e grega (Marca H), que apresentam os menores teores de ácido oleico (Tabela 5) e também os menores valores de estabilidade oxidativa (Tabela 4) e maiores valores de índice de peróxidos (Tabela 2) dentre as amostras analisadas. Estudos realizados por Méndez e Falqué (2007), analisando azeites de oliva virgem extra coletados em supermercados espanhóis e estocados sob temperatura ambiente (20-22°C) em períodos de seis meses ou mais, período este similar ao período de estocagem das doze amostras analisadas neste estudo, também demonstraram um comportamento similar no decorrer do período de armazenagem, onde no trabalho conduzido por Méndez e Falqué (2007), o grau de insaturação tendeu a diminuir conforme o final do período de validade se aproximava, relatando que após seis meses de armazenagem houve um aumento no grau de saturação e uma diminuição na concentração dos ácidos graxos característicos (oleico) foi observado como consequência de sua oxidação.

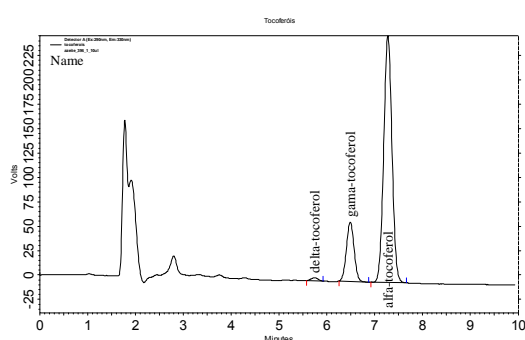
#### 4.6 Conteúdo de tocoferóis

Os tocoferóis são antioxidantes naturais que protegem o organismo frente ao envelhecimento celular, processos oxidativos e doenças coronárias (GURR, 2003).

O azeite de oliva contém alfa-tocoferol em quantidades superiores do que outros tocoferóis, estando em torno de 90% do teor total de tocoferóis, e seu conteúdo varia de 125 – 400 ppm, podendo ser utilizado para detectar a adulteração com óleos de sementes ( KIRITSAKIS; CHRISTIE, 2003).

Devido à facilidade em doar hidrogênios, os tocoferóis são excelentes agentes antioxidantes naturais, conferindo estabilidade ao óleo vegetal. Seu conteúdo é mais alto nos azeites virgens quando comparado com os demais tipos de óleos vegetais (BLEKAS; TSIMIDOU; BOSKOU, 1995).

A figura 2 representa o cromatograma típico de separação e identificação de tocoferóis em azeite de oliva, no qual pode-se verificar que o método foi satisfatório para a separação e identificação de três picos, correspondentes aos tocoferóis presentes na amostra, apresentando picos simétricos e sem interferentes que poderiam falsear o resultado.



**Figura 2.** Cromatograma típico da separação dos tocoferóis em azeite de oliva (azeite de oliva virgem extra “gourmet” da variedade Picual, de origem uruguaia), por HPLC, com coluna de fase reversa e detector de fluorescência a 290 nm de excitação e de 330 nm de emissão.

Os teores de alfa-tocoferol das amostras apresentaram valores superiores a 100 ppm (Tabela 6), o que qualifica neste aspecto os azeites analisados como azeites de boa qualidade segundo Fedeli e Cortesi (1993).

**Tabela 6.** Conteúdo de tocoferóis (mg. Kg<sup>-1</sup>) presentes nas amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	gama-tocoferol	alfa-tocoferol
Marca A	10,77 <sub>b</sub>	142,62 <sub>f</sub>
Marca B	13,24 <sub>a</sub>	291,31 <sub>bc</sub>
Marca C	13,33 <sub>a</sub>	246,64 <sub>cd</sub>
Marca D	6,62 <sub>c</sub>	307,79 <sub>ab</sub>
Marca E	6,70 <sub>c</sub>	277,96 <sub>bc</sub>
Marca F	6,70 <sub>c</sub>	301,08 <sub>bc</sub>
Marca G	6,68 <sub>c</sub>	356,35 <sub>a</sub>
Marca H	6,48 <sub>c</sub>	262,33 <sub>bcd</sub>
Marca I	6,44 <sub>c</sub>	167,42 <sub>ef</sub>
Marca J	6,75 <sub>c</sub>	249,86 <sub>cd</sub>
Marca K	12,95 <sub>a</sub>	213,56 <sub>de</sub>
Marca L	traços	214,15 <sub>de</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha "Blend"; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina "Blend"; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália "Blend"; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia "Blend"; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile "Blend"; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai "Blend".

O azeite de oliva que apresentou o teor mais elevado de alfa-tocoferol foi o azeite virgem extra "gourmet" da variedade Koroneiki, de origem grega (Marca G),

valendo observar que o azeite “blend” de mesma origem (Marca H), também se destaca dentre os seis azeites que apresentaram os teores mais elevados de alfa-tocoferol. Estes dados confirmam o relatado por Boskou (1998), o qual afirma que os azeites de origem grega possuem maiores teores de alfa-tocoferol quando comparados com azeites de outras partes do mundo.

Os azeites de oliva virgem extra “gourmet” das variedades manzanilla (Marca A) e Frantoio (Marca I), de origem espanhola e chilena, respectivamente, foram as que apresentaram menores teores de alfa-tocoferol dentre todas as marcas analisadas.

As variabilidades encontradas neste estudo podem estar relacionadas à fatores como colheita, clima e processamento, os quais influenciam na concentração de tocoferóis. Um exemplo é a maior concentração de tocoferóis quando as azeitonas são colhidas na primeira fase de colheita em relação às azeitonas colhidas no final do período de colheita. Em contrapartida a biossíntese dos tocoferóis continua depois da colheita, onde o azeite obtido de azeitonas moídas imediatamente após a colheita pode apresentar um conteúdo muito menor de tocoferóis que o azeite procedente das mesmas azeitonas que se deixem armazenadas por 10 – 15 dias, antes da moagem (AGRAMONT et al., 1997). O teor de alfa-tocoferol também é influenciado pelo regime de chuvas no decorrer da safra, fazendo com que as azeitonas apresentem uma concentração elevada durante anos de seca (BELTRÁN et al., 2010).

Com relação aos teores de gama-tocoferol apenas quatro azeites apresentaram teores mais elevados, os azeites virgem extra “gourmet” das variedades Manzanilla de origem espanhola (Marca A), Arauco de origem argentina (Marca C) e Picual de origem uruguaia (Marca K) e o azeite virgem extra “blend” de origem argentina (Marca B). O restante das amostras, com exceção do azeite “blend” de origem uruguaia (Marca L), que não apresentou quantidade detectável de gama-tocoferol, não apresentaram diferença significativa no teor deste composto.

Embora os tocoferóis sejam considerados antioxidantes naturais estudos realizados por Marinova e Yanishlieva (1992) e confirmados por Blekas, Tsimidou e

Boskou (1995), demonstram que a presença de alfa-tocoferol não exerceu efeito antioxidante durante o período de baixa acumulação de peróxido, que os mesmos consideram até 25 meq.  $O_2 \cdot Kg^{-1}$ , podendo até mesmo ter um efeito pró-oxidante.

Pelos dados da Tabela 6, também não se observou uma relação inversa entre o conteúdo de tocoferóis, índice de peróxidos e estabilidade oxidativa, onde amostras com alto teor de tocoferóis apresentaram menor estabilidade oxidativa. Um exemplo claro da ocorrência desta relação pode ser verificado no azeite “blend” de origem argentina (Marca D), que apresenta valores de absorbância a 232 nm de 3,58; índice de peróxido de 20,41 meq.  $O_2 \cdot Kg^{-1}$ ; estabilidade oxidativa de apenas 9,04 horas e teor de alfa-tocoferol de 307,79 (mg.  $Kg^{-1}$ ).

#### **4.7 Determinação de carotenóides totais**

Os carotenóides, juntamente com polifenóis e tocoferóis possuem um papel importante na estabilidade oxidativa do azeite.

No azeite de oliva virgem normalmente são relatados teores de carotenóides de 1 a 10 mg.  $Kg^{-1}$ . A fração de carotenóides é formada basicamente por beta-caroteno (5 a 15%) e luteína, perfazendo 30 a 60% do total de pigmentos (MÍNGUEZ-MOSQUERA;GARRIDO-FERNANDEZ, 1989).

Rannalli (1992) relata que os azeites obtidos pelo sistema de centrifugação apresentam um conteúdo maior de carotenóides em comparação com os azeites obtidos por percolação, ou mesmo quando se trabalha com diferentes tipos de moagem.

Observando os dados apresentados na tabela 7, o azeite de oliva virgem extra “blend” de origem chilena (Marca J) foi o que apresentou o maior teor de carotenóides, seguido dos azeites de oliva virgem extra “blend” de origem espanhola (Marca B) e italiana (Marca F), e do azeite virgem extra “gourmet” da variedade Koroneiki, de origem grega (Marca G).



As demais amostras apresentaram teores de carotenóides condizentes com os teores normalmente encontrados em outras amostras de azeites conduzidas por outros autores, como Mínguez-Mosquera e Garrido-Fernandez (1989) e Morales e Przybylski (2003).

**Tabela 7.** Conteúdo de carotenóides (mg. Kg<sup>-1</sup>) das amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	Carotenóides (mg. Kg <sup>-1</sup> )
Marca A	6,62 <sub>d</sub>
Marca B	7,51 <sub>b</sub>
Marca C	5,63 <sub>e</sub>
Marca D	3,45 <sub>f</sub>
Marca E	6,49 <sub>d</sub>
Marca F	7,49 <sub>b</sub>
Marca G	7,46 <sub>bc</sub>
Marca H	5,67 <sub>e</sub>
Marca I	7,06 <sub>c</sub>
Marca J	8,37 <sub>a</sub>
Marca K	3,08 <sub>f</sub>
Marca L	2,09 <sub>g</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha "Blend"; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina "Blend"; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália "Blend"; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia "Blend"; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile "Blend"; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai "Blend".

Não foi verificada uma relação direta com o conteúdo de carotenóides e a estabilidade oxidativa dos azeites. Mesmo levando em consideração um possível efeito sinérgico dos carotenóides com os tocoferóis, observa-se por exemplo que o

azeite de oliva “blend” de origem italiana (Marca F) que apresentou teores altos de carotenóides e de alfa tocoferol (7,49 mg. Kg<sup>-1</sup> e de 301,08 mg. Kg<sup>-1</sup>, respectivamente), apresentou baixa estabilidade oxidativa (13,60 horas) (Tabela 4).

#### 4.8 Determinação de clorofilas totais

No azeite de oliva virgem são relatados teores de clorofilas de 1 a 24 mg. Kg<sup>-1</sup>. A fração clorofílica é formada por clorofila *a* e *b* e seus derivados que não contém magnésio, feofitinas *a* e *b*. Os compostos majoritários consistem da clorofila *a* com 4 -7% do total e a feofitina *a*, com 20 - 40% do total de pigmentos (MÍNGUEZ-MOSQUERA, GARRIDO-FERNANDEZ (1989), GANDUL-ROJAS; MÍNGUEZ MOSQUERA (1996).

Pelos dados apresentados na tabela 8, verifica-se um maior teor de clorofila nos azeites virgem extra “gourmet” (Marca G) e “blend” (Marca H) de origem grega, e nos azeites virgem extra “gourmet” (Marca I) e “blend” (Marca J) de origem chilena. Isto pode estar associado decorrente do hábito da colheita dos frutos de azeitona em um estágio menos avançado de maturação, que é de costume destes países de origem.

O contrário pode-se dizer dos azeites virgem extra “gourmet” (Marca C) e “blend” (Marca D) de origem argentina, e nos azeites virgem extra “gourmet” (Marca K) e “blend” (Marca L) de origem uruguaia. Nos países produtores destes azeites, tem-se por hábito a colheita dos frutos de azeitona em um estágio mais avançado de maturação.

Ressalta-se que os teores de clorofila apresentados na tabela 8 para as diferentes amostras de azeites analisados estão dentro dos valores normalmente descritos por outros autores (MÍNGUEZ-MOSQUERA, GARRIDO-FERNANDEZ (1989), GANDUL-ROJAS; MÍNGUEZ MOSQUERA (1996).

**Tabela 8.** Conteúdo de clorofilas (mg. Kg<sup>-1</sup>) das amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	Clorofilas (mg. Kg <sup>-1</sup> )
Marca A	7,20 <sub>e</sub>
Marca B	10,05 <sub>d</sub>
Marca C	9,99 <sub>d</sub>
Marca D	7,65 <sub>e</sub>
Marca E	8,12 <sub>e</sub>
Marca F	12,46 <sub>c</sub>
Marca G	16,24 <sub>a</sub>
Marca H	14,29 <sub>b</sub>
Marca I	12,36 <sub>c</sub>
Marca J	12,37 <sub>c</sub>
Marca K	3,22 <sub>f</sub>
Marca L	2,28 <sub>f</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha "Blend"; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina "Blend"; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália "Blend"; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia "Blend"; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile "Blend"; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai "Blend".

A estabilidade oxidativa do azeite de oliva é grandemente afetada pela presença de clorofila e seus derivados, principalmente quando em presença de luz. Vários autores têm demonstrado o efeito pro - oxidante das clorofilas e seus derivados nos azeites de oliva e óleos de soja e milho expostos a luz (MORALES; PRZYBYLSKI, 2003).

Pelos dados da tabela 8 não se observa uma relação direta com o conteúdo de clorofilas e estabilidade oxidativa. Os azeites "blend" de origem italiana (Marca F)

e de origem grega (Marca H), que apresentaram teores de clorofila de 12,46 mg. Kg<sup>-1</sup> e 14,29 mg. Kg<sup>-1</sup>, respectivamente, também apresentaram baixa estabilidade oxidativa (Tabela 4) e elevado índice de peróxidos (Tabela 2). Porém, os azeites virgem extra “gourmet” de origem grega (Marca G) e os azeites virgem extra “gourmet” (Marca I) e “blend” (Marca J) de origem chilena, apresentaram teores de clorofilas similares aos azeites de origem italiana (Marca F) e de origem grega (Marca H) e até mesmo superior ao conteúdo do azeite virgem extra “gourmet” de origem grega (Marca G) que apresenta teor de clorofila de 16,24 mg. Kg<sup>-1</sup>, mas mesmo assim estes azeites apresentaram maior estabilidade oxidativa e índices de peróxidos inferiores aos azeites de Marcas “F” e “H”.

Quanto aos azeites virgem extra “gourmet” (Marca K) e “blend” (Marca L) de origem uruguaia, foi possível verificar que os dois azeites apresentaram teores baixos e similares de clorofila (3,22 e 2,28 mg. Kg<sup>-1</sup>, respectivamente), teores muito similares de alfa-tocoferol (213,56 mg. Kg<sup>-1</sup> e 214,15 mg. Kg<sup>-1</sup>) e valores baixos de índice de peróxidos (9,69 meq. O<sub>2</sub>/Kg e 9,35 meq. O<sub>2</sub>/Kg). Porém, estes azeites apresentaram valores muito distintos em relação a estabilidade oxidativa, uma vez que o azeite virgem extra “gourmet” (Marca K) apresentou a maior estabilidade dentre todas as amostras (42,44 horas) e o azeite “blend” (Marca L) apresentou uma estabilidade oxidativa de 17,16 horas. Com isto se observa que apenas o conteúdo de clorofila detectado neste estudo e a presença de tocoferóis, não são os únicos componentes responsáveis pela proteção ou ativação da oxidação dos azeites. Estes valores comprovam que o azeite virgem extra “gourmet” (Marca K), por ser um azeite varietal da variedade Picual, é uma variedade reconhecida como de excelente estabilidade à oxidação (BARRANCO, 2004). Salienta-se que todas as amostras de azeites estavam acondicionadas em embalagens de vidro âmbar, e com isto pode ter reduzido o efeito da clorofila, que é notável na presença da luz, não apresentando relação de seu conteúdo com o índice de peróxidos das amostras de azeites.

Além da qualidade oxidativa, o conteúdo total de clorofila é um importante parâmetro, pois está diretamente ligada a coloração do azeite, que é um atributo básico para a avaliação da qualidade do azeite de oliva (SALVADOR et al., 2000).

A coloração dos azeites passa por mudanças ao longo da colheita, apresentando no início da colheita coloração verde de diversas tonalidades em função da variedade, alterando até o amarelo-ouro ao avançar a colheita, como consequência da redução gradativa da relação clorofilas/carotenos (GARRIDO et al., 1990).

Vale ressaltar que os teores de clorofilas apresentados na tabela 8 para os diferentes azeites analisados estavam dentro dos valores normalmente encontrados por outros autores (MÍNGUEZ-MOSQUERA, GARRIDO-FERNANDEZ (1989), GANDUL-ROJAS; MÍNGUEZ MOSQUERA (1996).

#### **4.9 Determinação de fenóis totais**

Os teores de fenóis no azeite de oliva, segundo Garcia et al. (2002) variam de 50 a 500 mg. Kg<sup>-1</sup> expressos em ácido cafeico.

Dentre as marcas de azeite analisadas, o azeite virgem extra “gourmet” da variedade Frantoio, de origem chilena (Marca I), foi a que apresentou maior teor de polifenóis totais (Tabela 9).

Observa-se, que todos os azeites “gourmet” varietais apresentaram teores de polifenóis maiores que os encontrados nos azeites tipo “blend” de mesma origem. Isto se explica, pois normalmente há uma maior seleção do fruto no momento do processamento do azeite tipo “gourmet”, optando por frutos mais saudáveis e de ponto de maturação mais homogêneo, evitando frutos demasiadamente maduros.

**Tabela 9.** Conteúdo de Fenóis Totais (mg. Kg<sup>-1</sup>) das amostras de azeite de oliva virgem extra.

Amostras*	Fenóis Totais (mg. Kg <sup>-1</sup> )
Marca A	184,1 <sub>b</sub>
Marca B	96,8 <sub>j</sub>
Marca C	181,5 <sub>c</sub>
Marca D	100,9 <sub>i</sub>
Marca E	120,9 <sub>f</sub>
Marca F	118,4 <sub>g</sub>
Marca G	175,4 <sub>d</sub>
Marca H	128,4 <sub>e</sub>
Marca I	247,3 <sub>a</sub>
Marca J	118,5 <sub>g</sub>
Marca K	108,9 <sub>h</sub>
Marca L	81,9 <sub>i</sub>

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

\* **Marca A:** Espanha Varietal; **Marca B:** Espanha “Blend”; **Marca C:** Argentina Varietal; **Marca D:** Argentina “Blend”; **Marca E:** Itália Varietal; **Marca F:** Itália “Blend”; **Marca G:** Grécia Varietal; **Marca H:** Grécia “Blend”; **Marca I:** Chile Varietal; **Marca J:** Chile “Blend”; **Marca K:** Uruguai Varietal; **Marca L:** Uruguai “Blend”.

A grande variação nos teores de polifenóis encontrados se deve a diversos fatores, como por exemplo, a variedade utilizada, o grau de maturação dos frutos, as condições edafoclimáticas, o manejo de campo e as condições de processamento, que nas amostras analisadas neste estudo, possivelmente são muito variáveis face às diferentes variedades de azeitonas utilizadas e as diferentes origens das marcas.

Aparício (2003a) e Angerosa (2003) relatam haver uma marcada incidência do meio edafoclimático, sobre o conteúdo de polifenóis totais, obtendo-se azeites com características sensoriais diferentes, uma vez que os polifenóis são em parte responsáveis pelo amargor dos azeites.

Os polifenóis totais são compostos que protegem o organismo, em geral, dos processos oxidativos e são responsáveis por alguns aspectos sensoriais do azeite de oliva virgem, tais como o sabor amargo e a sensação picante. Entre suas funções está a de proteger os azeites das reações de auto-oxidação (UCEDA, HERMOSO; AGUILERA, 2008).

Embora os polifenóis sejam muito importantes para a estabilidade oxidativa do azeite de oliva (TSIMIDOU; BOSKOU, 1998), de acordo com Uceda, Hermoso e Aguilera (2008), somente o teor de polifenóis totais não justificam completamente a estabilidade oxidativa do azeite de oliva.

Gutiérrez González- Quijano et al. (1977) relatam que não existe, em geral, uma correlação entre os polifenóis totais e os chamados critérios objetivos de qualidade, como é o caso do índice de acidez, índice de peróxidos e a extinção a 270 nm. Estes autores consideram de maior interesse relacionar o teor de polifenóis totais com as características sensoriais, onde é possível comprovar que existe uma tendência a que azeites que possuam maiores teores de polifenóis apresentem uma maior qualidade.

Não foi identificada uma relação entre teores de fenóis totais, estabilidade oxidativa (Tabela 4) e índice de peróxidos (Tabela 2), uma vez que azeites como o virgem extra “gourmet” de origem chilena (Marca I), o de origem espanhola (Marca A) e o de origem argentina (Marca C), os quais apresentaram os maiores teores de fenóis (Tabela 9) dentre as marcas analisadas, não apresentaram os maiores valores de estabilidade oxidativa e sequer menores índices de peróxidos dentre as amostras analisadas. Da mesma forma não foi encontrada relação entre a interação do conteúdo de alfa-tocoferol, de fenóis totais e da estabilidade oxidativa, pois tanto o azeite virgem extra “gourmet” de origem grega (Marca G) que apresentou o maior valor do somatório fenóis totais e de alfa-tocoferol, não apresentou a maior

estabilidade oxidativa, quanto o menor valor de estabilidade oxidativa encontrado no azeite virgem extra “blend” de origem argentina (Marca D) não foi o azeite que apresentou o menor valor da interação de alfa-tocoferol e de fenóis totais.

Da mesma forma que nos casos anteriores, não foi encontrado relação entre teores de fenóis totais, clorofilas totais e estabilidade oxidativa, bem como da interação entre os teores de fenóis totais, de alfa-tocoferol, teor de clorofila total e a estabilidade oxidativa entre as marcas analisadas.



## 5 CONCLUSÕES

Das doze marcas de azeite virgem extra analisadas, quatro marcas de azeite, as marcas C e D, ambas de origem argentina, e as marcas F e H de origem italiana e grega, respectivamente, apresentaram valores de estabilidade oxidativa e peróxidos que denotam estágio avançado de oxidação e os tornam impróprios para o consumo humano.

No que diz respeito à acidez apenas as marcas C e F apresentaram valores acima dos limites estabelecidos para a categoria virgem extra.

As marcas C e D de origem argentina apresentaram valores de absorção a 232 e 270 nm superiores ao limite permitido para os azeites de categoria “virgem extra” e até mesmo da categoria “virgem”.

O perfil de ácidos graxos das marcas C e D, ambas de origem argentina e as marcas F e H de origem italiana e grega demonstram indício de adulteração com outro óleo.

O perfil de ácidos graxos das marcas C e F, de origem argentina e italiana, respectivamente e das marcas G e H de origem grega, apresentaram alteração significativa no teor de ácido esteárico.

No que se refere à composição de ácidos graxos, tomando por base valores estabelecidos pelo COI e até mesmo pela atual legislação brasileira, todas as amostras encontram-se fora dos padrões exigidos para comercialização.

Com relação às análises de conteúdo de tocoferóis, carotenóides totais, clorofilas totais e fenóis totais, todas as marcas de azeite não apresentaram valores que denotassem qualquer problema no que diz respeito a qualidade do produto.

Observou-se relações diretas entre o índice de peróxidos e os valores de absorvância específica a 232 nm; entre os valores de estabilidade oxidativa, índice de peróxidos e absorção específica a 232 nm, bem como entre os teores de ácido oléico, estabilidade oxidativa e índice de peróxidos.

No que se refere a interação entre o conteúdo de fenóis totais, clorofilas, tocoferóis e a estabilidade oxidativa observada através do Rancimat, não foi encontrada relação direta entre estes constituintes.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA, M.P.; BELTRÁN, G.; ORTEGA, D.; FERNANDÉZ, A.; JIMÉNEZ, A.; UCEDA, M. Characterization of virgin olive oil of Italian olive cultivars: Frantoio and Leccino, grown in Andalusia. **Food Chemistry**, v. 89, p. 387-391, 2005.

AGRAMONT, A.; LOPEZ, M.C.; BOATELLA, J.; DE LA TORRE, M.C. Evolution de la teneur en tocopherols et en tocotrienols pendant le murissage des olives. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v. 63, p. 443-450, 1997.

ALBA, José. Elaboración del aceite de oliva virgín. In: **El cultivo del olivo**; 6.ed. Córdoba: Ed. Mundi-prensa, 2008. p. 657-697.

ALLALLOUT, A.; KRICHÉNE, D.; METHENNI, K.; TAAMALLI, A.; QUESLATI, I.; DAOUD, D.; ZARROUK, M. Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek Varieties Grown in Northern Tunisia. **Scientia Horticulturae**, n.120, p. 77- 83, 2009.

AMELIO, M.; RIZZO, R.; VARAZINI, F. Separation of estigmasta-3,5-diene, squalene isomers, and wax esters from olive oils by single high-performance liquid chromatography run. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.75, n.4, p. 527-530, 1998.

AMELIO, M.; RIZZO, R.; VARAZINI, F. Separation of wax esters from olive oils by high-performance liquid chromatography. **Journal of American oil Chemists' Society**, Champaign, v.70, n.8, p. 793-796, aug, 1993.

AMELOTTI, G. Problematiche inerenti la valutazione della frazione sterolica. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v.62, p.337-44, 1985.

ANDRIKOPOULOS, N. K. ; GIANNAKIS, I. G. ; TZAMTZIS, V. Analysis of olive oil and seed oil triglycerides by capillary gas chromatography as a tool for the detection of the adulteration of olive oil. **Journal of Chromatographic Science**, Amsterdam, v.39, p.137-145, april, 2001.

ANDRIKOPOULOS, N.; HASSAPIDOU, M.; MANOUKAS, A. The tocopherol content of Greek olive oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 46, p. 503-509, 1989.

ANGEROSA, Franca; Calidad sensorial de los aceites de olive. In: **Manual del aceite de oliva**: 1.ed. Madrid: Mundi-Prensa, 2003, p. 345-380.

ANGEROSA, F.; LANZA, B.; MARSILIO, V. Biogenesis of fusty defect in virgin olive oils. **Grasas y aceites**, Sevilla, v. 47, n. 3, p. 142-150, 1996.

ANTONIASSI, R.; PEREIRA, D.A.; SZPIZ, R.R.; JABLONKA, F.H.; LAGO, R. C. A. Avaliação das características de identidade e qualidade de amostras de azeite de oliva. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.1, n.1,2, p. 32-43, jan/dez, 1998.

ANTONIOSI FILHO, N. R.; CARRILHO, E.; LANÇAS, F. M. Fast quantitative analysis of soybean oil olive oil by high- temperature capillary gas chromatography. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.70, n.10, p.1051-1053, oct, 1993.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Ministério da Saúde. Resolução nº 482 de 16 de abril de 1999. Estabelece padrão de identidade e qualidade para os óleos e gorduras comestíveis, destinados à alimentação humana.

**Diário Oficial** (Republica Federativa do Brasil), Brasília, 26 abril 1999. Seção 1, PT 1.

AOCS. American Oil Chemists Society. Official and tentative methods of the American Oils Chemists Society, Champaign, Illinois, 1992.

APARÍCIO, R.; HARWOOD, J. **Manual del aceite de oliva**. 1.ed. Madrid: Ediciones Mundi Prensa, 2003. 614p.

APARICIO, Ramón. Autenticación del aceite de oliva. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003a. p.475-504.

APARICIO, Ramón. Caracterización del aceite de oliva: Procedimientos matemáticos aplicables en el análisis químico. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003b. p.281- 344.

APARICIO, R.; MORALES. M.; ALONSO, V. Authentication of European virgin olive oils by their chemical compounds, sensory attributes and consumer's attitudes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.45, p.1076-1083, 1997.

APARICIO, R.; RODA, L.; ALBI, M. A.; GUTIERREZ, F. Effect of various compounds in virgin olive oil stability measured by Rancimat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 4150- 4155, 1999.

APARICIO, R.; FERREIRO, L.; ALONSO, V. Effect of climate on the chemical composition of virgin olive oil. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.292, p.235-241, 1994.

AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; KUMAGAY, E.; CANO, C. B. Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicerídeo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v.31, n. 1, p. 31-34, 2008.

AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; MINAZZI-RODRIGUES, R. S.; BADOLATO, E.S.G. Azeite de oliva: incidência de adulterações entre os anos de 1993 a 2000. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (São Paulo), v.61, n. 2, p. 69-75, 2002.

AUED-PIMENTEL, S. **Avaliação do grau discriminatório de parâmetros analíticos do azeite de oliva: 1. Aplicação da espectrofotometria derivada.** 1991. 223f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

AYERZA, R.; SIBBETT, G. S.; Thermal adaptability of olive (*Olea europaea L.*) to the Arid Chaco of Argentina. **Agriculture Ecosystems & Environment.** (Arizona), n.84, p. 277-285, 2001.

BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; MILED, D. D. B. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. **Food Chemistry**, Tunisia, n.109, p.743-754, 2008.

BAETEN, Vicent; APARICIO, Ramón; MARIGHETO, Niusa; WILSON, Reginald. Análise del aceite de oliva por espectroscopía infrarroja Y Raman: Metodologias y aplicaciones. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.209-246.

BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. **El cultivo del olivo.** 5. ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004. 800 p.

BARRANCO, Diego. Variedades Y Patronos. In: **El cultivo del olivo.** Córdoba: Mundi-prensa, 2004. p. 65-91.

BARRANCO, D.; TORO, C. DE.; RALLO, L. Épocas de maduración de cultivares de olivo en Córdoba. **Investigación Agraria: Producción y Protección Vegetales**, Madrid, v. 13, n. 3, p. 359-368, 1998.

BECKER, D. F. S.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R.; FERNANDES, G. B.; Quantificação de fitosteróis em Azeite de oliva Importados e Disponíveis no Comércio de Campinas utilizando Cromatografia em Fase gasosa. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, n.3, v.8, p. 190-199, 2005.

BELTRÁN, Gabriel; JIMÉNEZ, Antonio; RIO, Carmen; SÁNCHEZ, Sebastián; MARTINEZ, Leopoldo; UCEDA, Marino; AGUILERA, Maria. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 1920, p. 1-7, 2010.

BELTRÁN, G.; UCEDA, M.; HERMOSO, M.; FRÍAS, L. Maduración. In: **El cultivo del olivo**. 6. ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2008. 846 p.

BELTRÁN, Gabriel; UCEDA, Marino; HERMOSO, Manuel; FRÍAS, Luisa. Maduración. In: **El cultivo del olivo**. Córdoba: Mundi-prensa, 2004. p. 165-184.

BENITEZ-SANCHEZ, P.L.; CAMACHO, L.M.; APARICIO, R. A comprehensive study of hazelnut oil composition with comparisons to other vegetable oils, particularly olive oil. **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 13-18, 2003.

BIANCHI, Giorgio; DE SIMONE, Angela; DI CAILLO, Angela; GIANANTE, Lucia; TAVA, Aldo. Otras técnicas útiles en el análisis del aceite de oliva. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.247-280.

BIEDERMANN, M.; GROB, K.; MARIANI, C.; SCHMIDT, J.P. Detection of desterolized sunflower oil in olive oil through isomerized  $\Delta^7$ -sterols. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A**, v. 202, n.3, p. 199-204, 1996.

BLANCH, G. P.; CAJA, M. M.; LEÓN, M.; HERRAIZ, M. Determination of (E)-5-methylhept-2-en-4-one in deodorized hazelnut oil. Application to the detection of adulterated olive oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, p.140-144, 2000.

BLEKAS, G.; TSIMIDOU, M.; BOSKOU, D. Contribution of  $\alpha$ -tocopherol to olive oil stability. **Food Chemistry**, Grecia, n. 52, p.289-294, 1995.

BORJA, R.; RAPOSO, F.; RINCÓN, B.; Treatment technologies of liquid and solid wastes from two-phase olive oil mills. **Grasas y aceites**, Sevilla, n. 57, v.1, p. 32-46, 2006.

BORTOLOMEAZZI, R.; BERNO, P.; PIZZALE, L.; CONTE, L. S. Sesquiterpene, alkene, and alkane hydrocarbons in virgin olive oils of different varieties and geographical origins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.49, p.3278-3283, 2001.

BOSKOU, D. **Química y tecnología del aceite de oliva**. 1. ed. Madrid: Mundi Prensa, 1998. 295 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 419, 26 de agosto de 2010. Regulamento técnico dos azeites de oliva e dos óleos de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 166, p.02-05, 30 ago. 2010. Seção 1.

CABALLERO, Juan M.; DEL RÍO, Carmen. Métodos de multiplicación. In: BARRANCO, Fernández-Escobar y Rallo. **El cultivo del olivo**. Córdoba: Ediciones Mundi-prensa, 2004. p. 95-124.

CERCACI, L.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; LERCKER, G. Solid-phase extraction-thin-layer chromatography-gas chromatography method for the detection of hazelnut oil in olive oils by determination of esterified sterols. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.985, p.211-220, 2003.

CERRETANI, L.; BENDINI, A.; DEL CARO, A.; PIGA, A.; VACCA, V.; CABONI, M.F.; TOSCHI, T.G. Preliminary characterization of virgin olive oils obtained from different cultivars in Sardinia. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 222, p. 354-361, 2006.

CERT, A.; MOREDA, W.; PÉREZ-CAMINO, M. C. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils (Review). **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.881, p.131-148, 2000.

CERT, A.; MOREDA, W.; GARCIA-MORENO, J. Determinación de esteroides y dialcoholes triterpénicos en aceite de oliva mediante separación de la fracción por cromatografía líquida de alta eficacia y análisis por cromatografía de gases. Estandarización del método analítico. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.48, n.4, p.207-218, 1997.



CERT, A. Normativa Internacional sobre el aceites de oliva y otras grasas vegetales- posible utilidad de nuevos métodos analíticos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, p.175-189, jun., 1995.

CHIAVARO, E.;VITTADINI, E.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M.T.; CERRETANI, L.; BENDINI, A. Differential scanning calorimeter application to the detection of refined hazelnut oil in extra virgin olive oil. **Food Chemistry** n.110, p. 248-256, 2008.

CIVANTOS, L. La olivicultura en el mundo y en España. IN: BARRANCO, FERNANDÉZ-ESCOBAR Y RALLO (Ed.). **El cultivo del olivo**. 6.ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2008. p. 19-35.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – FAO/WHO. **Codex Standard for olive oil, virgin and refined and for refined olive-pomace oil**. CODEX STAN 33-1981 (Rev. 1-1989). Roma: Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Roma, 2001. v. 8, p. 25-39.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento: Indicadores da agropecuária. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 23 abr. 2007.

CONSTANTE, Enrique Graciani. **Los Aceites y Grasas: Composición y Propiedades**. 1. ed. Madrid, Mundi-Prensa, 2006. 316p.

CONTE, L.S.; CABONI, M.F.; LERCKER, G. Olive oils produced in Romagna. Note 1. Oils from Lamone river valley. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v. 70, p. 175-182, 1993.

CONTIÑAS, S.; MARTINEZ, J.; CARBALLO, J.; FRANCO, I. Detección de adulteraciones y/o contaminaciones del aceite de oliva virgen extra con aceites de semillas y aceite de orujo de oliva. **Grasas y aceites**, v.59, n.2, p97-103, abr./jun.2008.

CUNHA, S.; AMARAL. J.; FERNANDES, J.; OLIVEIRA, M.B. Quantification of tocopherols and tocotrienols in portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 3351-3356, 2006.

DHIFI, W.; HARMROUNI, I.; AYACHI, S.; CHAHED, T.; SAIDANI, M.; MARZOUK, B. Biochemical **characterization** of some tunisian olive oils. **Journal of Food Lipids** , Tunisie, n. 11, p. 287-296, 2004.

DI GIOVACCHINO. L.; CONSTANTINI, N.; FERRANTE, M. L.; SERRAIOCCO, A. Influence of malaxation **time** of olive paste on oil extraction yields and chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a centrifugal decanter at water saving. **Grasas y aceites**, ( Città S. Angelo) n.2, v. 53, p.179-186, 2002.

DI GIOVACCHINO, L. Recolección de las aceitunas y extracción del aceite de oliva. In: **Química y tecnología del aceite de oliva**: 1.ed. Madrid: Ed. Mundi-prensa, 1998. p. 25-66.

DIONISI, F.; PRODOLLIET, J.; TAGLIAFERRI, E. Assessment of olive oil adulteration by reversed-phase high performance liquid chromatography/ amperometric detection of tocopherols and tocotrienols. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 72, p. 1505-1508, 1995.

DOBARGANES, M. C.; CERT, A.; DIEFFENBACHER, A. The determination of estigmastadienes in vegetable oils. **Pure & Applied Chemistry**. Oxford, v. 71, n. 2, p. 49 – 359, 1999.

DUCAUZE, Christian J. **Fraudes alimentarios**: Legislación y metodología analítica. 1. ed. Zaragoza: Acriba, 2006. 449p.

DUGO, G.; ALFA, M.; LA PERA, L.; MAVROGENI, E.; POLLICINO, D.; MAISANO, R.; PIZZIMENTI, G. Characterization of Sicilian virgin olive oils. Note X A comparison between *Cerasuola* and *Nocellara del Belice* varieties. **Grasas y Aceites**, Messina, v55, n.4, p. 415-422, 2004

ESTI, M. ;CINQUANTA, L.; CARRONE, A.; TRIVISONNO, M.C.; LA NOTTE, E. GAMBACORTA, G., Composti antiossidanti e parametri qualitativi di oli vergini di oliva prodotti in Molise. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v. 73, p. 147-154, 1996.

FEDELI, E.; CORTESI, N. Quality, origin and technology of virgin olive oils. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v.70, p. 419-425, 1993.

FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J.; RODRIGUEZ, G.; RODRÍGUEZ, R.; GUILLÉN, R.; JIMÉNEZ. Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. **Grasas y Aceites** (Sevilla), n. 57(1), p.95-106, 2006.

FIGUERES, F. G.; MONILLAÓ, J. J. D.; SANZ, V. M.; TENA, E. P. Influencia de los ataques fúngicos en la pérdida de calidad del aceite de oliva. **Fruticultura Profesional**: (Barcelona), v. 2, n. 88, p. 131-135, 1997.

FRAGAKI, G.; SPYROS, A.; SIRAGAKIS, G.; SALIVARAS, E.; DAIS, P. Detection of extra virgin olive oil adulteration with lampante olive oil and refined olive oil using nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate statistical analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Easton, v. 53, n. 8, p. 2810 - 2816, 2005.

GAMAZO-VÁZQUEZ, J.; GARCÍA-FALCÓN, M.S.; SIMAL-GÁNDARA, J. Control of contamination of olive oil by sunflower seed oil in bottling plants by GC-MS of fatty acid methyl esters. **Food Control**. Surrey, v.14, p.463-467, 2003.

GANDUL-ROJAS, B.; MÍNGUEZ-MOSQUERA, M.I. Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various spanish olive varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. Sevilla, n.72, p. 31-39, 1996.

GARCIA, A.; BRENES, M.; GARCIA, P.; ROMERO, C.; GARRIDO, A. Phenolic content of commercial olive oils. **European Food Research and Technology**, v. 216, p. 520-525, 2002.

GARCIA, J. M.; YOUSFI, K.; MATEOS, R.; OLMO, M.; CERT, A. Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.49(9), p.4231-4235, 2001.

GARRIDO, J.; GRANDUL, B.; GALLARDU, L.; MÍNGUEZ, M.J.; PEREDA, J. Composición clorofílica y carotenoides del aceite de oliva virgen. Valor em provitamina A. **Grasas y aceites**, Sevilla, v. 41, n.3, p. 410-417, 1990.

GIL-RIBES, Jesús ANTONIO; López-Giménez; BLANCO-ROLDÁN, Gregorio Lorenzo; castro, SERGIO. Mecanización. In: **El cultivo del olivo**. Córdoba: Mundi-prensa, 2004. p. 437-505.

GIMENO, E.; CASTELLOTE, A. I.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; TORRE, M. C.; LÓPEZ-SABATER, M. C.; The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content ( phenolics,  $\alpha$ -tocopherol, and  $\beta$ - carotene) in virgin olive oil. **Food Chemistry**, Barcelona, v. 78, p. 207-211, 2002.

GIOVACCHINO, Luciano Di. Aspectos tecnológicos In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.33-72.

GIUFFRIDA, D.; SALVO. F.; SALVO, A.; PERA, L. L.; DUGO, G. Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various sicilian olive varieties. **Food chemistry**, n. 101, p. 833-837, 2007.

GÓMEZ-ALONSO, S.; MANCEBO-CAMPOS, V.; SALVADOR, M. D.; FREGAPANE, G. Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. **Food Chemistry**, v.100, p 36-42, 2007.

GÓMEZ-ALONSO, S.; SALVADOR, M. D.; FREGAPANE, G. Phenolic compounds Profile of Cornicabra virgin Olive Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Ciudad Real, n. 50, p.6812-6817, 2002.

GÓMEZ-RICO, AURORA; FREGAPANE, GIUSEPPE; SALVADOR, MARIA DESAMPARADOS. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. **Food Research International**, n. 41, p. 433-40, 2008.

GORDON, M.H.; COVELL, C.; KIRSCH, N. Detection of pressed hazelnut oil in admixtures with virgin olive oil by analysis of polar components. **Journal of American oil Chemists' Society, Champaign**, v.78, n.6, p.621-624, 2001.

GURR, Michael I. ; El papel de los lípidios en La nutrición humana. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p. 505-544.

GUTIÉRREZ, F.; ARNAUD, T.; GARRIDO, A. Contribution of polyphenols to the oxidative stability of virgin olive oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture** (Sevilla), n.81, p. 1463-1470, 2001.

GUTIÉRREZ ROSALES, F. Determinación de la estabilidad oxidativa de aceites de oliva vírgenes: Comparación entre el método del oxígeno activo (A.O.M.) y el método Rancimat. **Grasas y aceites**, Sevilla, v. 40, n.1, p. 1-5, 1989.

GUTIÉRREZ GONZÁLES-QUIJANO,R.; JANER del VALLE, C.; JANER del VALLE, M.L.; GUTIÉRREZ ROSALES, F. Relación entre los polifenoles y la calidad y estabilidad del aceite de oliva virgen. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 28, n. 2, p. 101-106, 1977.

HADORN, H.; ZURCHER, K. Zur bestimmung der oxydationsstabilitat von olen und fetten. **Deutsche Lebensmittel Rundschau** , v.70, n.2, p.57-65, 1974.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, (London), v. 22, n.6, p.475-476, 1973.

HARWOOD, John; SÁNCHEZ Juan. La biosíntesis lipídicas en las aceitunas. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.73-88.

HUANG, S.W.; FRANKEL, E.N.; GERMAN, J.B. Antioxidant activity of  $\alpha$  e  $\gamma$  – tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 42, p.2108 -2114, 1994.

HUSSEIN, L.; ALI, M.; ABOUEHASSAN, A.; GRZESKIEWICZ, S.; CANTELLOPS, D. Assessment of the fatty acid patterns in vegetable oils, fats and fat-rich foods commonly consumed in Egypt. **Grasas y Aceites**, n. 3-4, v.52, p. 163-170, 2001.

INAREJOS-GARCIA, A. M.; ANDROULAKI, A.; SALVADOR, M. D.; FREGAPANE, G.; TSIMIDOU, M. Z. Discussion on the objective evaluation of virgin olive oil bitterness. **Food Research International**. n.42, p. 279-284, 2009.

INMETRO. **Análise da qualidade de azeites comercializados no Brasil**. São Paulo, 2000. Disponível em: [HTTP://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/azeite.asp](http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/azeite.asp). Acesso em 17 de janeiro de 2010.

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. **Norma comercial applicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva** COI/T.15/NC nº 3/Rev. 4, 2009 Madrid, 2010. Disponível em <http://www.internationaloliveoil.gov>. Acesso em: 14 mar. 2010a.

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. **Spectrophotometric investigation in the ultraviolet**. COI/T.20/Doc. Nº19, 2008. Madrid, 2010. Disponível em <http://www.internationaloliveoil.gov>. Acesso em: 14 mar. 2010b.

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. Olive oil. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.gov>. Acesso em: 17 jul. 2010c.

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. Olive. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.gov>. Acesso em: 18 jul. 2010d.

JIMENEZ, A.; HERMOSO, M.; UCEDA, M. Elaboración del aceite de oliva virgen mediante sistema continuo de dos fases. Influencia de las diferentes variables del proceso en algunos parámetros relacionados con la calidad del aceite. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 46, p. 299-306, 1995.

KIRITSAKIS, Apostolos; CHRISTIE, William. Análisis de aceites comestibles. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.135-162.

KRICHENE, D.; ALLALOUT, A.; MANCEBO-CAMPOS, V.; SALVADOR, M. D.; ZARROUK, M.; FREGAPANA, G.; Stability of virgin olive oil and behavior of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. **Food Chemistry**, n.21, p. 171-177, 2010.

LANZÓN, A.; CERT, A.; ALBI, T. Detección de la presencia de aceite de oliva refinado en el aceite de oliva virgen. **Grasas y Aceites**. Sevilla, v. 40, n. 6, p. 385 - 388, 1989.

LÓPEZ-FERIA, S.; CÁRDENAS, S.; GARCÍA-MESA, J. A.; VALCÁRCEL, M.; Classification of extra virgin olive oils according to the protected designation of origin, olive variety and geographical origin. **Talanta** , n. 75, p. 937-943, 2008.

LUCHETTI, Fausto. Introducción al estudio del aceite de oliva: In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.13-32.

LUNA, G.; MORALES, M.T.; APARICIO, R.; Characterization of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. **Food Chemistry**, n. 98, p.243-252, 2006.

MADRID, Antonio Vicente et al. **Legislación y normas sobre el aceite de oliva y las aceitunas de mesa**. 1. ed. Madrid: Mundi-Prensa, 2002. 214p.

MANAI, H.; MAHJOUR-HADDADA, F.; QUESLATI, I.; DOUJA, D.; ZARROUK, M. Characterization of monovarietal virgin olive oils from six crossing varieties. **Scientia Horticulturae**, n 115, p. 252-260, 2008.

MANNINA, L.; FONTANAZZA, G.; PATUMI, M.; ANSANELI, G.; SEGRE, A. Italian and Argentine olive oils: a NMR and gas chromatographic study. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 52, n.6, p.380-388, 2001.

MANZI, P.; PANFILI, G.; ESTI, M.; PIZZOFERRATO, L. Natural antioxidants in the unsaponifiable fraction of virgin olive oils from different cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 77, p. 115-119, 1998.

MARIANI, C.; VENTURINI, S. Individuazione dell'olio di girasole ad alto oleico desterolato nell'olio di oliva II. **La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, Milano, v.74, n.11, p.489-50, Nov, 1997.

MARINOVA, E.M.; YANISHLIEVA, N.V. Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.60, p. 313-318, 1992.

MARTÍNEZ DE VICTORIA, Emilio; MAÑAS, Mariano. El aceite de oliva en la dieta y salud humanas. In: **El cultivo del olivo**; 6.ed. Córdoba: Ed. Mundi-prensa, 2008. p. 777-798.

MÁRSICO, D. F. **Olivicultura y elayotecnia**. Barcelona: Salvat, 1955. 582 p.

MATÍAS, A.C.; LASTA, F.D. **Calidad y estabilidad del aceite de oliva**. Olivo: Estación Experimental Agropecuaria Catamarca, 2001. p. 118 – 123.

MÍNGUEZ-MOSQUERA, M.I.; GARRIDO-FERNANDEZ, J.. Chlorophyll and carotenoid presence in olive fruit (*Olea europaea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.40, p.60-63, 1989.

MAVROMOUSTAKOS, T.; ZERVOU, M.; BONAS, G.; KOLOCOURIS, A; PETRAKIS, P. A novel analytical method to detect adulteration of virgin olive oil by other oils. **Journal of American oil Chemists' Society**, Champaign, v.77, n.4, p.405-411, 2000.

MÉNDEZ, A.I.; FALQUÉ, E. Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. **Food Control**, n.18, p. 521-529, 2007.

MONDELLO, L.; CASILLI, A.; TRANCHIDA, P. Q.; COSTA, R.; CHIOFALO, B.; DUGO, P.; DUGO, G. Evaluation of fast gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry in the analysis of lipids. **Journal of Chromatography A** . ( Messina), n.1035, p.237-247, 2004.

MORALES, Maria Teresa; LÉON-CAMACHO, Manuel. Cromatografía de gases y líquidos: Metodología aplicada al aceite de oliva. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.163- 208.

MORALES, Maria Teresa; PRZYBYLSKI, Román. Oxidación del aceite de oliva. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.442-474.



MORALES, Maria Teresa; TSIMIDOU, Maria. El papel de los compuestos volátiles y los polifenoles en la calidad sensorial del aceite de oliva. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p.380-442.

MORELLÓ, J. R.; MOTILVA, M. J.; RAMO, T.; ROMERO, M. P. Effect of freeze injuries in olive fruit on virgin olive oil composition. **Food Chemistry**, Lleida, n. 81, p. 547-553, 2003.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais**: na indústria de alimentos. 1.ed. São Paulo: Editora Varela, 1998. 150p.

MOYANO, M. J.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; ALBA, J.; HEREDIA, F. J. A comprehensive study on the color of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II) : CIELUV and CIELAB uniform colour spaces. **Food Research International**. n. 41, p. 513-521, 2008.

NORMA EN 14112:2003. Gorduras e Derivados de Óleo - Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos – Determinação de Estabilidade à Oxidação. Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) – Determination of oxidation stability (Accelerated oxidation test), 2003

OLIVEIRA, ADELSON, FRANCISCO; BARCELONAS, MARIA FATIMA, PICCOLO; NETO, JOÃO VIEIRA. Azeite de oliva: conceitos, classificação, usos e benefícios para a saúde humana. **EPAMIG** , n. 40, 2008, 5p.

PARCERISA, J.; CASALS, I.; BOATELLA, J.; CODONY, R.; RAFECAS, M. Analysis of olive and hazelnut oil mixture by high-performance liquid chromatography – atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry compounds ( Tocopherols and sterols). **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.881, p.149-158, 2000.

PARDO, J.E.; CUESTA, M.A.; ALVARRUIZ, A. Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin "Aceite Campo de Montiel" (Ciudad Real, Spain). **Food Chemistry**, v. 100, p. 977-981, 2007.

PASQUALONE A.; CATALANO, M. Free and total sterols in oils. Effects of neutralization. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.51, n.3, p.180-182, 2000.

PEIXOTO, A. R. **Plantas oleaginosas arbóreas: Oliveira**. São Paulo, Nobel, 1973, 282p.

PEIXOTO, E.R.M.; SANTANA, D.M.N.; ABRANTES, S. Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva: Proposta para atualização da legislação brasileira. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, (Campinas), v.18, n. 4, p. 363-470, out./dez. 1998.

PEREIRA, J. A.; OLIVEIRA, M. B. P. P. ; CASAL, S.; ALVES, M.R. Discrimination of Varietal Olive Oils of the Portuguese Cultivars Cobrançosa, Madural and Verdeal Based on their Fatty Acids Composition. **Acta Hort.** n. 582, p. 591594, 2002.

PESTANA, V. R., ZAMBIAZI, R. C., MENDONÇA, C. R., BRUSCATTO, M. H., LERMA-GARCIA, M. J.; RAMIS-RAMOS, G. Quality changes and tocopherols and  $\gamma$ -orizanol concentrations in rice bran oil during the refining process. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 85, p. 1013–1019, 2008.

PHILLIPS, K. M.; RUGGIO, D. M. ; TOIVO, J. I.; SWANK, M. A.; SIMPKINS, A. H. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.15, p.123-142, 2002.

POIANA, M.; MINCIONE, A.; Fatty acids evolution and composition of olive oils extracted from different olive cultivars grown in Calabrian area. **Grasas y Aceites** (Sevilla), n.3, v.55, p. 282-290, 2004.

PSOMIADOU, E.; KARAKOSTAS, K.X.; BLEKAS, G.; TSIMIDOU, M.Z.; BOSKOU, D. Proposed parameters for monitoring quality of virgin olive oil (Koroneiki cv). **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 105, p. 403-410, 2003.

PSOMIADOU, E.; TSIMIDOU, M.; BOSKOU, D.  $\alpha$ -Tocopherol content of Greek virgin olive oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, p.1770-1776, 2000.

RALLO, L.; BARRANCO, D.; CABALLERO, J. M.; DEL RÍO, C.; MARTÍN, A.; TOUS, J.; TRUJILLO, I. **Variedades de olivo en España**. 1.ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004. 478p.

RALLO, Luis; CUEVAS, Julián. Fructificación y Producción. In: BARRANCO, Fernández-Escobar y Rallo. **El cultivo del olivo**. Córdoba: Ediciones Mundi-prensa, 2004. p. 129-161.

RANNALLI, A.; LUCERA, L.; CONTENTO, S.; SIMONE, N.; DEL RE, P. Bioactive constituents, flavors and aromas of virgin oils obtained by processing olives with a natural enzyme extract. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, p. 187- 194, 2004.

RANNALLI, A. Carotenoids in virgin olive oil, effect of technology. **Italian Journal of Food Science**. v. 1, p. 53 – 59, 1992.

RAPOPORT, Hava F. Botánica Y Morfología. In: BARRANCO, Fernández-Escobar y Rallo. **El cultivo del olivo**. Córdoba: Ediciones Mundi-prensa, 2004. p. 38-62.

RAUEN-MIGUEL, A.M.O.; ESTEVES, W.; STAGENHAUSS, G.; BARRERA-ARELLANO, D. Estudo da variabilidade experimental do período de indução de óleo de soja determinado através do Rancimat. **Boletim da SBCTA**, v.23, n.3/4, p.201-207, 1989.

SALVADOR, M.D.; ARANDA, F.; GOMEZ-ALONSO, S.; FREGAPANE, G. Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: A study of five crop seasons. **Food Chemistry**, v. 80, p. 359-361, 2003.

SALVADOR, M.D.; ARANDA, F.; GÓMEZ-ALONSO, S.; FREGAPANE, G. Quality characteristics of Cornicabra virgin olive oil. **Res.Adv. In Oil Chemistry**, v. 1, p. 31-39, 2000.

SALVADOR, M.D.; ARANDA, F.; FREGAPANE, G. Chemical composition of commercial Cornicabra virgin olive oil from 1995/96 and 1996/97 crops. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 75, p. 1305-1309, 1998.

SÁNCHEZ, Juan; SALAS Joaquin J. Biogénesis Del aroma Del aceite de oliva In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: ed. Mundi-Prensa, 2003. p.89-108.

SANCHOS, J.; BOTA, E.; DE CASTRO, J.J.; **Análisis sensorial de los alimentos**. 1 ed. Barcelona: Alfaomega, 2002. 336p.

SINELLI, N.; CERRETANI, L.; EGIDIO, V. D.; BENDINI, A.; CASIRAGHI, E. Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. **Food Research International**, n. 43, p. 369-375, 2010.

STATSOFT . **Statistica for windows**: computer program manual. Tulsa, 1998. Software version 6.0.

TARANDJIISKA, R. B.; MAREKOV, I. N. Precise classification of virgin olive oils with various linoleic acid contents based on triacylglycerol analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v.364, p.83-91, 1998.

TEMIME, S. B.; MANAI, H.; METHENNI, K.; BACCOURI, B.; ABAZA, L.; DAOUD, D.; CASAS, J. S.; BUENO, E. O.; ZARROUK, M. Sterolic composition of Chétoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. **Food Chemistry**, n. 110, p. 368-374, 2008.

TSIMIDOU, M. ; BOSKOU, Dimitrios. Análisis del aceite de oliva. In: **Química y tecnología del aceite de oliva**: 1.ed. Madrid: Mundi-prensa, 1998.p. 165-186.

TOUS, J.; ROMERO, A.; PLANA, J. Comportamento agronômico y commercial de cinco variedades de olivo en Tarragona. **Investigacion Agrária**: Produccion y Proteccion Vegetable, (Madrid), v. 13, n. ½, p. 97-109, 1998.

TOUS, J.; ROMERO, A.; PLANA, J.; GUERRERO, L.; DÍAZ, I.; HERMOSO, F. Características de los aceites de oliva virgen de la variedad 'Arbequina'. **Fruticultura Profesional**:( Barcelona), v. 2, n. 88, p. 57-58, 1997.

UCEDA, Marino; HERMOSO, Manuel; AGUILERA, María Paz. La calidad del aceite de oliva. In: **El cultivo del olivo**; 6.ed. Córdoba: Ed. Mundi-prensa, 2008. p. 699-727.

UCEDA, M.; JIMÉNEZ, A.; BELTRÁN, G.; GARCIA-ORTIZ, C.; AGUILERA, M.P. Elaboração de azeite de oliva de qualidade. **Informe Agropecuário**, (Belo Horizonte), v. 27, n. 231, p. 90-96, mar. /abr. 2006.

URSELL, A. **Guía completa de los alimentos saludables**. Madrid: Raíces, 2001. 256 p.

VARELA, Gregorio; RUIZ-ROSO, Baltasar. Alguno aspectos nutricionales del aceite de oliva. In: **Manual del aceite de oliva**: Madrid: Mundi-Prensa, 2003. p. 545-562.

VAZ-FREIRE, L.; GOUVEIA, J. M. J.; FREITAS, A. M. C. Analytical characteristics of olive oils produced by two different extraction techniques, in the Portuguese olive variety 'Galega Vulgar'. **Grasas y Aceites** (Évora), n.3, v.59, p. 260-266, 2008.

VÁZQUEZ RONCERO, A.; JANER del VALLE, C.; JANER del VALLE, M.L. Determinación de los polifenoles totales del aceite de oliva. **Grasas y aceites**, Sevilla, v. 24, n.6, p. 350-357, 1973.

VÁZQUEZ RONCERO, A.; MAESTRO DURÁN, R.; GRACIANI CONSTANTE, E. Cambios de los polifenoles de la aceituna durante la maduración. **Grasas y aceites**, Sevilla, v. 22, n.5, p. 366-370, 1971.

WALKYRIA, A. B.; LARA, H.; NAZÁRIO, G.; ALMEIDA, M. E. W.; PREGNOLATTO, W. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2. ed. Editoração: D. D. E. Rebocho, 1976. 376 p.

WOESTENBURG, W.J.; ZAALBERG, J. Determination of the oxidative stability of edible oils - interlaboratory test with the automated Rancimat method. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v.88, n.2, p.53-56, 1986.

ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. Foods and Nutritional. Sciences Interdepartamental Program. University of Manitoba Winnipeg, Canada. April 1997. 304 p.

## **ANEXOS**

**Anexo A.** Limites da concentração de esteróis no azeite de oliva virgem estabelecidos pelo Conselho Oleícola Internacional (IOOC, 2010 a)

ESTERÓIS	CONCENTRAÇÃO
Colesterol	≤ 0,5 %
Brasicasterol	< 0,1 %
Campesterol	≤ 0,4 %
Estigmasterol	≤ 0,4 %
β-sitosterol *	≤ 93,0 %
δ-7-Estigmastenol	≤ 0,5 %
Esteróis totais	≥ 1000 mg.Kg <sup>-1</sup>

(\*) β-Sitosterol é a soma dos esteróis δ-5,23 estigmastadienol, clerosterol, β-sitosterol, sitostanol, δ-5-avenasterol e δ-5,25 estigmastadienol.

**Anexo B.** Limites de tolerância de acidez, índice de peróxidos e das absorções relativas a 232 e 270 nm para azeites de oliva

Tipos	Acidez	IP*	K 232nm**	270nm***
	(% ác. Oléico)	(meq O <sub>2</sub> /Kg)		
Azeite de oliva virgem extra	≤ 0,8	≤ 20,0	≤ 2,50	≤ 0,22
Azeite de oliva virgem	≤ 2,0	≤ 20,0	≤ 2,60	≤ 0,25
Azeite de oliva	≤ 1,0	≤ 15,0	*	≤ 0,90
Azeite de oliva refinado	≤ 0,3	≤ 5,0	*	≤ 1,10
Óleo de bagaço de oliva	≤ 1,0	≤ 15,0	*	≤ 1,70
Óleo de bagaço de oliva refinado	≤ 0,3	≤ 5,0	*	≤ 2,00

FONTE: Portaria 419 (BRASIL, 2010);

\* Índice de Peróxidos; \*\* Absorção específica a 232 nm; \*\*\* Absorção específica a 270 nm



**Anexo C.** Perfil de ácidos graxos (área % relativa) do azeite de oliva.

Nomenclatura	Ácido graxo	g/100g
Mirístico	C14:0	≤ 0,05
Palmítico	C16:0	7,5 – 20,0
Palmitoléico	C16:1	0,3 – 3,5
Heptadecanóico	C17:0	< 0,3
Heptadecenóico	C17:1	< 0,6
Estearico	C18:0	0,5 – 5,0
Oléico	C18:1	55,0 – 83,0
Linoléico	C18:2	3,5 – 21,0
Linolênico	C18:3	≤ 0,9
Araquídico	C20:0	≤ 0,6
Eicosonóico	C20:1	≤ 0,4
Behênico	C22:0	≤ 0,2
Lignocérico	C24:0	≤ 0,2

FONTE: International Olive Oil Council (IOOC, 2010c)