

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



Dissertação

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
AZEITES DE OLIVA PRODUZIDOS NO RIO GRANDE DO SUL**

Janice de Moura Rodeghiero

Pelotas, 2016

JANICE DE MOURA RODEGHIERO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
AZEITES DE OLIVA PRODUZIDOS NO RIO GRANDE DO SUL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, da Faculdade de Agronomia Eliseu
Maciel da Universidade Federal de Pelotas,
como requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi
Coorientador: Prof^a. Dr^a. Carla Rosane B. Mendonça

Pelotas, 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R687c Rodeghiero, Janice de Moura

Caracterização físico-química e atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul / Janice de Moura Rodeghiero; Rui Carlos Zambiasi, orientador ; Carla Rosane B. Mendonça, coorientadora. - Pelotas, 2016.

80 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Fitoquímicos. 3. Cultivares. 4. Origem de produção. I. Zambiasi, Rui Carlos, orient. II. Mendonça, Carla Rosane B., coorient. III. Título.

CDD: 664

Janice de Moura Rodeghiero

Caracterização físico-química e atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no rio grande do sul

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia em Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia em Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 11/02/2016

Banca examinadora:

Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi
Doutor em Food and Nutritional Science pela University of Manitoba

Prof. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça
Doutor em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr^a. Mariângela Hoffmann Bruscatto
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr^a. Fabiana Lemos Goularte Dutra
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Universidade Federal de Pelotas

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus por sempre ter me dado força e guiado meu caminho para continuar minha caminhada.

Em especial os meus pais Marcia B. de Moura e Alcion T. de Moura que não mediram esforços para que eu conseguisse alcançar os meus objetivos, pelo amor, carinho, apoio e por sempre terem acreditado que eu iria conseguir. O amor e a admiração que tenho por eles são infinitos, pelos exemplos de educação, dedicação, amor e apoio que recebi em todos os momentos da minha vida.

Às minhas irmãs Fernanda e Franciele pelo carinho, apoio e incentivo.

Ao meu marido, Giovane Rodeghiero, pelo amor, incentivo, apoio e companheirismo em todos os momentos e por não me deixar desanimar diante das dificuldades.

Ao professor Rui Carlos Zambiasi pela orientação, ensinamentos e pela oportunidade para que este trabalho fosse realizado.

À professora Carla Mendonça pela dedicação, paciência, apoio, ensinamentos, oportunidades e pela ajuda.

Às colegas e amigas do DCTA, em especial Josiane Kuhn Rutz e Michele Crizel-Cardozo que sempre me ajudaram quando eu precisei, a ajuda de vocês foi fundamental para a elaboração deste trabalho.

Às estagiárias pela ajuda.

À todos os meus amigos, por sempre terem torcido por mim.

À todos os colegas, professores e funcionários do DCTA.

Aos participantes da banca pela disposição de participarem.

À UFPEL, CCQFA e DCTA pela oportunidade para a realização deste trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa.

À FAPERGS pelo apoio financeiro.

Resumo

MOURA-RODEGHIERO, Janice. **Caracterização físico-química e atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul**. 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2016.

Dentre os óleos vegetais comestíveis, o azeite de oliva (*Olea europaea*) é um dos mais importantes e um dos mais antigos produzidos no mundo: é o óleo obtido a partir do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos. Praticamente todo azeite de oliva consumido no Brasil é importado de países europeus e sul-americanos, pois a produção de azeite comercial no Brasil ainda é recente. Apesar da produção de azeite no Brasil ser pequena, o produto obtido tem se destacado pela qualidade. Para que o azeite seja comercializado no Brasil, este produto precisa estar dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente. Assim objetivou-se analisar as características físico-químicas, incluindo o conteúdo de fitoquímicos e a atividade antioxidante dos azeites de oliva obtidos de diferentes cultivares de azeitonas e regiões do estado do Rio Grande do Sul. Foram analisados azeites da safra 2012/2013, provenientes de três cidades do Rio Grande do Sul, sendo as cultivares Grappolo, Galega, Maurino, Pendolino e Grigman provenientes da cidade de Bagé, as cultivares Picual, Coratina, Carboncella, Blanqueta, Mission e Ascolana provenientes da cidade de Pelotas e ainda duas cultivares Arbosana e Arbequina provenientes da cidade de Uruguaiana. O perfil fitoquímico foi bastante variado entre os azeites, entretanto, o azeite de oliva da cultivar Grigman proveniente da cidade de Bagé foi o azeite que apresentou maior conteúdo de fitoquímicos em relação as demais cultivares, em contrapartida o azeite da cultivar Carboncella proveniente de Pelotas apresentou o menor conteúdo total de fitoquímicos. Houve diferença estatística em todas as análises entre praticamente todas as amostras avaliadas, sugerindo que o fator mais determinante no perfil químico do azeite é a cultivar de origem, ou ainda outros fatores como estágio de maturação do fruto. Foi possível observar que o fator genético contribuiu significativamente sobre o perfil fitoquímico dos azeites analisados. Ainda, o confronto dos dados obtidos com os preconizados na legislação, permitiu constatar que apenas o azeite de oliva da cultivar Blanqueta não se enquadrou dentro da classificação “extra virgem”, por ter mostrado teor de acidez superior 0,8%, classificando-se como azeite de oliva “virgem”.

Palavras-chave: fitoquímicos; cultivares; origem de produção.

Abstract

MOURA-RODEGHIERO, J. **Physicochemical characterization and antioxidant activity of olive oil produced in Rio Grande do Sul**. 2016. 80 f. Dissertation (Master in Food Science and Technology) - Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas. 2016.

Among the edible vegetable oils, olive oil (*Olea europaea*) is one of the most important and one of the oldest produced in the world: it is the oil obtained from the fruit of the olive tree solely by mechanical or other physical means. Virtually all olive oil consumed in Brazil is imported from European and South American countries, for the production of commercial oil in Brazil is recent. Despite the oil production in Brazil is small, the product obtained has stood for quality. So that the oil is marketed in Brazil, this product must be within the standards required by law. Thus it aimed to analyze the physical and chemical characteristics, including the content of phytochemicals and antioxidant activity of olive oils obtained from different cultivars of olives and regions of the state of Rio Grande do Sul. Oils were analyzed for the 2012/2013 harvest, from three cities of Rio Grande do Sul, and the Grappolo cultivars, Galician, Maurino, Pendolino and Grigman from the city of Bage, the Picual cultivars Coratina, Carboncella, Blanqueta, Mission and Ascolana from the city of Pelotas and also two Arbosana cultivars and Arbequina from the city of Uruguaiana. The phytochemical profile was quite varied among oils, however, olive oil cultivar Grigman from the city of Bage was the olive oil with the highest content of phytochemicals in relation to the other cultivars, however the oil cultivar Carboncella from Pelotas presented the lowest total content of phytochemicals. There were statistical differences in all analyzes of virtually all samples, suggesting that the most determining factor in the chemical profile of the oil is to cultivate source, or other factors such as the maturation stage. It was observed that the genetic factor contributed significantly on the phytochemical profile of the analyzed oils. Still, the comparison of data with those established in the legislation, it was established that only the olive oil cultivar Blanqueta did not fit within the classification "extra virgin" for showing content of more than 0.8% acidity and classified "virgin" olive oil.

Keywords: phytochemicals; cultivars; production source

Lista de Figuras

Figura 1	Fluxograma do processo de extração do azeite de oliva.....	20
Figura 2	Reação de esterificação e formação de triacilglicerol e água.....	26
Figura 3	Estrutura dos Glicerofosfolipídeos.....	27
Figura 4	Estrutura dos esfingolipídeos.....	28
Figura 5	Estruturas de alguns compostos fenólicos encontrados em azeite de oliva virgem. Identificação: 1) Ácido Gálico; 2) Ácido phidroxibenzoico; 3) Ácido 3,4-dihidroxibenzoico; 4) Ácido Vanílico; 5) Ácido Cinâmico; 6) Ácido Cafeico; 7) Ácido p-cumárico; 8) Ácido Ferrúlico; 9) Tirosol; 10) Hidroxitirosol; 11) Luteolina; 12) Apigenina; 13) Oleuropeína Glicosídeo.....	30
Figura 6	Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis.....	31
Figura 7	Estrutura química da clorofila a e b.....	32
Figura 8	Estrutura química dos carotenoides licopena e luteína.....	33
Figura 9	Estrutura básica de um esteroide – Ciclopentanoperidrofenantreno...	34
Figura 10	Estrutura química de alguns fitoesteróis.....	34
Figura 11	Perfil cromatográfico dos ácidos graxos que constituem o azeite de oliva cv. Arbosana, utilizando cromatógrafo gasoso Perkin Elmer Clarus 500, equipado com detector FID a 250°C e coluna ID Carbowax 20M à temperatura inicial de 90°C e final de 230°C. Os picos correspondem aos ácidos: 1) Palmítico; 2)Palmitoléico; 3) Margaroleico 4) Esteárico; 5) Oleico; 6) Linoleico; 7) Linolênico; 8) Gadoleico 9) Lignocérico.....	46
Figura 12	Cromatograma típico de separação de δ -, β + γ - e α - tocoferóis em azeite de oliva cv. Coratina por HPLC, utilizando coluna de fase reversa RP-18CLS-ODS, gradiente de metanol:acetonitrila:isopropanol e detector de fluorescência, utilizando comprimento de onda de 290 nm para excitação e de 330 nm para a emissão. Os picos correspondem a: 1) δ -tocoferol; 2) β + γ -tocoferol e 3) α -tocoferol.....	53

Figura 13	Cromatograma típico de separação do β -sitosterol em azeite de oliva cv. Maurino, utilizando HPLC, equipado com coluna de fase reversa RP-18CLS-ODS. A separação foi realizada por eluição isocrática de metanol e a identificação por detector UV-Vis a 205 nm.....	56
Figura 14	Correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos com a atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul.....	61
Figura 15	Correlação entre o conteúdo de α -tocoferol com a atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul.....	62

Lista de Tabelas

Tabela 1	Dados geográficos e climáticos das regiões de cultivo das azeitonas nos anos de 2012/2013.....	36
Tabela 2	Parâmetros de qualidade dos azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.....	42
Tabela 3	Percentual relativo de ácidos graxos nos azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013).....	47
Tabela 4	Teor de compostos fenólicos em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.....	50
Tabela 5	Conteúdo de pigmentos em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.....	51
Tabela 6	Conteúdo de tocoferóis em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.....	54
Tabela 7	Conteúdo de β -sitosterol em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.....	57
Tabela 8	Atividade antioxidante equivalente ao TROLOX (TEAC) pelo método ABTS em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo...	59

Sumário

1	Introdução	12
2	Objetivos	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	Revisão Bibliográfica.....	15
3.1	Oliveira.....	15
3.1.1	Cultivares de oliveiras.....	16
3.2	Azeite de Oliva	17
3.2.1	Importância do azeite na saúde.....	18
3.2.2	Extração azeite de oliva.....	19
3.2.3	Tipos de Azeites	21
3.2.4	Fatores que afetam a qualidade do azeite.....	23
3.2.5	Composição química do azeite.....	24
3.2.5.1	Fração saponificável	24
3.2.5.2	Fração insaponificável	28
4.	Materiais e Métodos.....	36
4.1	Materiais	36
4.1.1	Azeite de oliva	36
4.2	Análises	37
4.2.1	Teor de acidez	37
4.2.2	Coeficiente de extinção específica K_{232} e K_{270}	37
4.2.3	Perfil de ácidos graxos.....	37
4.2.4	Compostos fenólicos.....	38
4.2.5	Clorofila.....	38
4.2.6	Carotenoides	39

4.2.7 Tocoferóis	39
4.2.8 Fitosteróis	40
4.2.9 Atividade antioxidante – ABTS	40
4.3 Análise estatística	41
5 Resultados e Discussões	42
5.1 Análises de qualidade	42
5.2 Ácidos graxos.....	45
5.3 Compostos Fenólicos.....	49
5.4 Pigmentos	51
5.5 Tocoferóis	53
5.6 Fitoesteróis	55
5.7 Atividade antioxidante	58
5.7.1 Análise de correlação de Person.....	60
6 Conclusão	64
7 Referências Bibliográficas	65

1 Introdução

Óleos e gorduras constituem uma das três maiores classes de nutrientes presentes em produtos alimentícios, sendo importantes para a alimentação humana, juntamente com as proteínas e os carboidratos. Entretanto, os óleos vegetais têm substituído a gordura animal na maioria das dietas alimentares. A mudança, aprovada pelos consumidores, é devido, principalmente, a seus benefícios nutricionais (MODOLO, 2007; SILVA et al., 2015).

Dentre os óleos vegetais comestíveis comercializados mundialmente, o azeite de oliva (*Olea europaea*) é um dos mais importantes e antigos produzidos no mundo. Azeite de oliva virgem consiste no óleo obtido a partir do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, que não alterem o óleo, tornando-o diferente de outros óleos vegetais, uma vez que, normalmente, os demais óleos são extraídos com a utilização de solventes e passam por etapas de refino (ALVES, 2010; GENOVESE et al., 2015).

Embora a cultura da oliveira seja nativa da bacia do Mediterrâneo e os produtores de azeitona líderes incluem países como a Espanha, Itália, Tunísia e Grécia, o seu consumo está aumentando em muitas outras regiões do mundo. O crescente destaque mundial do azeite é promovido por seu perfil sensorial distinto e altamente valorizado, bem como por suas propriedades benéficas à saúde (RAMOS-GÓMES et al., 2015; RAFFO et al., 2015).

Entre os principais responsáveis pelos benefícios à saúde estariam o equilíbrio entre ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados, e seu elevado teor de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos e tocoferóis, que também apresentam importante papel na estabilidade oxidativa dos azeites (CRIZEL-CARDOSO, 2014; CALDAS et al., 2012).

Segundo dados do Conselho Oleícola Internacional a produção mundial na safra 2014/2015 foi de aproximadamente 2,38 milhões de toneladas de azeite. As importações brasileiras de azeite somaram, de janeiro a agosto de 2015 o equivalente a cerca de 42 mil toneladas do produto (IOC, 2015).

Praticamente todo azeite consumido no Brasil é importado de países europeus e sul-americanos, pois a produção de azeite comercial no Brasil ainda é pequena por ser muito recente. O Brasil começou a cultivar experimentalmente diferentes variedades de oliveiras para determinar aquelas mais adaptáveis, com base nos efeitos de suas condições edafo-climáticas sobre a produtividade da planta, tendo definido apenas nos últimos anos algumas cultivares mais promissoras (BALLUS et al., 2015).

Apesar da produção de azeite no Brasil ser pequena, o produto obtido tem se destacado pela qualidade. Em um teste realizado em novembro de 2013 pela Associação Brasileira de Defesa do Consumidor (PROTESTE) entre marcas de azeites extra virgens, envolvendo 19 produtos disponíveis no mercado nacional, o azeite produzido no Rio Grande do Sul obteve a melhor avaliação (EPAMIG, 2013).

Para que o azeite seja comercializado no Brasil, precisa estar dentro dos padrões exigidos pela legislação através da Instrução Normativa Nº 1, de 30 de janeiro de 2012, que estabelece o “Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva”. O regulamento técnico tem por objetivo definir o padrão oficial de classificação do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva, considerando seus requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto (SILVA et al., 2012; BRASIL, 2012).

A qualidade dos azeites de oliva está diretamente associada a sua composição química, a qual depende de fatores agronômicos, condições edafo-climáticas, variedade e do estado de maturação da azeitona, de fatores tecnológicos relacionados com a extração, como o método e tipo de equipamentos utilizados, bem como das condições de colheita, armazenamento e transporte do produto (JORGE, 2013; DIAS, 2009).

2.1 Objetivo Geral

Analisar as características físico-químicas, incluindo o conteúdo de fitoquímicos e a atividade antioxidante, dos azeites de oliva oriundos de diferentes cultivares de azeitonas e regiões do estado do Rio Grande do Sul.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar os azeites das cultivares Grappolo, Galega, Maurino, Pendolino e Grigman, provenientes da cidade de Bagé; Picual, Coratina, Carboncella, Blanqueta, Mission e Ascolana, provenientes da cidade de Pelotas; além de Arbosana e Arbequina, provenientes da cidade de Uruguaiana.
- Determinar parâmetros de qualidade e perfil de ácidos graxos dos azeites.
- Identificar o teor dos pigmentos (clorofila e carotenoides), vitamina E, fitoesteróis e compostos fenólicos totais nas amostras.
- Avaliar a atividade antioxidante dos azeites.
- Identificar a existência de correlação entre alguns fitoquímicos e a atividade antioxidante.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Oliveira

O cultivo de oliveiras começou cerca de 6.000 anos. A teoria predominante sugere que a sua domesticação iniciou no Mediterrâneo oriental. Um relatório conjunto de arqueólogos jordanianos e franceses indicou que uma antiga vila da Jordânia (Hadeib Al-Reeh) poderia ser o local mais antigo do cultivo da oliveira no mundo (BRAKE et al., 2014).

No Brasil, a oliveira foi introduzida há quase dois séculos pelos imigrantes europeus, mas sem fins comerciais. Hoje pode ser encontrada com mais frequência nas regiões Sul e Sudeste (Minas Gérias, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) (COUTINHO et al., 2009; EPAMIG, 2006).

Pertencente à família botânica Oleaceae, a oliveira (*Olea europaea* Linné.) é uma árvore dicotiledônia, sendo a única espécie desta família que possui frutos comestíveis. Típica da bacia mediterrânica, bem adaptada ao clima subtropical e temperado, requer luz de alta intensidade e solo aerado (ALVES, 2010; MELLO; PINHEIRO, 2012; RAMALHEIRO, 2009).

A oliveira é uma árvore polimórfica, apresenta médio porte (máximo 10 m), troncos tortuosos, formato arredondado, e folhagem persistente de coloração verde-acinzentada, que varia de cor de acordo com a cultivar e geralmente apresenta cerca de 5-6 cm de comprimento e 1-1,5 cm de largura no meio da folha, com bordas lisas e um curto pedúnculo (PIMENTEL, 2010; JESUS, 2013; SILVA, 2011a).

O fruto da oliveira, denominado azeitona, tem seu desenvolvimento semelhante ao da maioria dos frutos com caroço; que começa com a fase do aparecimento de botões florais, seguido de polinização, fertilização, frutificação, desenvolvimento e amadurecimento. Embora morfológicamente a azeitona não seja diferente de outras frutas, sua composição química e características sensoriais são muito peculiares (QUILES et al., 2006; JESUS, 2013).

da variedade, podendo apresentar entre 1 e 4 cm de comprimento e diâmetro de 0,6 a 2 cm. Possui uma só semente e é composta de três tecidos fundamentais: endocarpo, que corresponde ao caroço, o mesocarpo, à polpa e o exocarpo, à pele (RAPOPORT, 2008). O fruto contém cerca de 50% de água, 20% de óleo e 20% de carboidratos (substâncias pécnicas, celulose e hemicelulose), além de ácidos orgânicos, pigmentos, compostos fenólicos e minerais (NAJAFIAN et al., 2009).

A oliveira apresenta ciclo vegetativo anual, portanto produz frutos uma vez ao ano, sendo o período da maturação do fruto marcado pelo aparecimento das primeiras manchas de cor violeta na epiderme da azeitona: no entanto, no estágio final de amadurecimento a cor negra constitui a totalidade da epiderme. É da azeitona que se obtém o valor comercial da cultura da oliveira, tanto pela obtenção do azeite como pela industrialização da azeitona de mesa, ambos com grande importância econômica, principalmente nos países do mediterrâneo (JESUS, 2013; RAMALHEIRO, 2009).

3.1.1 Cultivares de oliveiras

Existem inúmeras cultivares de azeitonas, as quais proporcionam diferentes características ao azeite. Os azeites de alta qualidade são geralmente obtidos a partir de misturas varietais, a fim de equilibrar os componentes de sabor e flavour, favorecendo possibilidades ilimitadas de características nos azeites (CALDERÓN, 2009a; VOSSEM, 2007b).

Cada cultivar proporciona ao azeite uma característica específica, recebe destaque a composição em ácidos graxos, porém a quantidade de polifenóis, compostos aromáticos, entre outros componentes, que associados a fatores como maturação dos frutos e técnicas de processamento, também influenciam de sobremaneira, gerando os tipos diferentes de azeites, cada um com suas características únicas de sabor e estabilidade (VOSSEN, 2007a).

É possível dizer que nenhuma cultivar de oliveira reúne todas as características desejáveis de cultivo e características do produto. Entre os fatores negativos, podem-se citar: fruto pequeno; susceptibilidade a doenças; e a elevada resistência ao desprendimento da planta, que dificulta a colheita mecanizada. Estes

aspectos representam alguns empecilhos para a difusão das principais cultivares (CARDOSO, 2006; JORGE, 2010).

A quantidade e qualidade de óleo são altamente dependentes da cultivar. A maioria das cultivares de oliveira apresenta teor de óleo de 10 a 35% do seu peso fresco em plena maturidade, entretanto cultivares com um rendimento médio de óleo inferior a 20%, geralmente não são economicamente rentáveis para a produção de azeite (SIBBETT; FERGUSON, 2005).

3.2 Azeite de Oliva

Obtido a partir dos frutos da oliveira, o azeite de oliva é definido como o óleo produzido apenas por processos mecânicos sem qualquer outro tratamento químico. Uma vez que nenhum processo de refinamento está envolvido em sua produção, os valores nutricionais e sensoriais dos azeites são bem preservados, pois os compostos minoritários, originalmente presentes no fruto da oliveira, ficam retidos no azeite, diferentemente de outros óleos vegetais, em que estes compostos são total ou parcialmente removidos durante as diferentes etapas de refino (UNCU; OZEN, 2015; GENOVESE et al., 2015).

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. A principal diferença entre as denominações “azeite” e “óleo”, está relacionada à matriz e o processo de extração. No primeiro caso, a extração se faz dos frutos apenas por processos físicos, sem refino, no segundo caso o óleo é extraído do bagaço com a utilização de solventes e subsequente refino (CARDOSO, 2006; BRASIL, 2012).

Devido aos benefícios para a saúde e as características sensoriais, que advêm da sua composição, o azeite de oliva, dentre os óleos vegetais comestíveis comercializados mundialmente, é um dos mais importantes e antigos do mundo, sendo largamente usado nos países que margeiam o Mediterrâneo. É raro existir, dentre os óleos vegetais não refinados, um “flavour” mais apreciado do que o do azeite de oliva extra virgem ou virgem (MODOLO, 2007; CARDOSO et al., 2010).

Uma vez que o azeite é um produto natural, este possui uma composição química variável, que é influenciada pela variedade e o grau de maturação das

azeitonas, bem como as condições agronômicas (condições edafo-climáticas) e características tecnológicas de produção (CARAPINHA, 2012).

3.2.1 Importância do azeite na saúde

Os benefícios para a saúde do azeite de oliva têm sido positivamente correlacionados tanto com a composição em ácidos graxos, como com a presença de componentes minoritários, em particular, com a elevada concentração de compostos fenólicos (BECCARIA et al., 2016).

Existem evidências de que a dieta mediterrânea está associada com a redução de doenças cardiovasculares, obesidade, síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e hipertensão. Estudos demonstraram ainda que esta dieta produz melhoras nos fatores de risco cardiovasculares, pressão arterial, disfunção endotelial, estresse oxidativo, e nos perfis antitrombóticos (HU, 2003).

Estudos observacionais têm sugerido que a dieta rica em ácidos graxos monoinsaturados tem efeito protetor contra o declínio cognitivo relacionado à idade e doença de Alzheimer (SCARMEAS et al., 2006; SCARMEAS et al., 2009).

Baseado em dados estatísticos observa-se que em países onde a população adere a dieta mediterrânea, como Espanha, Grécia e Itália, tendo o azeite de oliva como a principal fonte de gordura, as taxas de incidência de câncer são mais baixas do que nos países do norte da Europa, além de ocorrer maiores índices de longevidade saudável (TOLEDO et al., 2015).

Schroder et al. (2004) e Mendez et al. (2006) sugerem que o consumo de quantidades significativas de azeite de oliva com altos níveis de ácidos graxos monoinsaturados esteja associado com a diminuição das taxas de obesidade. Schwartz et al. (2008) propõe que esta taxa esteja associada ao maior efeito saciante do azeite de oliva, devido a produção de oleoetanolamina (mensageiro lipídico de saciedade) ser ativada pela absorção do ácido oleico.

Há também estudos demonstrando que ingestão de azeite de oliva está associada a prevenção do diabetes. Segundo Santos et al. (2006) Martinez-Gonzalez et al. (2008) e Picinato et al. (1998) a sensibilidade à insulina é significativamente melhorada e está associada com a ingestão de uma dieta rica em

ácidos graxos monoinsaturados, principalmente em ácido oleico, em comparação àquelas ricas em gorduras saturadas.

Segundo Santos et al. (2012) além dos ácido graxos minoinsaturados, o azeite de oliva contém os ácidos graxos polinsaturados ω -6 (ácido linoleico C18:2) e ω -3 (ácido linolênico C18:3). Os ácidos graxos ω -3 podem diminuir as concentrações de triglicerídeos e os ácidos graxos da série ω -6, quando consumidos em elevadas quantidades, podem provocar pequenas reduções nas concentrações séricas de HDL.

3.2.2 Extração do azeite de oliva

A produção de azeite envolve uma série de etapas que vão desde a colheita das azeitonas até ao armazenamento do azeite, passando por transformações que permitem a sua obtenção e asseguram a qualidade do produto (FERNANDES, 2014).

Existem duas formas básicas de extração do azeite de oliva. O método mais antigo e tradicional que faz uso da aplicação de pressão contínua para a extração do azeite, que embora resulte em azeites de ótima qualidade, pois suas características são preservadas, é um método que proporciona baixo rendimento. Atualmente este método esta sendo substituído por processos modernos de extração, que se utilizam de variações de temperatura e pressão, ou de moagem com subsequente centrifugação. Desta forma, o método tradicional de prensagem a frio quase não se aplica mais (MÁXIMO, 2013).

O método mais utilizado nas indústrias baseia-se em um processo contínuo de três fases, conforme demonstrado no fluxograma a seguir (Figura 1).

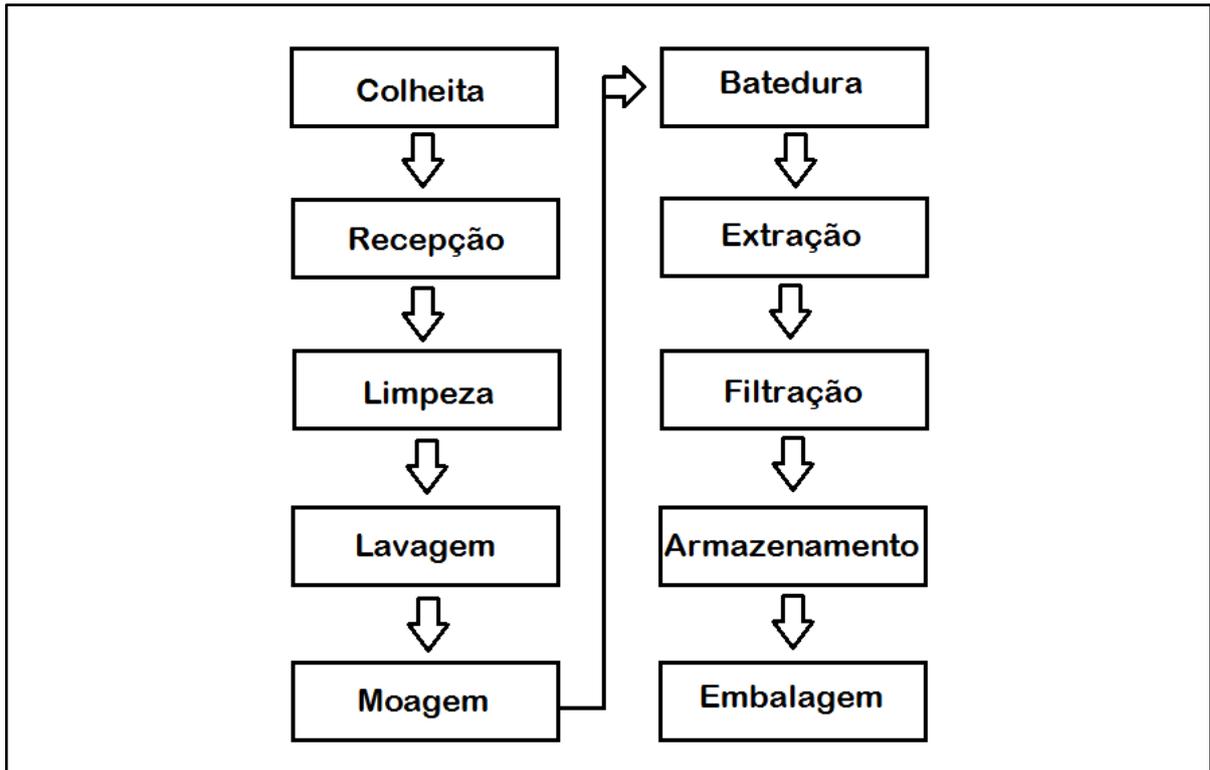


Figura 1- Fluxograma do processo de extração do azeite de oliva.
 Fonte - Adaptado de CAMPOS, 2013.

No Brasil a colheita dos frutos inicia em março, estendendo-se até junho, devido a maturação gradual dos frutos (COUTINHO et al., 2009). De acordo com Lima (2015) a colheita de azeitonas pode ser realizada de forma manual ou mecanizada. Atualmente a colheita mecanizada apresenta-se como forma mais rentável e vantajosa.

Após a colheita as azeitonas devem ser transportadas rapidamente até ao local de processamento (lagar), não devendo permanecer por intervalos superiores a 24 horas, para evitar que os frutos sejam danificados ou que fermentem. Ao chegarem ao lagar ocorre a seleção das azeitonas, que é realizada de acordo com a sua sanidade, cultivar e estado de maturação, de forma a não comprometer a qualidade do azeite (ALVES, 2013).

Os frutos firmes e sem danos físicos, seguem para o processo de limpeza, em que são retiradas as impurezas como folhas, ramos e materiais sólidos. Posteriormente são lavados com água potável para a remoção de sujidades encrustadas, e então submetidos à pesagem e encaminhados ao moinho (CAMPOS, 2013; JORGE, 2010).

A lavagem serve para remover qualquer material estranho que possa danificar máquinas ou contaminar o óleo, que é realizada principalmente em azeitonas que foram colhidas a partir do solo ou aquelas que apresentarem muitas sujidades (VOSSEM, 2007a).

No moinho as azeitonas são trituradas pela utilização de martelos mecânicos para que ocorra a destruição da estrutura do tecido do fruto promovendo a liberação do óleo, sendo transformadas em uma pasta. A umidade adicional da água de lavagem pode causar problemas na extração, porque se forma uma emulsão com o óleo e água (VOSSEM, 2007a).

Na etapa seguinte a pasta formada passa por um batimento lento e contínuo, com um suave aquecimento (25 a 30°C). A batedura é necessária para uniformizar a massa e provocar a coalescência de pequenas gotas de azeite em gotas maiores que favorecem a etapa posterior de separação do azeite da água (JULIO, 2015; MÁXIMO, 2013).

A extração do azeite, propriamente dita, pode ser feita através de decantação (processo mais antigo) ou por centrifugação da massa. O processo de centrifugação consiste em sujeitar a massa a um movimento de rotação em alta velocidade o que provoca a separação do azeite da água e bagaço da azeitona. Depois de separado, o azeite é filtrado para retirar partículas remanescentes do processo (FERRAZ, 2009; MÁXIMO, 2013).

Segundo Campos (2013) antes de ser envasado o azeite deveria ser armazenado em recipientes a uma temperatura de 15 a 16°C para proporcionar a decantação dos sólidos resultantes do processo de extração, e então embalado à temperatura entre 18 e 20°C.

3.2.3 Tipos de Azeites

De acordo com a Instrução Normativa Nº 1, de 30 de janeiro de 2012 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, que define padrões oficiais de classificação do azeite de oliva e do óleo do bagaço de oliva, o azeite pode ser classificado em vários tipos com base em parâmetros como matéria-prima, processos de obtenção, percentual de acidez e tecnologia aplicada para extração,

podendo ser enquadrados em grupos, conforme classificação a seguir (BRASIL, 2012):

Azeite virgem de oliva: Extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto; o azeite assim obtido pode ainda, ser submetido aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração; o produto deve apresentar acidez livre de no máximo 2,0%, expressa em ácido oleico.

Azeite virgem de oliva extra: Extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto; o azeite assim obtido pode ainda, ser submetido aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração, porém o produto deve apresentar acidez livre de no máximo 0,8%, expressa em ácido oleico.

Azeite virgem de oliva lampante: Extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto; o azeite assim obtido pode ainda, ser submetido aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração; porém quando o produto apresentar acidez maior que 2,0%, expressa em ácido oleico. Este azeite não pode ser destinado diretamente à alimentação humana, mas poderá ser refinado para seu enquadramento no grupo azeite de oliva ou no grupo azeite de oliva refinado, ou, ainda, destinado a outros fins que não seja para alimentação humana.

Azeite de oliva refinado: produto proveniente de azeite de oliva do grupo azeite de oliva virgem mediante técnicas de refino que não provoquem alteração na estrutura glicerídica inicial, com acidez livre de no máximo 0,3%, expressa em ácido oleico.

Azeite de oliva: produto constituído pela mistura de óleo de bagaço de oliva refinado com azeite de oliva virgem ou com azeite de oliva extra virgem, com acidez livre de no máximo 1,0%, expressa em ácido oleico.

3.2.4 Fatores que afetam a qualidade do azeite

A composição do azeite é específica para cada cultivar e resulta de uma interação muito complexa e variada entre o potencial genotípico e os fatores ambientais, agronômicos e tecnológicos (LAVEE; WODNER, 1991).

O genótipo afeta claramente a composição de ácidos graxos, compostos fenólicos e a fração volátil, bem como a cor do óleo, sendo considerado a principal fonte de diferenças sensoriais entre os azeites (ANGEROSA et al., 2004; SERVILI et al., 2004; LOMBARDO et al., 2008). Cultivares de oliveira diferem ainda na época de colheita, no tamanho dos frutos, relação polpa/caroço, conteúdo de óleo, padrão de amadurecimento, bem como na sua resposta a fatores como disponibilidade hídrica e altas temperaturas durante o crescimento e maturação da fruta (VOSSEM, 2005).

Fatores ambientais tais como temperaturas durante o crescimento e maturação ou disponibilidade de água, além de exercerem influência sobre a composição do azeite, podem influenciar no crescimento dos frutos, nos padrões de maturação e na taxa de acúmulo de óleo (INGLESE et al., 2011).

Foram reportadas mudanças na relação de ácidos graxos saturados/insaturados em função da temperatura e latitude de produção, e ainda redução progressiva do teor de polifenóis no azeite, juntamente com o amadurecimento de frutos ou com o aumento da disponibilidade de água (VOSSEM, 2005; GARCÍA-INZA et al., 2014; APARÍCIO; HARWOOD, 2013).

A composição de compostos voláteis e fenólicos do azeite virgem é fortemente afetada por reações enzimáticas, pela participação de enzimas como polifenoloxidasas, peroxidases e lipoxigenases, que ocorrem durante as diferentes fases do processo de colheita e extração do azeite, e também pela temperatura, tempo e disponibilidade de oxigênio durante a etapa de malaxação (SERVILI, 2013; VOSSEM, 2005).

A oliveira é uma planta muito susceptível ao ataque de pragas e doenças. Estas podem diminuir consideravelmente a produção, ou afetar a qualidade final da azeitona que vai ser utilizada para a produção do azeite (RAMALHEIRO, 2009).

Segundo Máximo (2013) a mosca-da-zeitona é considerada a principal praga da cultura, e a que mais pode interferir com a qualidade do azeite, esta causa à

abertura de galerias pelas larvas, facilitando a hidrólise dos triacilgliceróis com consequente aumento da acidez e da oxidação dos ácidos graxos livres, originando azeites ácidos e com índices elevados de peróxidos.

Ao nível das doenças que afetam a oliveira as mais importantes são a gafa (*Colletotrichum* spp), o olho de pavão (*Cycloconium oleaginum*), a tuberculose (*Pseudomonas savastanoi*) e a verticilose (*Verticillium dahliae*). Frutos afetados com a gafa dão origem a azeites de alta acidez e sabor desagradável (RAMALHEIRO, 2013; RODRIGUES et al., 2004).

3.2.5 Composição química do azeite

Do ponto de vista químico, os componentes do azeite podem-se dividir em duas frações, uma saponificável e outra insaponificável. A primeira fração constitui cerca de 97 a 99% do peso total do azeite, a qual é integrada maioritariamente por triacilgliceróis e uma pequena fração de di e mono gliceróis e de ácidos graxos livres (CUNHA, 2007; JORGE, 2010).

A fração insaponificável, embora minoritária, é constituída por um conjunto variado de substâncias consideradas de elevada importância, que garantem diversas funções, tanto do ponto de vista nutricional como da estabilidade e qualidade sensorial do produto. Entre estas substâncias estão a clorofila, responsável pela cor verde; o conteúdo de carotenoides, que confere a pigmentação amarelada; os componentes voláteis, que influenciam no odor e no sabor dos azeites; os polifenóis, responsáveis pelo sabor e estabilidade do azeite devido a sua natureza antioxidante, além de outras substâncias como álcoois alifáticos, ceras, hidrocarbonetos, compostos fenólicos, fitosteróis e tocoferóis (ALVES, 2013; CUNHA, 2007).

3.2.5.1 Fração saponificável

Ácidos graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos constituídos por cadeias hidrocarbonadas contendo entre 4 a 36 carbonos, com um grupo carboxila em uma das extremidades. O número de carbonos na cadeia, o tipo de ligação e o grau de

insaturação confere a origem a diferentes tipos de ácidos graxos com distintas propriedades físicas e químicas (ALVES, 2010; SCHIESSEL, 2011).

Ácidos graxos contendo uma ou mais ligações duplas na cadeia são denominados de ácidos graxos insaturados. Quando o ácido graxo contém uma dupla ligação é denominado de ácido graxo monoinsaturado e quando apresenta duas ou mais duplas ligações é denominado de ácido graxo poliinsaturado. O maior número de duplas ligações os tornam quimicamente mais instáveis.

São denominados ácidos graxos saturados aqueles que contêm apenas ligações simples entre os carbonos na molécula (SCHIESSEL, 2011; MOREIRA et al., 2002) .

Além de serem mais resistentes ao estresse oxidativo, os ácidos graxos monoinsaturados são responsáveis pela formação das lipoproteínas de alta densidade (HDL - high density lipoproteins), que transportam uma parte importante do colesterol dos vasos até o fígado, para ser eliminado. O principal ácido graxo do azeite de oliva é o ácido oleico (monoinsaturado) variando os seus teores entre 55 e 83%, conforme o tipo de azeitona que lhe deu origem (CARDOSO, 2010; CALDERÓN, 2009b).

Triacilgliceróis

Também conhecidos por gorduras neutras, os triacilgliceróis (TAGs) são ácidos graxos ligados ao glicerol através de ligações do tipo éster. A reação acontece entre uma hidroxila do glicerol e o grupo COOH (carboxila) do ácido graxo (Figura 2). A fração contendo o ácido graxo é chamada de *acila*, dependendo do número de hidroxilas do glicerol esterificadas com ácidos graxos, estes podem ser denominados de mono, di e triacilgliceróis. Os ácidos graxos presentes nos TAGs podem ser iguais (triacilgliceróis simples) ou diferentes (triacilgliceróis mistos), sendo que a maioria dos TAGs de ocorrência natural são mistos contendo, portanto, dois ou mais ácidos graxos diferentes (NELSON; COX, 2002; VOET, 2000).

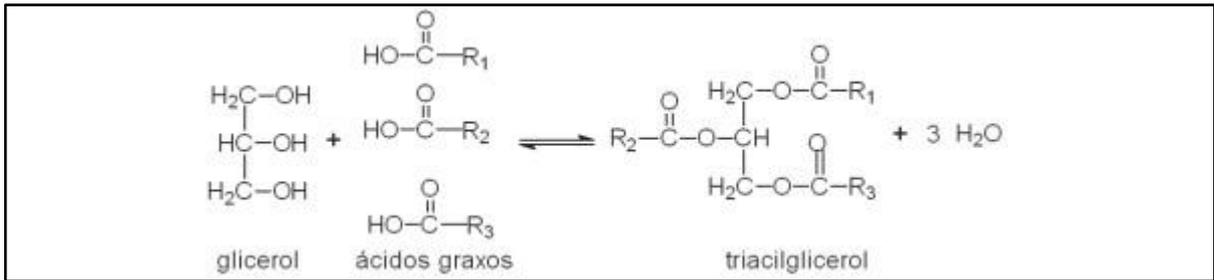


Figura 2 - Reação de esterificação e formação de triacilglicerol e água.
 Fonte – MERÇON, 2010.

Os TAGs são moléculas hidrofóbicas não polares, sendo portanto insolúveis em água, isto se deve porque as hidroxilas do glicerol estão ligadas aos carboxilatos polares dos ácidos graxos. Estes compostos são responsáveis pela reserva de energia nos seres vivos e são muito eficientes nesse papel, pois liberam maior quantidade de energia quando oxidados do que os carboidratos e proteínas, (NELSON; COX, 2002; SILVA; SILVA, 2010).

Fosfolipídeos

Os fosfolipídeos são componentes lipídicos principais da estrutura da membrana celular. Caracterizam-se por serem anfifílicos, já que a molécula possui um lado hidrofílico e outro hidrofóbico. Sua molécula é constituída de quatro tipos de componentes: ácidos graxos, uma plataforma na qual se prendem estes ácidos, podendo ser uma molécula de glicerol ou esfingosina, formando a fração apolar, e um grupo-cabeça polar formado por moléculas de fosfato e álcool.

Os fosfolipídeos podem ser classificados em: glicerofosfolipídeos e esfingolipídeos (BERG, 2004; MOTTA, 2003).

Glicerofosfolipídeos (também denominados de fosfoglicerídeos) são constituídos por duas moléculas de ácidos graxos unidos em ligação éster ao primeiro e segundo carbono do glicerol, e um grupo polar ou carregado, ligado por meio de ligação fosfodiéster ao terceiro carbono, conforme mostrado na figura 3 (NELSON; COX, 2002; BERG, 2004).

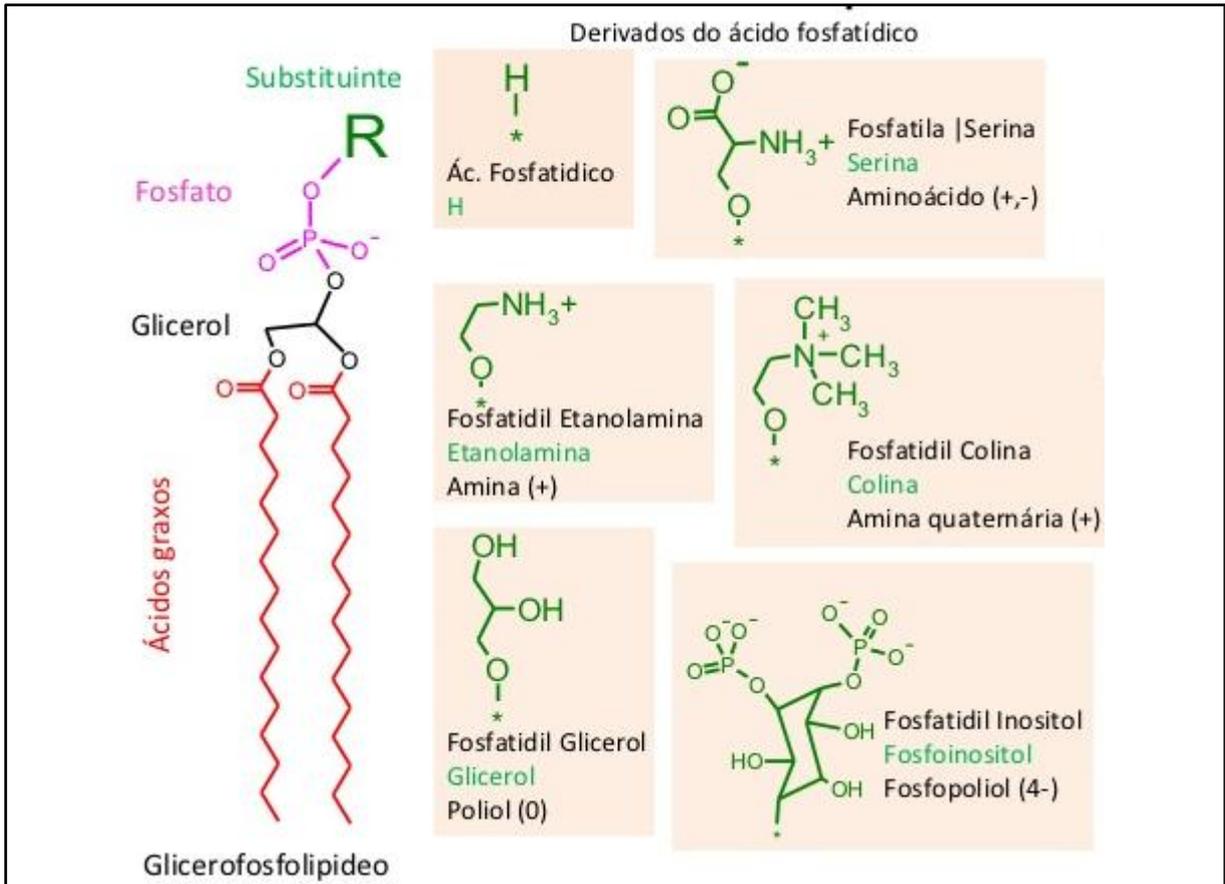


Figura 3 - Estrutura dos Glicerofosfolídeos.
Fonte – MOTTA, 2003.

Os esfingolípídeos não apresentam glicerol em sua molécula, mas apresentam uma molécula de aminoálcool de cadeia longa (esfingosina, ou um de seus derivados), além de uma molécula de ácido graxo de cadeia longa, e um grupo-cabeça polar que é acompanhado em algumas vezes por uma ligação glicosídica e outras por uma ligação fosfodiéster (Figura 3) (NELSON; COX, 2002; MOTTA, 2003).

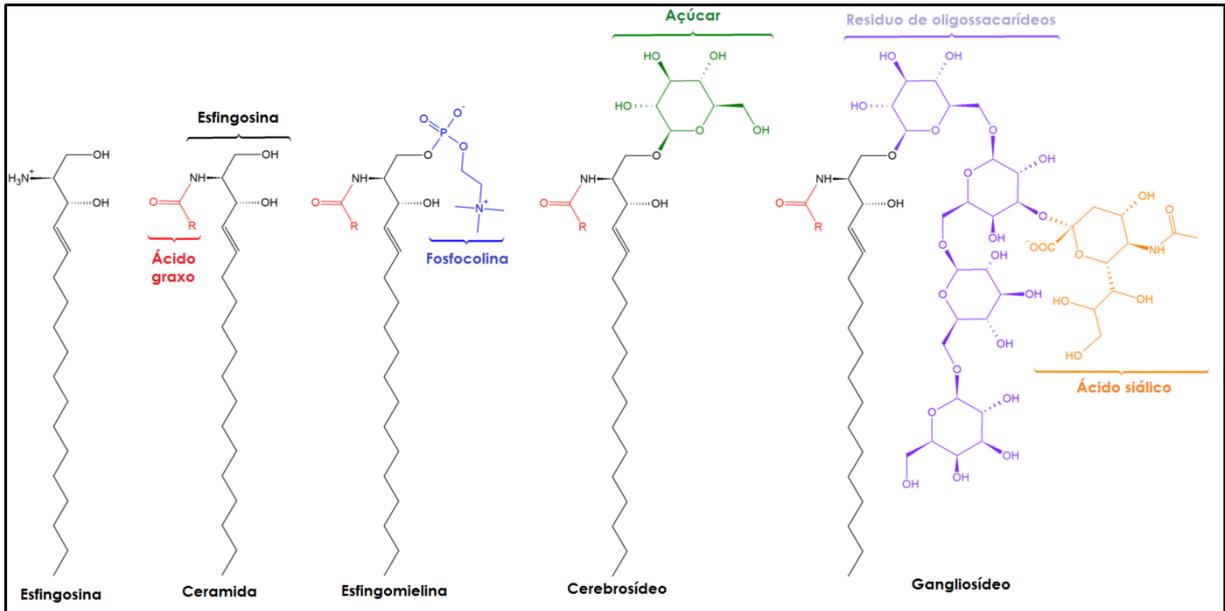


Figura 4 - Estrutura dos esfingolipídios.
Fonte – Adaptado de WIKIMEDIA, 2016.

3.2.5.2 Fração insaponificável

Hidrocarbonetos

São compostos que apresentam em sua estrutura apenas carbono e hidrogênio, constituem de 32 a 50% da fração insaponificável do azeite. O principal hidrocarboneto presente é o esqualeno, formado por 30 carbonos, o qual constitui-se no produto intermediário da biossíntese do colesterol, sendo precursor dos triterpenos e dos fitosteróis (FERREIRA, 2014).

Álcoois alifáticos e ceras

Os álcoois graxos são compostos lineares saturados com mais de 16 átomos de carbono. Os principais álcoois presentes no azeite são o docosanol, tetracosanol, hexacosanol e o octacosanol, sendo que o conteúdo destes no azeite, normalmente, não excede os 35 mg.100g⁻¹ de azeite (COSTA, 2012; CARAPINHA, 2012).

As ceras são ésteres de álcoois de longa cadeia alifática com ácidos graxos de alto peso molecular, que contêm até 58 átomos de carbono, e por isso afetam as propriedades físicas do azeite, como na viscosidade, densidade e no ponto de fusão superior a 70°C (DAMODARAN et al., 2010; COSTA, 2012).

As ceras estão presentes na pele das azeitonas com a função de evitar a perda de água. Estes compostos são abundantes no óleo de bagaço de azeitona e

em azeite lampante. A elevada acidez dos azeites faz aumentar a quantidade de ceras, uma vez que ocorre esterificação de álcoois alifáticos com ácidos graxos livres. Desta forma, este parâmetro pode ser usado como um critério para diferenciação das várias classificações de azeite (COSTA, 2012; ALVES, 2013).

O teor de ceras no azeite é, normalmente, muito baixo, tendo um limite máximo estabelecido de 350 mg.kg^{-1} de azeite. As principais ceras detectadas no azeite são ésteres C-36, C-38, C-40, C-42, C-44 e C-46 (DIAS, 2009).

Compostos fenólicos

São importantes metabólitos secundários sintetizados por plantas durante o desenvolvimento normal e em resposta a condições de estresse da planta. São compostos que contêm um grupo fenol (grupo hidroxila funcional ligado a um anel aromático). Os fenóis vegetais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, alguns são solúveis somente em solventes orgânicos, outros são solúveis em água e há ainda aqueles que são polímeros insolúveis (DAMODARAN et al., 2010; TAIZ; ZEIGER, 2006).

Estes compostos encontram-se classificados em diferentes categorias, tais como flavonoides (polifenóis) e não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos). Diversos compostos fenólicos já foram identificados e quantificados em azeites de oliva, porém o tirosol, hidroxitirosol e seus derivados secoiridoides respondem por cerca de 90% do teor total de fenólicos do azeite de oliva virgem. O hidroxitirosol é considerado o composto fenólico com ação antioxidante mais potente do azeite de oliva, cuja atividade biológica tem estimulado pesquisas sobre o seu provável papel na proteção cardiovascular (BALLUS, 2010; CARDOSO, 2006).

A figura 5 ilustra alguns dos compostos fenólicos já encontrados em azeite de oliva virgem.

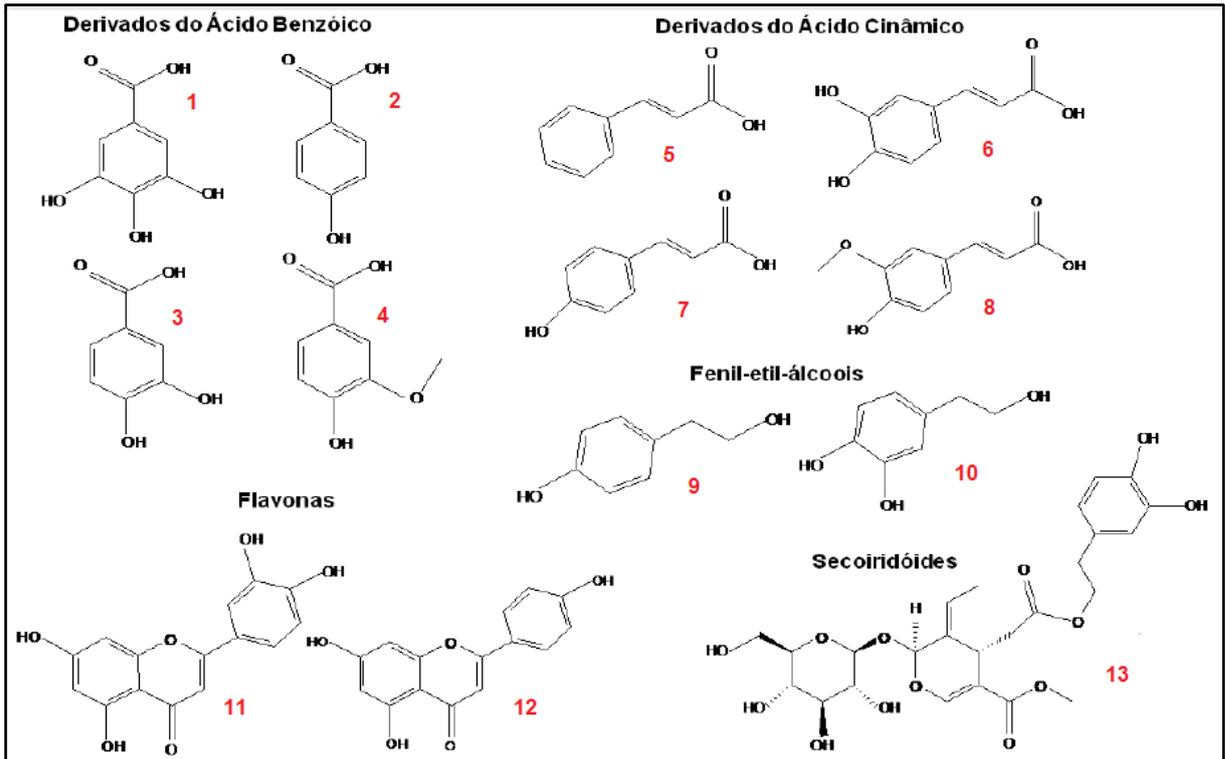


Figura 5 - Estruturas de alguns compostos fenólicos encontrados em azeite de oliva virgem. Identificação: 1) Ácido Gálico; 2) Ácido phidroxibenzoico; 3) Ácido 3,4-dihidroxi benzoico; 4) Ácido Vanílico; 5) Ácido Cinâmico; 6) Ácido Cafeico; 7) Ácido p-cumárico; 8) Ácido Ferrúlico; 9) Tirosol; 10) Hidroxitirosol; 11) Luteolina; 12) Apigenina; 13) Oleuropeína Glicosídeo. Fonte – BALLUS, 2010.

Segundo Tsimidou (1998) o conteúdo de compostos fenólicos pode ser afetado por vários fatores, mas geralmente varia entre 100 e 300 mg.kg⁻¹.

Os compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes por várias vias, nomeadamente pela eliminação de radicais livres, pela absorção de radicais de oxigênio e como quelantes de íons metálicos. Além disso, apresentam atividade farmacológica, inibem a oxidação lipídica e a proliferação de fungos e participam nos processos responsáveis pela cor, adstringência e aroma de vários alimentos (SOUTINHO, 2012).

De uma forma geral, pode dizer-se que o azeite é praticamente o único óleo vegetal com quantidades apreciáveis de compostos fenólicos naturais, que lhe confere o gosto amargo e frutado e que contribuem, em grande parte, para a sua resistência à auto-oxidação. Sua composição no azeite é bastante complexa, e sua concentração varia de acordo com o estado de maturação, condições climáticas e de armazenamento utilizado durante o processo de extração do azeite (ALVES, 2013; DIAS, 2009).

Tocoferóis e tocotrienóis

O termo genérico “vitamina E” é uma descrição utilizada para designar oito diferentes compostos, nomeados α -, β -, γ - e δ - (alfa, beta, gama e delta) tocoferóis e tocotrienóis. São vitaminas lipossolúveis que possuem alta capacidade antioxidante, especificamente contra a peroxidação lipídica em membranas biológicas (GUINAZI, 2009; FOGAÇA, 2005).

Os tocoferóis apresentam uma cadeia lateral saturada contendo 16 átomos de carbono. A diferença entre estas moléculas reside na quantidade de grupos metil que substituem o anel aromático cromanol. Os tocotrienóis se diferenciam dos tocoferóis por possuírem uma cadeia lateral insaturada contendo 16 átomos de carbono (Figura 6) (COIMBRA, 2010).

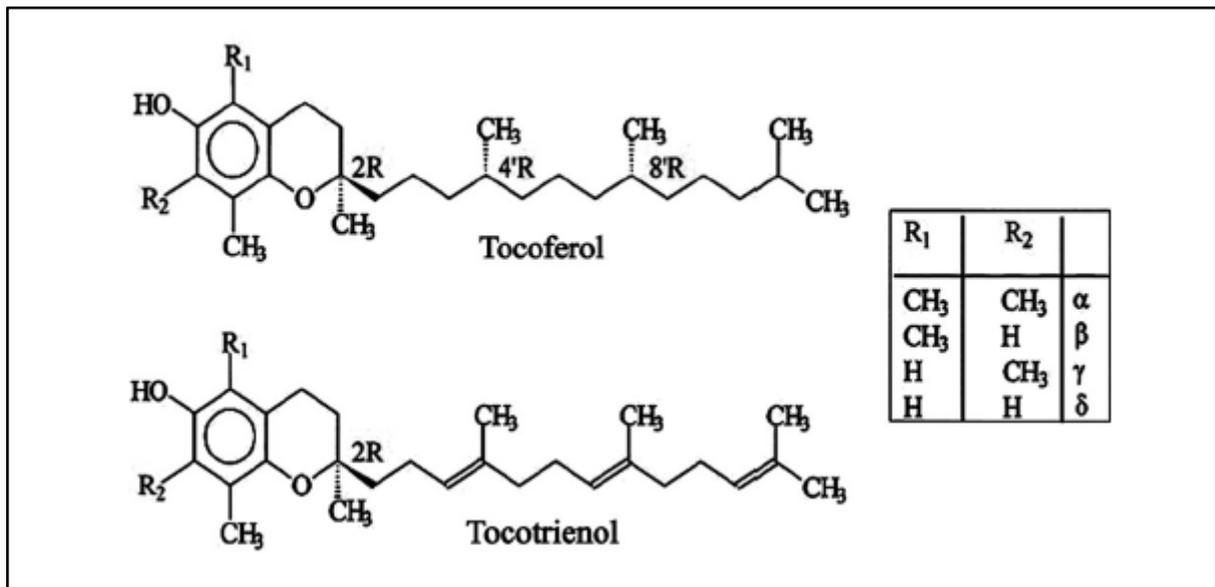


Figura 6 - Estrutura química dos tocoferóis e tocotrienóis.

Fonte - GUINAZI, 2009.

Todos os tipos de tocoferóis estão presentes no azeite de oliva, porém o mais abundante é o α -tocoferol, que constitui cerca de 95% do total de tocoferóis, é também o que apresenta maior atividade vitamínica. A concentração de tocoferóis no azeite oscila entre 5 e 300 mg.kg⁻¹ de azeite, sendo depende da variedade da azeitona e do grau de maturação do fruto (DIAS, 2009).

Além de possuírem ação vitamínica, os tocoferóis também atuam como agentes antioxidantes, sua atividade provém da sua capacidade de doar seus

hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação da reação em cadeia (RAMALHO et al., 2006).

Pigmentos

A cor do azeite de oliva varia do verde ao amarelo (dourado), a qual resulta da presença de pigmentos como a clorofila e carotenoides. A presença de maior ou menor quantidade desses pigmentos depende de fatores como o grau de amadurecimento da fruta, a cultivar, o solo, e as condições climáticas, bem como os procedimentos de processamento e condições de estocagem (SILVA, 2011b).

Além de contribuir com o aspecto visual, a cor do azeite é considerada um parâmetro importante de qualidade, enumerando-se como um dos atributos para avaliar o azeite, uma vez que o manejo e o tempo de estocagem promovem mudanças significantes no conteúdo de clorofila. Sob exposição à luz, a degradação dos pigmentos responsáveis pela cor verde causa a descoloração do azeite (SILVA, 2011b; JORGE, 2010).

Responsável pela coloração verde, a clorofila consiste em diferentes formas, sendo “a” e “b” (Figura 7), as mais abundantes. A clorofila a difere da clorofila b por apresentar na posição 3 do grupo tetrapirrólico o radical - CH₃ (metil) no lugar do - CHO (aldeído). No azeite de oliva o conteúdo de clorofila pode variar entre 1 a 20 ppm (BOSKOU, 1998).

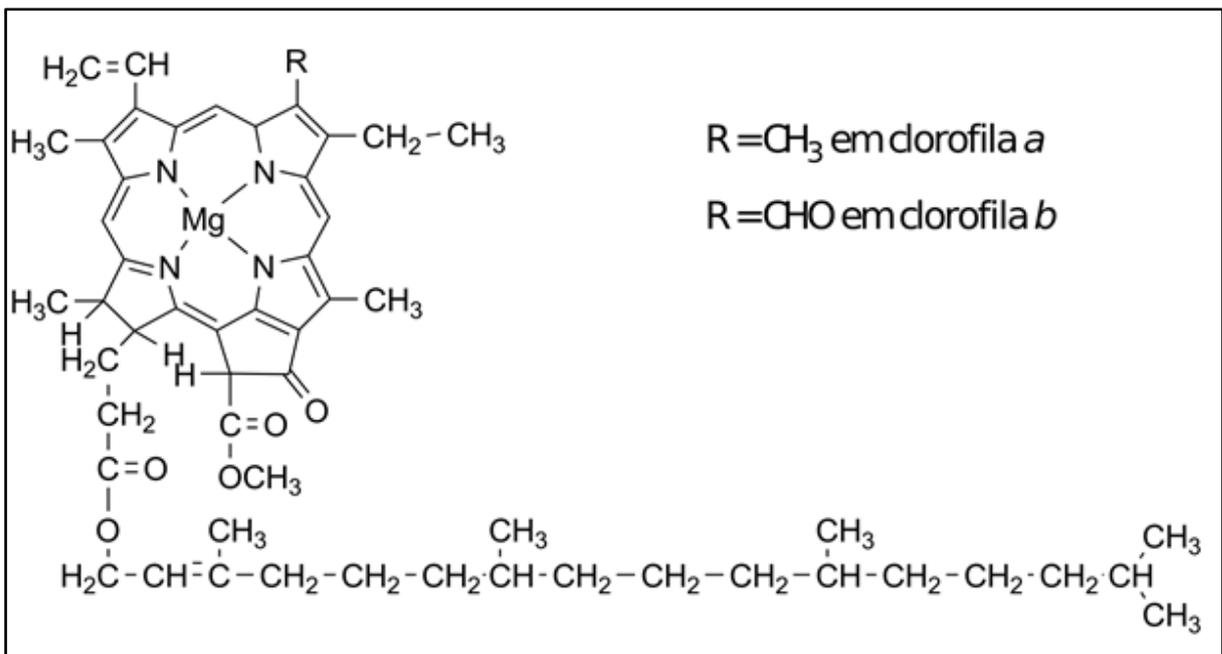


Figura 7- Estrutura química da clorofila a e b.
 Fonte – CARVALHO E CALVETE, 2010.

Os carotenoides são um dos grupos de pigmentos mais difundidos na natureza, sendo responsáveis pela coloração amarelada dos azeites de oliva. Estes compostos são classificados em dois grupos: os carotenos, altamente apolares, formados apenas por carbono e hidrogênio, como o β -caroteno e o licopeno, e as xantofilas, compostos polares como a luteína e zeaxantina, que apresentam, além de carbono e hidrogênio, oxigênio em sua estrutura (RUTZ, 2013; HORST; MORENO, 2009).

Carotenoides apresentam uma estrutura de cadeia longa com duplas ligações entre carbonos de simetria bilateral. Os diferentes compostos são gerados essencialmente por modificações em uma estrutura básica, especialmente com formação de anéis nas extremidades e pela adição de átomos de oxigênio, que fornecem as características de cor e capacidade antioxidante (HORST; MORENO, 2009).

Os principais carotenoides presentes no azeite de oliva são a luteína e o β -caroteno (Figura 8). Segundo Boskou (1998) o conteúdo de carotenoides do azeite pode variar de 1 a 20 mg.kg⁻¹.

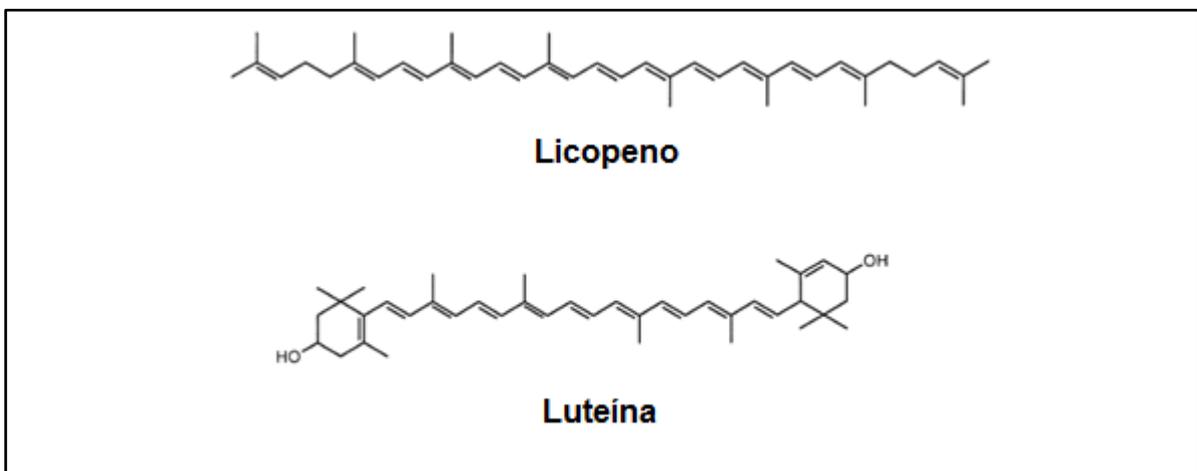


Figura 8 - Estrutura química dos carotenoides licopeno e luteína.
Fonte - Adaptado de CRIZEL-CARDOSO, 2014.

Fitoesteróis

São esteróis de origem vegetal, que são essenciais na composição das membranas celulares dos vegetais. Estes compostos são considerados fitoquímicos, ou seja, substâncias biologicamente ativas encontradas em plantas (ALMEIDA, 2009; NELSON; COX, 2002).

Sua estrutura característica possui um núcleo esteroide consistindo de quatro anéis fundidos, sendo três com seis carbonos e um contendo cinco carbonos, denominada de ciclopentanoperidrofenantreno (Figura9). Os esteróis diferem quanto à configuração da cadeia lateral e ao padrão de ligação ao anel esteroide, como observado na Figura 10 (NELSON; COX, 2002; ROCHA, 2008; ALMEIDA, 2009).

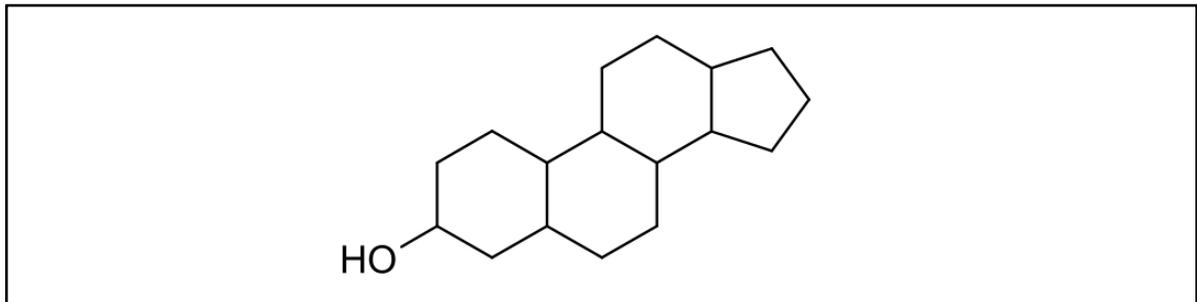


Figura 9 - Estrutura básica de um esterol – Ciclopentanoperidrofenantreno.
Fonte - ROCHA, 2008.

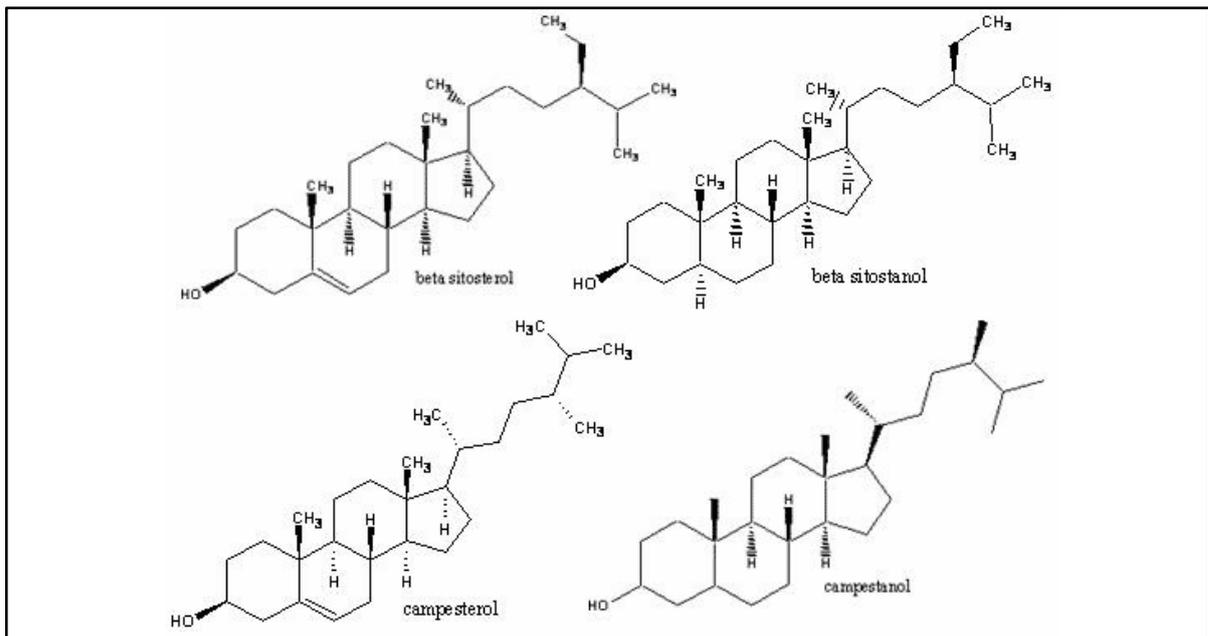


Figura 10 - Estrutura química de alguns fitoesteróis.
Fonte - MARTINS et al., 2004.

Além de apresentarem um papel importante como constituintes da membrana, estes compostos servem como precursores de vários produtos com atividades biológicas específicas, como alguns hormônios esteroidais (NELSON; COX, 2002).

O conteúdo total de esteróis presentes no azeite de oliva pode variar de 1800 a 2650 mg.Kg⁻¹ do óleo. Os principais esteróis presentes são o β -sitosterol, o Δ -5-avenasterol, o campesterol e o estigmasterol, sendo o componente predominante o β -sitosterol, representando entre 70 e 90% da fração total de esteróis (DIAS, 2009; MODOLO, 2007).

4. Materiais e Métodos

4.1 Materiais

Foram utilizadas azeitonas de 13 cultivares, da safra 2012/2013, provenientes de três cidades do Rio Grande do Sul, sendo as cultivares Grappolo, Galega, Maurino, Pendolino e Grigman provenientes da cidade de Bagé, as cultivares Picual, Coratina, Carboncella, Blanqueta, Mission e Ascolana provenientes da cidade de Pelotas e ainda duas cultivares Arbosana e Arbequina provenientes da cidade de Uruguaiana.

Dados geográficos e climáticos das regiões de cultivo das azeitonas

Tabela 1- Dados geográficos e climáticos das regiões de cultivo das azeitonas nos anos de 2012/2013.

Região	Latitude/Longitude	Altitude	Precipitação (mm)		Temperatura Média (°C)	
			2012	2013	2012	2013
Bagé	31° 19' 31"/ 54° 06' 25"	212 m	1416	1508	18,98	16,63
Pelotas	31° 46' 19"/2° 20' 19"	7 m	1120	1257	19,29	17,88
Uruguaiana	29° 46' 55"/57° 02' 18"	66 m	1738	1345	20,98	19,91

Fonte: AGRITEMPO, 2016.

4.1.1 Azeite de oliva

Todos os azeites de oliva provenientes das diferentes cultivares foram extraídos pelo sistema de bancada Abencor[®]. Trata-se de um sistema em batelada com três etapas, sendo efetuado a primeira etapa a trituração dos frutos, utilizando um moinho de martelo, seguida pela maceração da pasta de azeitona, em um termobatedor por um período de 30 min em temperatura ambiente, e na última etapa é efetuado a centrifugação da pasta, a 3500 rpm. A seguir os azeites foram filtrados, envasados e armazenados em ultrafreezer para as análises posteriores.

4.2 Análises

4.2.1 Teor de acidez

Pesou-se em torno de 1,25 g de azeite em erlenmeyer no qual foi adicionado 15 mL de solução de éter etílico:álcool etílico (2:1, v/v), sob agitação. Após foi titulado com hidróxido de potássio $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, utilizando como indicador a fenolftaleína 1,0 % (AOCS, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido oleico.

4.2.2 Coeficiente de extinção específica K_{232} e K_{270}

Foram pesados 0,25 g de azeite em balão volumétrico de 25 mL, o qual foi avolumado com isooctano grau HPLC. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, a 232 e 270 nm (IOOC, 2008).

4.2.3 Perfil de ácidos graxos

As amostras foram derivatizadas segundo metodologia de Hartman e Lago (1973), que consistiu na pesagem de 30 mg de azeite em tubo de ensaio com tampa, seguido da adição de 500 μL de KOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em metanol, a mistura foi mantida em banho-maria a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 90 minutos. Posteriormente, adicionou-se 1,50 mL de H_2SO_4 $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, e manteve-se a amostra, novamente, a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 90 minutos. Após esfriar, acrescentou-se 4,0 mL de n-hexano grau HPLC, agitou-se vigorosamente os tubos e esperou-se a separação das fases. Uma alíquota da fase de n-hexano, que continha os ésteres metílicos de ácidos graxos, foi colocada no vial, para injeção em cromatógrafo gasoso Perkin Elmer Clarus 500 equipado com detector FID e coluna ID Carbowax20 M de $0,25 \mu\text{m}$ e dimensões $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$, revestida com polietileno glicol.

A temperatura inicial da coluna foi de $90 \text{ }^\circ\text{C}$, mantida por 1,0 minuto, com incremento linear de $12 \text{ }^\circ\text{C}$ por minuto até atingir a temperatura de $160 \text{ }^\circ\text{C}$, mantida por 3,5 minutos, seguida de incremento linear de $1,2 \text{ }^\circ\text{C}$ por minuto até a temperatura de $190 \text{ }^\circ\text{C}$, ocorrendo então incremento linear de $15 \text{ }^\circ\text{C}$ por minuto até a temperatura de $230 \text{ }^\circ\text{C}$, que foi mantida por 15 minutos. O injetor foi mantido na temperatura de $230 \text{ }^\circ\text{C}$ e o detector em $250 \text{ }^\circ\text{C}$. Foi utilizado nitrogênio como gás de arraste a $1,5 \text{ mL.min}^{-1}$ (ZAMBIAZI, 1997). Os ácidos graxos foram identificados pela comparação com os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos dos ácidos caproico, caprílico, cáprico, caproleico, láurico, dodecenoico, mirístico,

miristoleico, palmítico, palmitoleico, margárico, heptadecenoico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, araquídico, gadoleico, eicosadienoico, eicosatrienoico, tetraenoico, lignocérico e nervônico (Sigma Chemicals Co., St. Louis, EUA). Os resultados foram expressos em percentual relativo de ácidos graxos.

4.2.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram extraídos de acordo com o método descrito por Montedoro et al. (1992), com poucas modificações. Pesou-se 2,50 g de azeite e adicionou-se 2,0 mL de metanol:água (70:30) e 2,0 mL de hexano. Agitou-se vigorosamente por 1,0 minuto e manteve-se sob agitação lenta por mais 20 minutos. Após este período realizou-se a centrifugação da amostra a 7000 g a 4,0 °C por 10 minutos em centrífuga Eppendorf 5430R. A fase hidroalcóolica foi coletada e novamente centrifugada a 7000 g, a 4,0 °C por 4 minutos. Posteriormente, a fase hidroalcóolica foi coletada para balão volumétrico de 2,0 mL e avolumada com metanol:água (70: 30 v/v).

A determinação do total de compostos fenolicos foi realizada pela reação colorimétrica descrita por Gambacorta et al. (2010). Para isso adicionou-se 100 µL do extrato hidroalcóolico em tubo de Falcon, seguido da adição de 100 µL de reagente Folin–Ciocalteu 2,0 mol.L⁻¹. Após 4 minutos, acrescentou-se 800 µL de carbonato de sódio 5,0 %, mantendo a mistura em banho-maria por 20 minutos a 40 °C. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, utilizando o comprimento de onda 750 nm. Para quantificação, foi construída curva de concentração de padrão de ácido gálico, com leitura de absorbância a 750 nm. Os resultados foram expressos em mg. Kg⁻¹ de ácido gálico.

4.2.5 Clorofila

Para a análise do total de clorofilas utilizou-se a metodologia descrita pela AOCS (1992), a qual baseia-se na pesagem de 2,50 g de amostra, avolumada com solução de isooctano:etanol (3:1) em balão volumétrico de 10 mL. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, utilizando-se os comprimentos de onda 630, 670 e 710 nm. O conteúdo total de clorofilas foi determinado pela equação 1, e expresso em mg.kg⁻¹:

$$\text{Clorofilas Totais (mg.kg}^{-1}\text{)} = \frac{A_{670} - \frac{A_{630} + A_{710}}{2}}{0,0964 \text{ L}} \quad (\text{eq. 1})$$

Em que: A_{670} = absorvância obtida em 670 nm; A_{630} = absorvância obtida em 630 nm; A_{710} = absorvância obtida em 710 nm e; L = comprimento da célula em cm.

4.2.6 Carotenoides

Para a análise do total de carotenoides utilizou-se a metodologia descrita por Rodrigues-Amaya (2001), com pequenas adaptações. Foi pesado de 2,50 g de amostra, que foi avolumada com solução de isoctano:etanol (3:1) em balão volumétrico de 10 mL. A leitura foi realizada em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, utilizando-se comprimento de onda 450nm. O conteúdo total de carotenoides foi determinado pela equação 2:

$$\text{Carotenoides Totais (mg.kg}^{-1}\text{)} = \frac{\text{Abs} \times V \text{ (mL)} \times 10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100 \times P \text{ (g)}} \quad (\text{eq. 2})$$

Em que: Abs = absorvância; V = volume da solução (10 mL); $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ = coeficiente de absorção (2500, equivalente ao carotenoide majoritário β -caroteno) e; P = peso da amostra diluído no volume V. Os resultados foram expressos em mg.kg^{-1} de β -caroteno.

4.2.7 Tocoferois

O método para determinação de tocoferois consistiu na pesagem de 150 mg de amostra em balão volumétrico de 5 mL, o qual foi avolumado com isopropanol grau HPLC. Após centrifugação a 9000 rpm por 6 minutos, uma alíquota de 10 μL do sobrenadante foi injetado em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) Shimadzu com injetor automático, equipado com detector de fluorescência, utilizando o comprimento de onda de 290 nm para excitação e de 330 nm para emissão. A separação foi efetuada ao fluxo de 1 mL.min^{-1} , utilizando-se sistema de eluição por gradiente, com metanol, acetonitrila e isopropanol como fases móveis, sendo a fase inicial de 40:50:10, respectivamente, alterando-se a proporção aos 10

minutos de corrida, para 65:30:5. Retornou-se à proporção inicial de solventes aos 12 minutos, obtendo-se um tempo total de análise de 15 minutos, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). A identificação dos tocoferóis foi realizada pela comparação entre o tempo de retenção dos respectivos padrões e a quantificação foi efetuada pela relação entre a área do pico de interesse e a curva de calibração, previamente construída, do respectivo padrão (delta, gama e alfa-tocoferol). Os resultados foram expressos em miligramas de tocoferol por 100 g de amostra.

4.2.8 Fitosteróis

A análise de fitosteróis foi realizada com base no método descrito por Zambiasi (1997), com poucas adaptações. Foram pesados 0,25 g de amostra em tubo de ensaio com tampa, os quais foram saponificados com 5 mL de KOH alcoólico 1,5 mol.L⁻¹. Agitou-se a mistura a cada 15 minutos durante 1 hora, a qual ficou na ausência de luz por 18 horas. Após este período, foram acrescentados 10 mL de água destilada e 10 mL de éter etílico ao tubo de ensaio. Depois da separação das fases, coletou-se a fase orgânica para outro tubo de ensaio, em que foi adicionado 10 mL de água destilada. Ao tubo contendo a fase aquosa adicionou-se 10 mL de éter etílico. As fases orgânicas (superiores) foram coletadas e evaporadas com nitrogênio líquido à 40°C por 8 minutos. O resíduo foi avolumado a 2 mL com metanol:etanol (1:1) grau HPLC. Uma alíquota de 20 µL foi injetada em cromatógrafo HPLC-Shimadzu, utilizando eluição isocrática de metanol grau HPLC, com fluxo de 0,8 mL.min⁻¹ e detector UV-Vis, ajustado para o comprimento de onda de 205 nm. A identificação dos fitosteróis foi realizada pela comparação entre o tempo de retenção dos padrões e a quantificação foi realizada pela relação entre a área do pico de interesse e a curva de calibração dos respectivos padrões. Os resultados foram expressos em mg de fitosteróis por grama de amostra.

4.2.9 Atividade antioxidante – ABTS

Determinada segundo metodologia descrita por Re et al. (1999), que consistiu em dissolver 0,0225g do azeite em 10 mL de éter de petróleo, deste extrato, pegou-se 1 mL e adicionou-se 3 mL de solução de ABTS e agitou-se em vórtex. Após 6 min sob ausência de luz, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro (JENWAY 6705 UV/Vis.), no comprimento de onda de 734 nm.

4.3 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, utilizando o programa SAS.

A fim de avaliar uma possível correlação entre atividade antioxidante e alguns fitoquímicos foi realizada a análise estatística de Correlação de Pearson utilizando o programa SAS.

5 Resultados e Discussões

5.1 Análises de qualidade

Os resultados das análises de qualidade dos azeites de oliva monovarietais de diferentes cultivares e cidades do estado do Rio Grande do Sul estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros de qualidade dos azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.

Região	Cultivar	Acidez (% ác. oleico)	Coeficiente de extinção específica	
			K _{232nm}	K _{270nm}
Pelotas	Picual	0,31±0,01h	1,56± 0,01fg	0,05±0,02 ef
	Coratina	0,31± 0,01h	1,87± 0,01 cd	0,169± 0,01 ab
	Carboncella	0,72±0,01b	2,02± 0,03 b	0,07± 0,01 e
	Blanqueta	0,92±0,01a	2,28± 0,09 a	0,08± 0,01 de
	Mission	0,49± 0,02 e	1,96± 0,02 bc	0,01± 0,01 f
	Ascolana	0,47± 0,03 ef	1,49± 0,01 g	0,01± 0,01 f
Bagé	Grapolo	0,52± 0,02 de	1,78± 0,01 de	0,168± 0,01 ab
	Galega	0,40± 0,01 g	1,67± 0,02 ef	0,174± 0,01 a
	Maurino	0,43±0,01 fg	1,66± 0,01 ef	0,14± 0,01 abc
	Pendolino	0,55± 0,03 cd	2,26± 0,12 a	0,12± 0,04 cd
	Grigman	0,59± 0,01 c	1,45± 0,01 g	0,13± 0,01 bc
Uruguaiana	Arbequina	0,57± 0,02 cd	1,99± 0,01 bc	0,140,01 abc
	Arbosana	0,59±0,03 c	1,49± 0,01 g	0,16± 0,01 ab

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey(p<0,05).

Acidez

A acidez é um dos mais importantes indicadores de deterioração do azeite de oliva, pois revela a quantidade de ácidos graxos livres oriundos do processo de hidrólise dos triacilglicerois. Um elevado índice de acidez indica, portanto, que está ocorrendo quebra nas cadeias dos triacilglicerois do óleo, liberando seus constituintes principais, os ácidos graxos livres, e por esse motivo, o cálculo desse

índice é de extrema importância na avaliação do estado de deterioração do produto (SAGLAM et al., 2014; JORGE, 2010).

Como mencionado anteriormente no item 2.2.3, com base nos valores de acidez os azeites de oliva são classificados em diferentes classes. De acordo com os resultados obtidos (Tabela 2) é possível afirmar que, à exceção do azeite da cultivar Blanqueta, que apresentou valor de acidez equivalente a 0,92% classificando-se como azeite virgem, os demais podem ser classificados na categoria azeite extra virgem, por apresentarem valores de acidez inferiores a 0,8% (BRASIL, 2012), sendo os valores mínimo e máximo encontrados para os azeites das cultivares Picual (0,31%) e Carboncella (0,71%), ambas cultivadas na cidade de Pelotas.

Houve variação estatística entre as amostras da mesma região de cultivo, demonstrando a não existência de uma relação direta entre a acidez e a origem de cultivo da amostra avaliada, podendo esta variação ser atribuída a outros fatores, como os relativos às práticas agrícolas e as condições de obtenção do produto.

Peixoto et al. (1998) em seu estudo mencionam que vários fatores influenciam a acidez, como grau de maturação, ação enzimática, qualidade da azeitona e tipo de extração do azeite. Comparando os resultados obtidos de acidez do azeite da cultivar Ascolana, neste estudo, com os resultados obtidos para o azeite da mesma cultivar por Cardoso (2006), pode-se inferir que há uma grande influência do método de extração na acidez do azeite, uma vez que neste estudo foi observado um teor de 0,47% (extração física), em contrapartida no estudo de Cardoso (2006) em que o azeite foi extraído com solventes o valor observado foi de 3,47%.

Condelli et al. (2015) ao avaliarem cinco diferentes azeites monovarietais produzidos no Sul da Itália, observaram o valor de 0,32% de acidez para a cultivar Coratina, valor semelhante a este foi encontrado no presente estudo (0,31%), além disso, os autores também observaram variação estatística entre as amostras cultivadas na mesma região, com valores variando de 0,32 a 0,52%.

No trabalho descrito por Reboredo-Rodríguez et al. (2014) foram avaliados quatro diferentes azeites monovarietais cultivados na mesma região da província de Ourense na Espanha, assim como em outros trabalhos também foi observado variação estatística entre amostras de diferentes cultivares, mesmo tendo sido cultivadas na mesma região. Estes autores relatam que estudos têm demonstrado que a área de cultivo não tem influência significativa sobre parâmetros relacionados

com a qualidade do azeite; por outro lado, estes parâmetros têm sido afetados por fatores, como ataques de moscas da azeitona; colheita inadequada, transporte e armazenamento de azeitonas; além de alguns tratamentos tecnológicos que facilitam a hidrólise dos triacilglicerois e conseqüente aumento da concentração de ácidos graxos livres.

Coeficiente de Extinção específica

O exame espectrofotométrico na faixa do ultravioleta pode fornecer indicações sobre a qualidade de uma substância graxa, seu estado de conservação e as modificações provocadas pelos processos tecnológicos, pois os produtos da auto-oxidação de óleos e gorduras exibem espectros característicos nessa região. Os valores das absorvâncias são expressos como coeficiente de extinção ou absorção específica (OETTERER et al., 2006).

O coeficiente de extinção determinado a 232 nm é relacionado com a oxidação primária do azeite, devido à conjugação de ácidos graxos polinsaturados. Enquanto que o coeficiente à 270 nm indica a formação de compostos carbonílicos (aldeídos e cetonas), estando relacionado com os produtos secundários de oxidação. Essa distinção é interessante porque permite diferenciar os estádios de evolução da oxidação (CRIZEL-CARDOZO, 2014; OETTERER et al., 2006).

De acordo com os resultados descritos na tabela 1 é possível observar que os maiores valores de absorção são atribuídos ao comprimento de onda de 232 nm para todas as amostras. Entretanto, os valores obtidos em ambos comprimentos de onda enquadram todos os azeites dentro da denominação “extra virgem”, de acordo com os limites de absorção estipulados pela legislação que são $K_{232} \leq 2,50$ e de $K_{270} \leq 0,22$ (BRASIL, 2012).

O maior valor de absorção UV 232 nm foi observado ao azeite da cultivar Blanqueta (2,28), em contrapartida o menor valor foi respectivo ao azeite da cultivar Grigman (1,45), provenientes, respectivamente, de azeitonas cultivadas nas cidades de Pelotas e Bagé.

Os resultados de absorção específica em 232 nm e 270 nm, assim como os resultados observados com o índice de acidez, apresentaram diferença estatística significativa entre as amostras, mesmo em amostras provenientes da mesma região.

Em estudo semelhante Rodrigues (2015) avaliou azeites de diferentes cultivares advindos da Serra da Mantiqueira e observou valores de extinção K_{232}

variando de 1,30 a 1,78 e para K_{270} entre 0,13 a 0,22. Portanto, os resultados de suas amostras também enquadraram-se dentro da legislação, ainda, segundo o autor o valor de absorvância de 0,22 para 270 nm para um azeite, evidencia que o produto foi elaborado a partir de matéria prima de qualidade, e sob condições adequadas de processamento.

5.2 Ácidos graxos

Os ácidos graxos constituem as unidades básicas dos lipídeos e sua determinação é fundamental para o conhecimento do padrão de identidade e qualidade de um azeite, pois, assim como para outros óleos, segue um padrão específico para o azeite de oliva, o qual pode apresentar alterações, segundo o grau de decomposição oxidativa ou por qualquer adulteração (MELLO; PINHEIRO, 2012; CRIZEL-CARDOSO et al., 2012).

Foram detectados nove ácidos graxos nas variedades de azeite Blanqueta, Mission, Carboncella, Galega, Maurino, Arbequina e Arbosana; oito ácidos graxos nas variedades Picual, Coratina, Grappolo, Pendolino e Grigman, e apenas sete ácidos graxos na cultivar Ascolana (Figura 11).

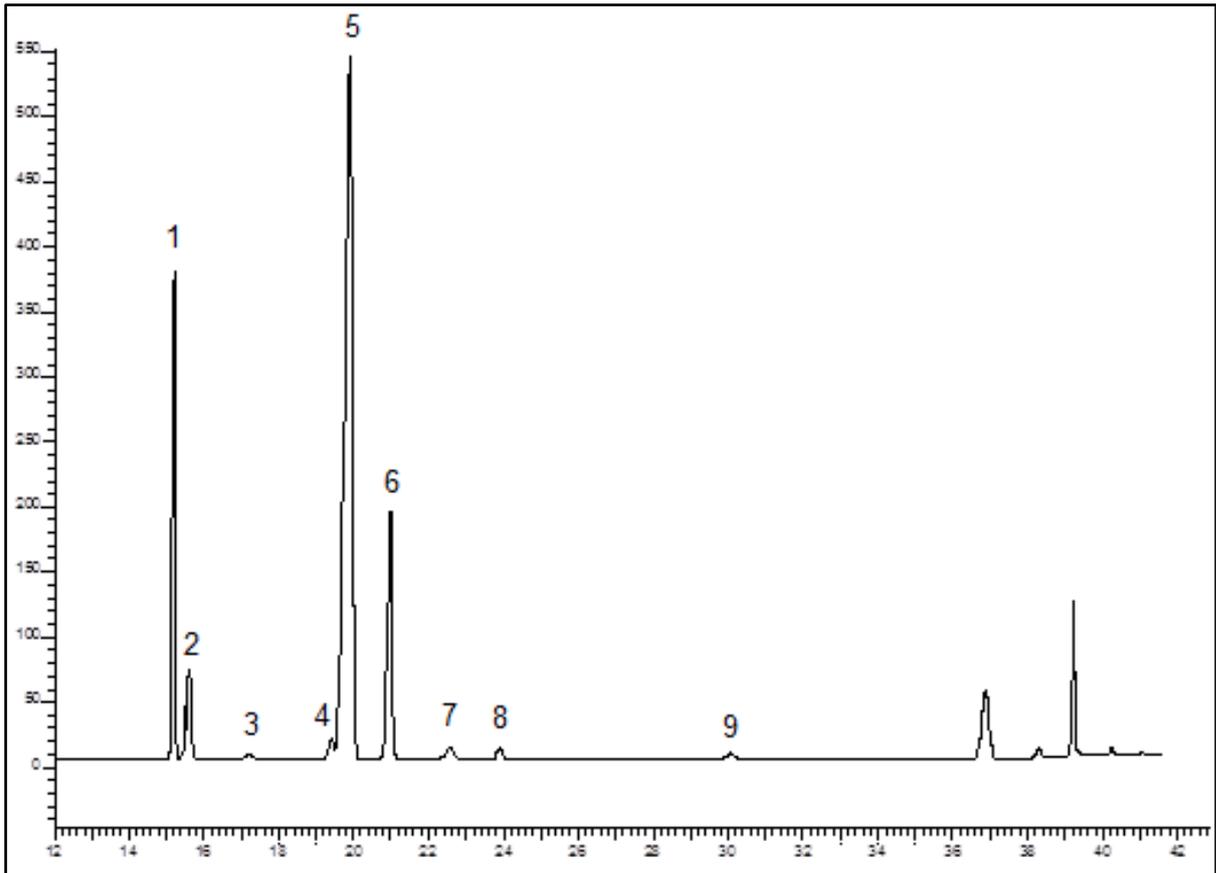


Figura 11- Perfil cromatográfico dos ácidos graxos que constituem o azeite de oliva cv. Arbosana, utilizando cromatógrafo gasoso Perkin Elmer Clarus 500, equipado com detector FID a 250°C e coluna ID Carbowax 20M à temperatura inicial de 90°C e final.

Dentre os ácidos identificados em todas as amostras estão: C16- ácido palmítico, C16:1- ácido palmitoleico, C17:1- ácido margárico, C18:0- ácido esteárico, C18:1- ácido oleico, C18:2- ácido linoleico, C18:3- ácido linolênico, C20:1- ácido gadoleico e C24:0- ácido lignocérico.

O principal ácido graxo encontrado em todas as amostras de azeite em termos quantitativos foi o ácido oleico (C18:1), constituindo de 51,91 a 79,67% da composição em ácidos graxos conforme dados da tabela 3.

Tabela 3 - Percentual relativo de ácidos graxos nos azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013)

Região	Cultivar	Ácidos Graxos								
		C:16	C16:1	C17:1	C18	C18:1	C18:2	C18:3	C20:1	C24
Pelotas	Picual	14,32ef	1,91abc	ND	1,47 abc	75,55bc	5,35 f	0,92bcd	0,26abc	0,20 a
	Coratina	13,91ef	0,25 e	ND	1,43 abc	73,87bcd	9,04cdef	1,02bc	0,35 a	0,12 a
	Carboncella	14,77 def	2,45ab	0,13 bc	1,06cdef	72,63cde	7,34def	1,12 b	0,26abc	0,23 a
	Blanqueta	20,07 a	2,40ab	0,22ab	1,35abcd	51,91h	22,39 a	0,92bcd	0,33 ab	0,37 a
	Mission	16,59bcd	2,89 a	0,12 bc	0,91ef	72,37cde	5,99ef	0,60d	0,14 c	0,38 a
	Ascolana	8,87 g	0,26 de	ND	1,22bcdef	83,31 a	5,25 f	0,88bcd	0,22bc	ND
Bagé	Grapolo	9,22 g	0,27de	ND	1,30bcde	79,67ab	8,23cdef	1,00bc	0,24 abc	0,07 a
	Galega	16,48bcd	2,59ab	0,29a	0,98def	67,66ef	10,65cde	1,03bc	0,23bc	0,09a
	Maurino	13,46 f	1,32c	0,08 c	1,16bcdef	75,18bc	7,33def	0,93bcd	0,26abc	0,32 a
	Pendolino	16,55bcd	1,24cd	ND	0,85 f	66,68ef	12,74bc	1,57 a	0,22bc	0,14 a
	Grigman	15,65cde	1,67 bd	ND	1,09bcdef	68,35def	11,75cd	1,10 b	0,25abc	0,13 a
Uruguaiana	Arbequina	16,94bc	2,64ab	0,27ab	1,74 a	64,86fg	12,07bcd	0,81bcd	0,34ab	0,32 a
	Arbosana	17,98 b	2,65ab	0,19ab	1,50ab	60,29 g	16,66b	0,68cd	0,22 bc	0,09 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

ND – Não detectado.

Cardoso et al. (2010), Menendez et al. (2005) e Jabeur et al (2015) descrevem que dentre os ácidos graxos presentes no azeite de oliva, o principal e mais abundante é o ácido oleico, que possui, como principais efeitos, a redução do colesterol total e LDL. Além disso, auxilia em alterações na membrana das plaquetas produzindo a ação anti-trombótica.

Segundo a legislação vigente do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2012), existem limites de tolerância para os ácidos graxos tipicamente encontrados nos azeites de oliva, com base nos limites estabelecidos, os azeites das cultivares Coratina, Ascolana e Grappolo apresentaram conteúdo de ácido palmitoleico (C16:1) abaixo do estipulado (0,3 a 3,5%), assim como a cultivar Blanqueta não atingiu o conteúdo mínimo de 55% para o ácido oleico, apresentando um conteúdo de 51,91%.

Em contrapartida os azeites das cultivares Coratina, Carboncella, Galega, Pendolino e Grigam apresentaram conteúdo levemente superior ao valor estipulado para ácido linolênico ($\leq 1\%$) com valores de 1,02 a 1,57%, os azeites das cultivares Carboncella, Blanqueta, Mission, Maurino e Arbequina extrapolaram o valor máximo estipulado para o ácido lignocérico (0,2%) com valores oscilando de 0,23 a 0,38%.

Pela Legislação também existem valores estipulados para os ácidos mirístico (C14 $\leq 0,05\%$), margárico (C17 $\leq 0,3\%$), araquídico (C20 $\leq 0,6\%$) e behênico (C22 $\leq 0,2\%$), estes ácidos não foram detectados nas amostras analisadas.

Cardoso et al. (2010) avaliaram o perfil de ácidos graxos de azeites de oliva de diferentes cultivares, dentre estes o da cultivar Ascolana, e assim como neste estudo não conseguiram detectar o conteúdo do ácido margárico, e o conteúdo dos demais ácidos graxos se assemelham; entretanto, estes autores identificaram os ácidos tricosanóico (C:23), nervônico (C24:1) e cervônico (C22:6).

Ao avaliar o perfil de ácidos graxos de azeites provenientes da cidade de Bagé-RS, Crizel-Cardoso et al. (2012) identificaram seis ácidos graxos na amostra da cultivar Grappolo, dentre eles os ácidos oleico, linoleico e linolênico, que apresentaram valores levemente inferiores aos encontrados no presente estudo; entretanto, os demais ácidos graxos apresentaram conteúdos superiores.

Segundo Laroussi-Mezghani e colaboradores (2015), a composição de ácidos graxos oscila marcadamente com a cultivar e estágio de maturidade das azeitonas, o que pode justificar as diferenças encontradas nos diferentes estudos.

Segundo Beltrán et al. (2008) ao longo do processo de maturação do fruto acontecem alterações na composição dos ácidos graxos do azeite de oliva, como exemplo o decréscimo do conteúdo de ácido palmítico, assim como do conjunto de ácidos graxos saturados durante o período de maturação. O ácido oleico, entretanto, apresenta uma evolução variável, uma vez que pode permanecer constante ou apresentar um leve incremento em seu conteúdo durante o processo de maturação da azeitona, enquanto o ácido linoleico tende a aumentar seu percentual relativo ao longo do processo de maturação do fruto.

Outros fatores, além dos descritos anteriormente, também são citados por Boskou (1998) como influenciadores da composição de ácidos graxos de uma amostra para outra, como a latitude e as condições edafo-climáticas do local de plantio das oliveiras.

5.3 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos constituem uma importante classe de produtos naturais, responsáveis por processos que evitam a auto-oxidação e a foto-oxidação nas plantas, pois exercem atividade antioxidante frente aos radicais livres produzidos durante a fotossíntese (LARA-ORTEGA et al., 2016).

Para o azeite de oliva, a determinação da fração de compostos fenólicos é um parâmetro que avalia a qualidade do produto no aspecto nutricional e do ponto de vista sensorial, pois estes compostos interferem marcadamente nas características sensoriais de amargo e picante (MELLO; PINHEIRO, 2012).

As maiores concentrações de compostos fenólicos foram obtidas nos azeites provenientes das variedades Grigman e Coratina, com 156,74 e 145,50 mg ácido gálico.kg⁻¹, respectivamente. Como pode ser observado na tabela 4, os valores mínimos foram observados nos azeites das cultivares Carboncella e Picual, respectivamente de 61,81 e 65,94 mg ácido gálico.kg⁻¹.

Tabela 4 - Teor de compostos fenólicos em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo

Região	Cultivar	Compostos Fenólicos (mg ácido gálico.kg ⁻¹)
Pelotas	Picual	65,94 ± 1,44 ij
	Coratina	145,50 ± 3,95 b
	Carboncella	61,81 ± 3,27 j
	Blanqueta	118,90 ± 3,09 d
	Mission	84,42 ± 1,95 fg
	Ascolana	72,52 ± 2,33hi
Bagé	Grapolo	137,31 ± 6,23 bc
	Galega	131,24 ± 2,27 c
	Maurino	101,77 ± 0,43 e
	Pendolino	81,10 ± 4,94 gh
	Grigman	156,74 ± 2,33 a
Uruguaiana	Arbequina	77,57 ± 4,31 gh
	Arbosana	92,51 ± 3,91 ef

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey(p<0,05).

Os teores de compostos fenólicos encontrados neste estudo para amostras das cultivares Arbequina e Arbosana diferem dos resultados obtidos por Huk et al. (2014) os quais observaram conteúdos de 102,30 e 104,33 mg.kg⁻¹ respectivamente, para azeites destas cultivares provenientes de Santa Catarina.

Allalout et al. (2009) e Manai-Dieballi et al. (2012) relataram valores com variações de 108,27 a 236,48 e de 253 a 1400 mg.kg⁻¹, respectivamente, para diferentes cultivares avaliadas, constatando diferenças significativas entre cultivares, mesmo fato observado no presente estudo.

De acordo com Dag et al. (2011), o teor de compostos fenólicos é reduzido durante o amadurecimento dos frutos, o que torna o azeite mais susceptível a oxidação; entretanto, se o azeite for extraído de azeitonas em estágio inicial de amadurecimento, apresentará aspectos inaceitáveis sensorialmente, sendo necessário definir um ponto de maturação ideal para a extração.

Teores discrepantes do conteúdo de compostos fenólicos têm sido relatados na literatura (de 5 a 1000 mg.kg⁻¹) mas, os valores são geralmente entre 100 e 300

mg.kg⁻¹. O cultivar, o sistema de extração, as condições de processamento, embalagem, distribuição e armazenamento são fatores críticos que podem afetar o conteúdo final de compostos fenólicos no azeite (TSIMIDOU, 1998).

5.4 Conteúdo de Pigmentos

Os pigmentos presentes no azeite de oliva desempenham papel importante, não apenas na aparência, proporcionando sua cor característica, mas também desempenham papel essencial na estabilidade oxidativa do azeite. Por ser um fotossensibilizador, a clorofila pode participar da fotoxidação e ocasionar a degradação do azeite se exposto à luz e oxigênio (TORRECILLA et al., 2015; CRIZEL-CARDOSO, 2014).

Na tabela 5 são apresentados os resultados obtidos para o conteúdo de pigmentos presentes nas amostras de azeites.

Tabela 5 - Conteúdo de pigmentos em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.

Região	Cultivar	Clorofila Total (mg.kg ⁻¹)	Carotenoides (mg β-caroteno.kg ⁻¹)
Pelotas	Picual	0,43 ± 0,03 de	3,21 ± 0,01 cd
	Coratina	0,31 ± 0,01 ef	3,54 ± 0,09 bc
	Carboncella	0,98 ± 0,11 a	3,84 ± 0,01 b
	Blanqueta	0,13 ± 0,01 fg	1,98 ± 0,14 g
	Mission	0,41 ± 0,07 de	2,63 ± 0,03 ef
	Ascolana	0,20 ± 0,01 fg	1,82 ± 0,11 g
Bagé	Grapolo	0,25 ± 0,06 g	2,64 ± 0,07 e
	Galega	0,68 ± 0,08 bc	7,88 ± 0,13 a
	Maurino	0,66 ± 0,04 bc	3,46 ± 0,05 bc
	Pendolino	0,72 ± 0,01 b	3,75 ± 0,18 b
	Grigman	0,50 ± 0,04 d	1,88 ± 0,24 g
Uruguaiana	Arbequina	0,55 ± 0,05 cd	2,21 ± 0,18 fg
	Arbosana	0,74 ± 0,06 b	2,88 ± 0,27 de

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

Dentre as amostras avaliadas o azeite que apresentou maior conteúdo de carotenoides foi o azeite da cultivar Galega com 7,88 mg β-caroteno.kg⁻¹. Em

contrapartida o azeite obtido da cultivar Ascolana apresentou o menor conteúdo de carotenoides $1,82 \text{ mg } \beta\text{-caroteno.kg}^{-1}$.

Em relação ao conteúdo de clorofilas os azeites das cultivares Carboncella e Blanqueta apresentaram conteúdo máximo e mínimo de $0,98$ e $0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivamente, ambos azeites provenientes da cidade de Pelotas. Moyano et al. (2008) ao analisarem o conteúdo de pigmentos de diferentes azeites monovarietais provenientes da Espanha, observaram que os azeites das cultivares Picual e Arbequina apresentaram conteúdo de carotenoides de $6,49$ e $2,28 \text{ mg } \beta\text{-caroteno.kg}^{-1}$ e clorofila de $6,78$ e $3,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ respectivamente. No presente estudo apenas o valor de carotenoides do azeite da cultivar Arbequina ($2,21 \text{ mg } \beta\text{-caroteno.kg}^{-1}$) se assemelha aos resultados obtidos por Moyano et al. (2008), os demais dados foram inferiores.

Entretanto, os resultados obtidos na análise de clorofila de azeites da cultivar Arbequina cultivadas na cidade de Pelotas, estudada por Crizel-Cardoso (2014) são semelhantes aos do presente estudo, com valores variando de $1,18$ a $0,43 \text{ mg.kg}^{-1}$, conforme ocorria o aumento do estágio de maturação dos frutos. Portanto, é possível supor que o azeite avaliado neste estudo foi obtido a partir de azeitonas com estágio de maturação avançado.

Giuffrida et al. (2011) atribuíram as diferenças quantitativas de pigmentos entre as amostras de azeite à diferenças varietais, devido a biossintética característica ou das vias catabólicas e/ou diferenças geográficas. De acordo com Matos et al. (2007), a quantidade de pigmentos é característica para cada cultivar, assim como a taxa de degradação destes compostos.

Sabe-se que esses pigmentos em frutos da oliveira diminuem durante a maturação dos frutos, quando a síntese de pigmentos antociânicos se intensifica, concomitantemente ocorre a transformação das clorofilas *a* e *b* em feofitina *a* e feofitina *b*, devido à transformação estrutural causada pela remoção do íon magnésio das clorofilas, que é o responsável pelo tom esverdeado, tornando a coloração do azeite amarelada, portanto o máximo conteúdo de clorofilas e de carotenoides são encontrados nos azeites extraídos de frutos verdes (GIUFFRIDA et al., 2007; GIUFFRIDA et al., 2011).

Ambas as análises não apresentaram relação entre o conteúdo de pigmentos com a área de cultivo, já que houve diferença significativa entre amostras, tanto em função da cultivar quanto da região de cultivo.

5.5 Tocoferóis

Na separação cromatográfica observou-se três picos distintos (Figura 12), correspondentes aos componentes dos tocoferóis. Os tocoferóis foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os padrões, onde identificou-se o δ -, β + γ - e α -tocoferol, correspondentes aos picos 1, 2 e 3 respectivamente.

Nas condições aplicadas neste estudo o β -tocoferol não se separou de seu isômero, o γ -tocoferol, e portanto, o pico 2 corresponde ao conteúdo do β - e γ -tocoferol. O gama e o beta tocoferol eluem com o mesmo tempo de retenção, devido à utilização de coluna de fase reversa, a qual não permite a separação destes isômeros (CRIZEL-CARDOSO, 2014).

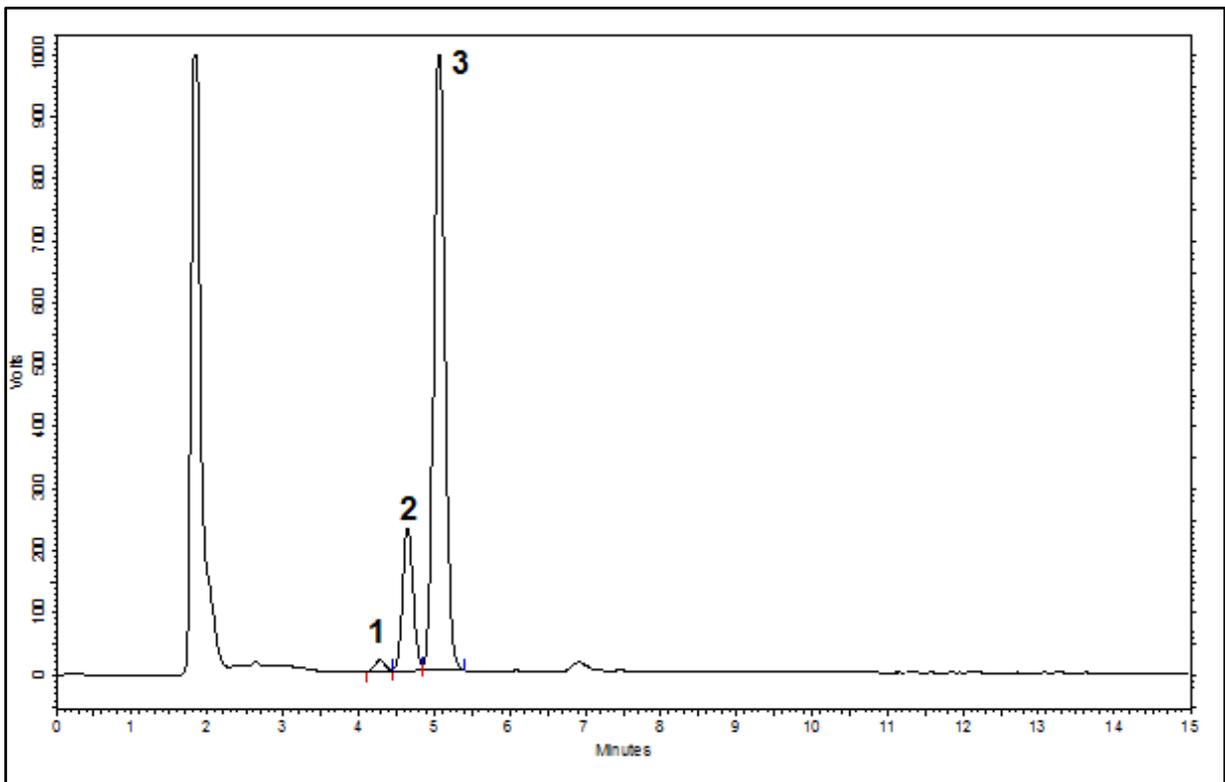


Figura 12 - Cromatograma típico de separação de δ -, β + γ - e α - tocoferóis em azeite de oliva cv. Coratina por HPLC, utilizando coluna de fase reversa RP-18CLS-ODS, gradiente de metanol:acetonitrila:isopropanol e detector de fluorescência, utilizando comprimento de onda de 290 nm para excitação e de 330 nm para a emissão. Os picos correspondem a: 1) δ -tocoferol; 2) β + γ -tocoferol e 3) α -tocoferol.

Os maiores conteúdos de tocoferóis encontrados correspondem ao alfa tocoferol, com valores entre 49,10 e 20,44 mg.100g⁻¹ para as cultivares Mission e Ascolana, respectivamente, ambas provenientes da cidade de Pelotas, no geral

houve pouca variação estatística do conteúdo de α -tocoferóis entre as amostras. Em contrapartida para os dados referentes ao δ - e $\beta+\gamma$ - tocoferol houve grande variação estatística entre as amostras, dados demonstrados na tabela 6.

Tabela 6- Conteúdo de tocoferóis em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.

Região	Cultivar	Tocoferóis (mg.100g ⁻¹)		
		δ - tocoferol	$\beta+\gamma$ - tocoferol	α - tocoferol
Pelotas	Picual	0,25 \pm 0,01 a	2,94 \pm 0,02 a	33,38 \pm 0,05 abc
	Coratina	0,28 \pm 0,01 a	2,60 \pm 0,04 c	43,10 \pm 0,77 ab
	Carboncella	0,15 \pm 0,01 bcd	2,98 \pm 0,01 a	29,43 \pm 0,01 bc
	Blanqueta	0,19 \pm 0,05 b	1,16 \pm 0,04 g	37,47 \pm 0,09 abc
	Mission	0,25 \pm 0,01 a	2,83 \pm 0,05 b	49,10 \pm 1,69 a
	Ascolana	0,11 \pm 0,01 e	1,15 \pm 0,04 g	20,44 \pm 0,40 c
Bagé	Grapolo	0,12 \pm 0,01 de	1,52 \pm 0,01 e	38,04 \pm 0,03 ab
	Galega	0,17 \pm 0,01 bc	2,14 \pm 0,01 d	48,61 \pm 0,26 a
	Maurino	0,12 \pm 0,01 de	1,35 \pm 0,02 f	34,42 \pm 0,83 abc
	Pendolino	0,14 \pm 0,01 cde	1,51 \pm 0,01 e	46,34 \pm 0,21 abc
	Grigman	0,14 \pm 0,01 cde	1,50 \pm 0,02 e	42,31 \pm 0,41 ab
Uruguaiana	Arbequina	0,24 \pm 0,01 a	0,63 \pm 0,01 i	27,14 \pm 0,10 bc
	Arbosana	0,12 \pm 0,01 de	0,94 \pm 0,04 h	46,79 \pm 3,99 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey($p < 0,05$).

Resultados semelhantes foram obtidos por Ballus et al. (2014) ao estudarem azeites de diferentes cultivares, eles observaram que o α -tocoferol foi o tocoferol majoritário, sendo este o principal composto de tocoferol encontrado nos azeites de oliva.

Nos azeites estudados, o teor de tocoferol pode ter sido dependente da variedade da azeitona, assim como previamente relatado por Arslan e Schreiner (2012), Salvador et al. (2001) e Condelli et al. (2015).

No entanto, segundo outros autores como Baccouri et al. (2008) e Crizel-Cardoso (2014) a variação do conteúdo de tocoferóis pode ser sugerida por diferenças no grau de maturação dos frutos, uma vez que o conteúdo destes compostos apresentam tendência à redução durante o processo de amadurecimento.

Estudos relataram diferentes conteúdos de α -tocoferol em azeites monovarietais em função da cultivar 13,2-26,1 mg.100g⁻¹ (Matos et al., 2007), 19,37-34,97 mg.100g⁻¹ (Salvador et al., 2001), 24-48mg.100g⁻¹ (Dabbou et al., 2009), 14,19-34,30 mg.100g⁻¹ (Arslan e Schreiner, 2012), 9,8-37 mg.100g⁻¹ (Psomiadou et al., 2000), demonstrando que os conteúdos de α - tocoferol obtidos neste estudo, de um modo geral, são similares aos dados relatados por outros autores.

5.6 Fitoesteróis

Fitoesteróis são componentes importantes do azeite presentes na fração insaponificável. Estudos demonstraram que o perfil de esteróis é considerado como uma impressão digital, sendo único para cada azeite de oliva monovarietal, o que torna a sua determinação uma ferramenta importante para averiguar a autenticidade dos azeites e detectar adulterações (LOPEZ et al., 2014; LUKIC et al., 2013).

No entanto, o teor e composição dos fitoesteróis podem variar devido às condições agronômicas, climáticas, qualidade dos frutos ou sementes, processo de extração do óleo, procedimentos de refino e condições de armazenamento (CAÑABATE-DÍAZ et al., 2007).

Afim de prevenir possíveis adulterações nos azeites, várias organizações internacionais, como o Codex Alimentarius da FAO/OMS, a União Europeia e o Conselho Oleícola Internacional estabeleceram valores característicos para alguns destes compostos, sendo preconizado o limite total de 1000 mg.kg⁻¹ para o azeite virgem.

Foi detectado apenas um fitosterol nos azeites de oliva estudados, identificado como β -sitosterol (Figura 13).

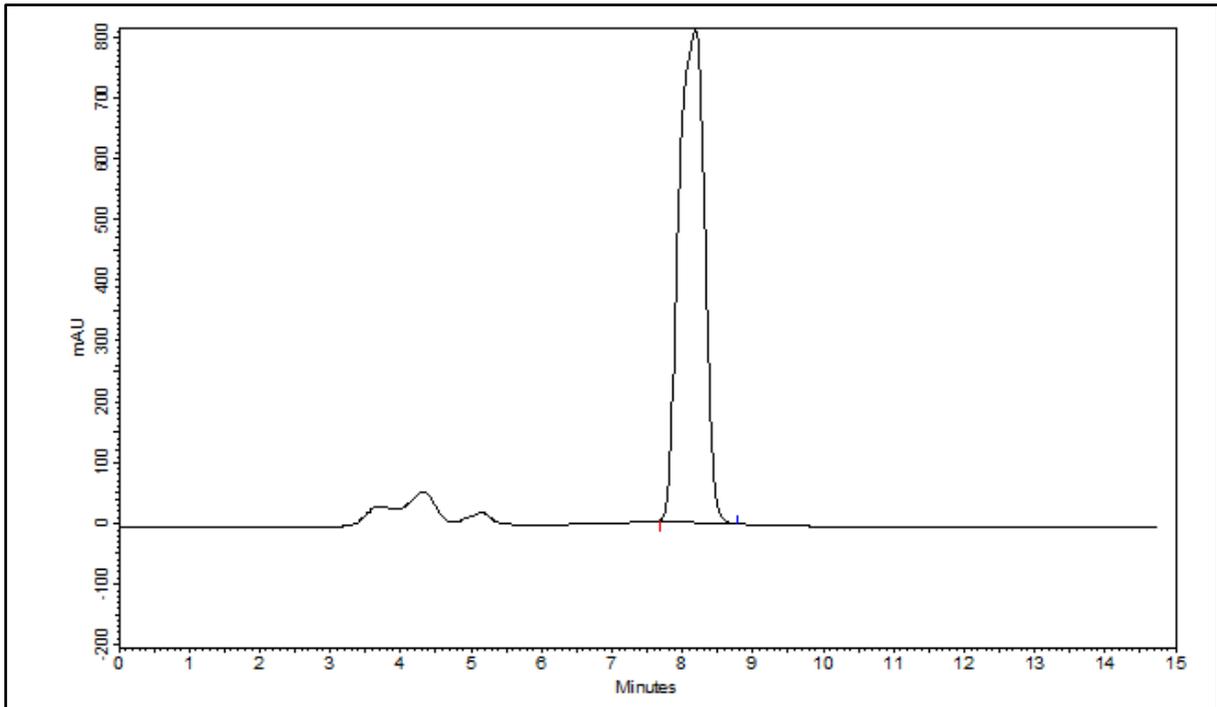


Figura 13 - Cromatograma típico de separação do β -sitosterol em azeite de oliva cv. Maurino, utilizando HPLC, equipado com coluna de fase reversa RP-18CLS-ODS. A separação foi realizada por eluição isocrática de metanol e a identificação por detector UV-Vis a 205 nm.

A seguir (tabela 7) pode-se observar os dados referentes ao conteúdo de fitoesteróis nas amostras de azeites analisados.

Tabela 7 - Conteúdo de β -sitosterol em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo.

Região	Cultivar	β -sitosterol (mg.g ⁻¹)
Pelotas	Picual	18,28 ± 0,36 bc
	Coratina	7,35 ± 0,02 fg
	Carboncella	8,75 ± 0,01 f
	Blanqueta	16,52 ± 2,86 c
	Mission	13,68 ± 0,87 de
	Ascolana	16,41 ± 0,20 cd
Bagé	Grapolo	18,19 ± 0,64 c
	Galega	5,56 ± 0,50 gh
	Maurino	21,36 ± 0,43 a
	Pendolino	12,44 ± 0,58 e
	Grigman	18,71 ± 1,03 abc
Uruguaiana	Arbequina	20,98 ± 0,08 ab
	Arbosana	4,09 ± 0,17 h

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey(p<0,05).

Os maiores e menores conteúdos de β -sitosterol foram de 21,36 e 4,09 mg.g⁻¹, para as cultivares Maurino e Arbosana, provenientes das cidades de Bagé e Uruguaiana, respectivamente.

O conteúdo de β -sitosterol dos azeites diferiu estatisticamente, sendo observados valores discrepantes entre as amostras, ainda que dentro da mesma região de cultivo. Sendo, portanto, possível observar relação mais acentuada entre a cultivar com o conteúdo de fitoesteróis nas amostras de azeites, do que com a região de cultivo.

Considerando os regulamentos citados anteriormente, todos os azeites estudados apresentam conteúdo de fitoesteróis muito acima do limite estabelecido de 1000 mg.kg⁻¹. Matos et al., (2007) e Alves et al. (2005) também relatam valores superiores, oscilando entre 1120,41 e 2553,5 mg.kg⁻¹.

Sivakumaret al. (2006) ao avaliarem o conteúdo de fitoesteróis em azeites de três cultivares, observaram conteúdos de 3,15 a 5,49mg.g⁻¹ de β -sitosterol sendo o maior valor encontrado para o azeite da cultivar Coratina. No presente estudo o

azeite da mesma cultivar apresentou conteúdo de $7,35 \text{ mg.g}^{-1}$ de β -sitosterol, estando entre os menores valores detectados.

Ao comparar os resultados obtidos neste estudo com aqueles obtidos por Crizel-Cardoso em 2014 é possível observar que os azeites produzidos na região sul do estado do Rio Grande do Sul apresentam alto conteúdo de fitoesteróis, uma vez que esse autor encontrou valores oscilando de $20,73$ a $25,99 \text{ mg.g}^{-1}$ de β -sitosterol para a cultivar Arbequina e valores de $28,96$ a $34,74 \text{ mg.g}^{-1}$ de β -sitosterol para a cultivar Koroneiki de forma semelhante ao encontrado neste estudo.

5.7 Atividade Antioxidante – ABTS

Existe um interesse crescente nas propriedades antioxidantes dos compostos naturais e componentes alimentares. Sabe-se que é aconselhável controlar estas características durante o processamento dos alimentos, a fim de melhorar a qualidade nutricional e estabilidade dos produtos. Assim, a avaliação da atividade antioxidante e sua eficácia é uma função relevante para a previsão do tempo de vida útil de um azeite (CONDELLI et al., 2015).

A oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração da qualidade do azeite virgem, afetando as características sensoriais e comprometendo assim a aceitabilidade do produto. Além disso, os compostos de degradação que se formam em óleos oxidados são também conhecidos, por causar efeitos negativos sobre a saúde quando ingeridos (MANCEBO-CAMPOS et al., 2014).

De acordo com os dados da tabela 8, é possível observar que poucas amostras apresentaram diferenças significantes entre si, apenas azeites provenientes da cidade de Bagé diferiram entre si, porém não houve diferenças entre os azeites das cidades estudadas, evidenciando, mais uma vez que o fator geográfico não foi responsável por divergências nos dados da atividade antioxidante.

Tabela 8 - Atividade antioxidante equivalente ao TROLOX (TEAC) pelo método ABTS em azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul (safra 2012/2013) em função da cultivar e região de cultivo

Região	Cultivar	Valor TEAC (mM Trolox.g ⁻¹)
Pelotas	Picual	0,85± 0,08 b
	Coratina	1,42 ± 0,04 ab
	Carboncella	1,12 ± 0,23 ab
	Blanqueta	2,20 ± 0,53 ab
	Mission	2,26 ± 0,52 ab
	Ascolana	1,12 ± 0,03 ab
Bagé	Grapolo	0,64± 0,34 b
	Galega	4,19± 1,43 a
	Maurino	1,95 ± 0,15 ab
	Pendolino	0,56± 0,05 b
	Grigman	4,20± 1,42 a
Uruguaiana	Arbequina	1,59 ± 0,15 ab
	Arbosana	2,76± 0,67 ab

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey(p<0,05).

Os maiores valores de atividade antioxidante foram observados nos azeites das cultivares Galega (4,19 mM Trolox.g⁻¹) e Grigman (4,20 mM Trolox.g⁻¹), provenientes da cidade de Bagé, entretanto o menor valor foi observado para o azeite da cultivar Pendolino também proveniente desta mesma cidade (0,56 mM Trolox.g⁻¹).

Segundo alguns autores, ainda não há uma metodologia consolidada referente à análise da atividade antioxidante de óleos vegetais, e muitas vezes os resultados obtidos são de difícil interpretação. A análise do potencial antioxidante é considerada um desafio analítico devido ao fato de que os métodos disponíveis terem sido desenvolvidos para análise de amostras aquosas, e geralmente adaptações nos ensaios são necessárias para obter melhores resultados com amostras lipofílicas (NINFALI et al., 2001; CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011).

Porém Koidis e Boskou (2015) sugerem que a atividade antioxidante do azeite, geralmente, é determinada pelo método ABTS ou pelo radical DPPH, os quais são ensaios baseados na capacidade de proteger contra a oxidação por

radicais peroxil. Estes autores ainda afirmam que estes métodos fornecem informações sobre a bioatividade *in vitro* dos azeites, e a proteção contra auto-oxidação, contudo a sua biodisponibilidade e seu papel na saúde e nutrição, são muito mais complexos.

5.7.1 Análise de Correlação de Person

A correlação consiste de uma metodologia que propicia a avaliação de uma possível associação entre duas variáveis contínuas. Representado pela letra “r”, o coeficiente de correlação de Pearson consiste na medida do grau de relação entre duas variáveis quantitativas. Este coeficiente varia entre os valores -1 e 1. O valor 0 (zero) significa que não há relação linear, o valor 1 indica uma relação linear perfeita e o valor -1 também indica uma relação linear perfeita porém inversa, ou seja quando uma das variáveis aumenta a outra diminui. Quanto mais próximo estiver de 1 ou -1, mais forte é a associação linear entre as duas variáveis (FILHO et al., 2009; MUKAKA, 2012).

Na análise de correlação entre atividade antioxidante e o conteúdo de compostos fenólicos foi obtido um coeficiente de correlação de $r=0,5285$, na figura 9 é possível observar o gráfico de dispersão que demonstra esta correlação.

Segundo Mukaka (2012) correlações com $r=0$ até $r=0,30$ são consideradas desprezíveis; $r=0,30$ até $r=0,50$ fracas; $r=0,50$ até $r=0,70$ moderadas; $r=0,70$ até $r=0,90$ fortes e $r=0,90$ até $r=1$ muito forte. Com base no resultado obtido é possível dizer que esta é uma correlação fraca a moderada, ou seja nem todas as cultivares apresentaram o valor de atividade antioxidante dependente do conteúdo de compostos fenólicos. Algumas cultivares apresentaram alto conteúdo de compostos fenólicos, porém estes valores não corresponderam a uma alta atividade antioxidante, como foi observado na cultivar Grappolo.

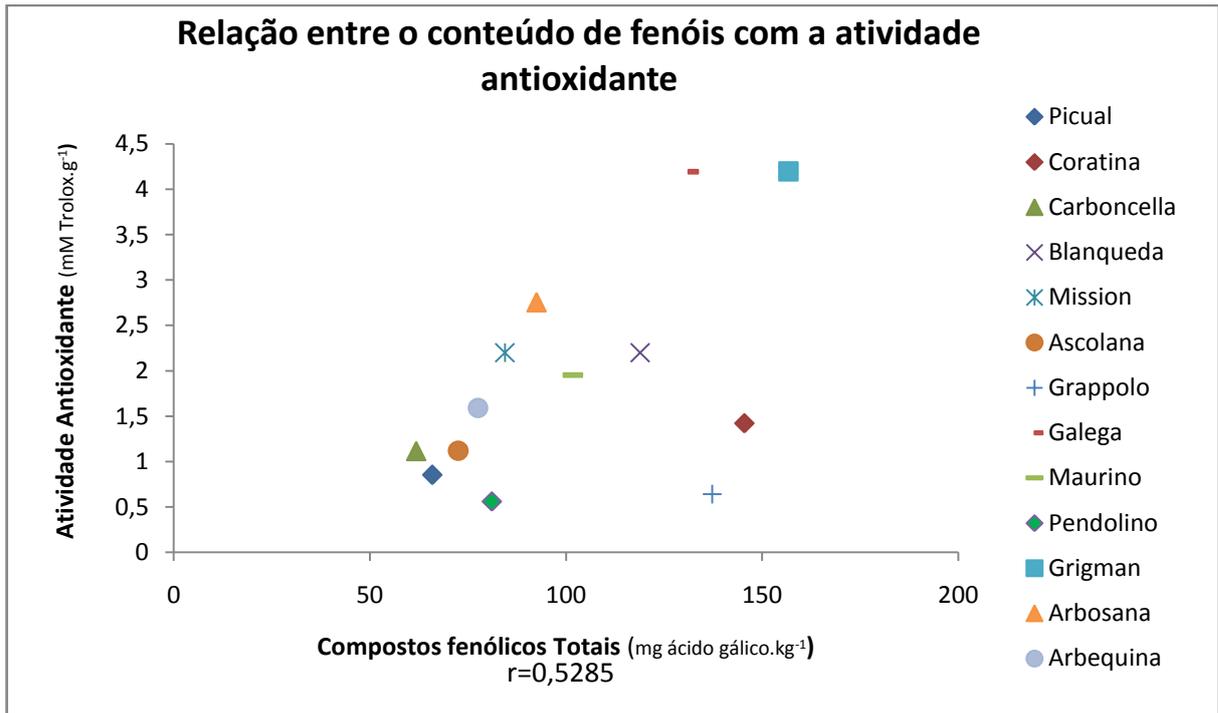


Figura 14 - Correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos com a atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul.

Resultado semelhante foi relatado por Caporaso et al. (2015) ao analisarem azeites extra virgens comerciais italianos, os quais também não observaram correlação positiva forte entre o conteúdo de compostos fenólicos com a atividade antioxidante. Os autores relatam ainda que a baixa correlação se deve ao fato de que alguns compostos como os tocoferóis, desempenharem funções antioxidantes mais intensas nos azeites.

Para tentar visualizar o efeito dos tocoferóis, também foi realizada análise de correlação entre o conteúdo de α - tocoferol (tocoferol mais abundante encontrado nas amostras), com a atividade antioxidante, o resultado pode ser observado no gráfico representado na figura 15.

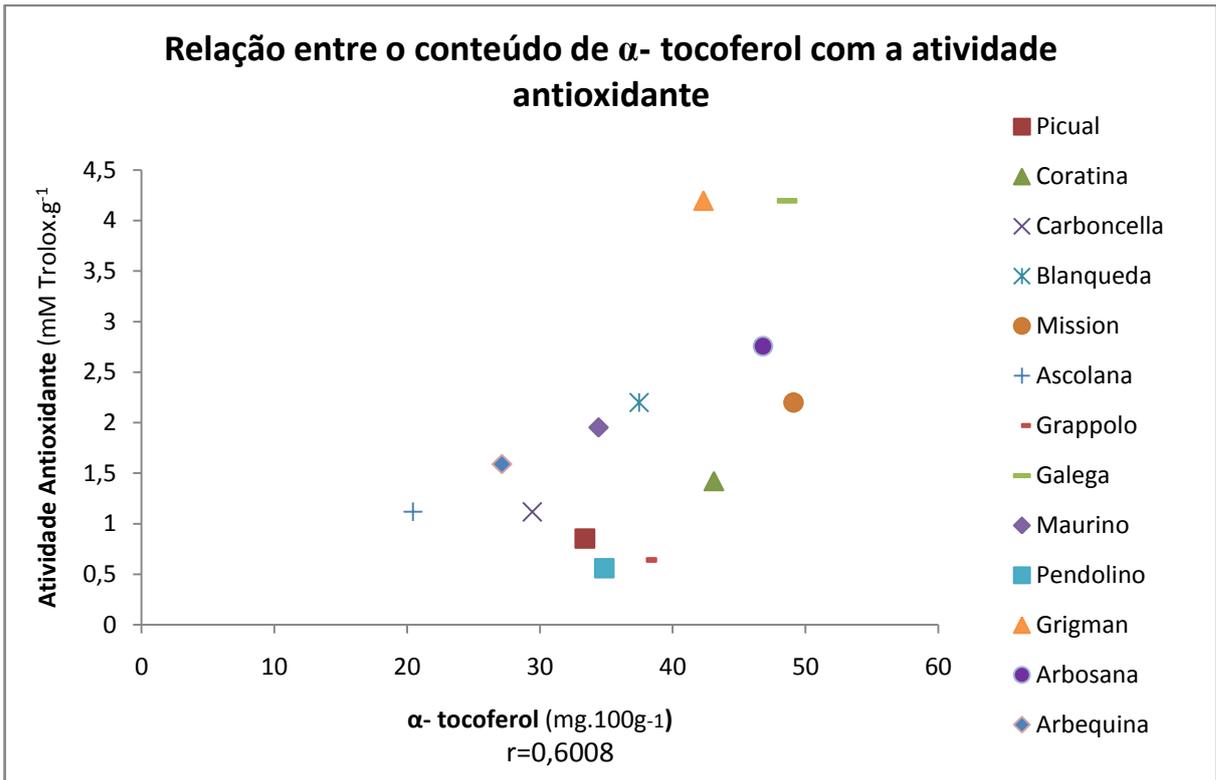


Figura 15 - Correlação entre o conteúdo de α -tocoferol com a atividade antioxidante de azeites de oliva produzidos no Rio Grande do Sul.

A correlação entre o conteúdo de α -tocoferol e a atividade antioxidante foi de $r=0,6008$; portanto, um pouco superior, que a correlação obtida com o conteúdo de compostos fenólicos, porém ainda dentro dos parâmetros para ser considerada moderada.

Segundo Castelo-Branco e Torres (2011) outros componentes dos óleos vegetais, tais como carotenoides e clorofilas, também podem contribuir para a atividade antioxidante dos azeites. No entanto, assim como os compostos fenólicos, os carotenoides e as clorofilas são parcial ou completamente removidos ou isomerizados durante o processo de refino dos óleos, apresentando-se portanto, em maiores concentrações apenas nos óleos não refinados. Logo, é razoável supor que esses compostos podem contribuir para a capacidade antioxidante de óleos não refinados, como no azeite de oliva virgem ou extra virgem.

No presente estudo a correlação existente entre a atividade antioxidante com o conteúdo de pigmentos, foi considerada de desprezível a fraca com correlações de $r=0,14$ para clorofilas e $r=0,334$ para carotenoides.

Dabbou et al. (2010) observaram que os fatores que apresentaram correlação mais forte com a capacidade antioxidante, avaliada pelo ensaio da TEAC, em azeites de oliva, foram os teores de carotenoides ($r=0,86$) e de clorofilas ($r=0,76$), seguidos pelo teor de compostos fenólicos ($r=0,64$). Entretanto, embora se observem correlações significativas entre as variáveis, são necessárias mais investigações para confirmar o papel desses pigmentos como determinantes da capacidade antioxidante de óleos vegetais.

6 Conclusão

De acordo com legislação vigente apenas o azeite de oliva da cultivar Blanqueta não se classificou na categoria “extra virgem”, em função do alto teor de acidez, sendo classificado como azeite de oliva “virgem”.

O perfil fitoquímico foi bastante variado entre os azeites de oliva estudados, entretanto o azeite da cultivar Grigman proveniente da cidade de Bagé foi o azeite que apresentou maior conteúdo de fitoquímicos em relação as demais cultivares. Em contrapartida, o azeite da cultivar Carboncella proveniente de Pelotas apresentou o menor conteúdo de fitoquímicos.

Foi possível observar no presente estudo que o fator genético contribuiu significativamente para as diferenças estatísticas entre os azeites estudados, entretanto vale ressaltar que não foram feitas avaliações sobre o estágio de maturação, nem mesmo análises com a mesma cultivar proveniente de diferentes regiões de cultivo, fatores esses que exercem forte influência no perfil fitoquímico do azeite como citado por diversos autores.

O azeite de oliva produzido no Rio Grande do Sul apresenta excelente qualidade e alto conteúdo de compostos bioativos, além de estar dentro dos padrões estipulados pela legislação brasileira, mostrando que o azeite gaúcho pode ser competitivo no mercado e, portanto ser mais explorado comercialmente.

7 Referências Bibliográficas

AGRITEMPO, Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. Disponível em: <<http://www.agritempo.gov.br/agritempo/produtos.jsp?siglaUF=RS>> Acesso em: 24 de fev. de 2016.

ALLALOUT, A.; KRICHÈNE, 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**, v. 120, p. 77-83, 2009.

ALMEIDA, C. A. S. **Avaliação dos principais fitoesteróis em óleos vegetais e azeite**. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2009.

ALVES, A. C. G. **Técnicas analíticas de controle de qualidade de azeites**. 2013. 151 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) - Instituto Politécnico de Tomar, Tomar. 2013.

ALVES, J. O. **Espectrometria de massas com ionização electrospray (esi-ms) e métodos quimiométricos: caracterização de azeites de oliva (extra virgem e puro) e outros óleos vegetais e quantificação de óleos adulterantes em azeite de oliva extra virgem**. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica)- Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2010.

ANGEROSA, F.; SERVILI, M.; SELVAGGINI, R.; TATICCHI, A.; ESPOSTO, S.; MONTEDORO, G. F. Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p.17–31, 2004.

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

APARÍCIO, R.; HARWOOD, J. **Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties**. Second Edition.

.ARSLAN, D.; SCHREINER, M. Chemical characteristics and antioxidant activity of olive oils from Turkish varieties grown in Hatay province. **Scientia Horticulturae**, v. 144, p. 141-152, 2012.

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**, v.109, p. 743-754, 2008.

BALLUS, C. A. **Otimização da separação de compostos fenólicos por eletroforese capilar e análise da composição em ácidos graxos de azeite de oliva extra virgem**. 2010, 159 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

BALLUS, C. A.; QUIRANTES-PINÉ, R.; BAKHOUCHE, A.; SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; COUTINHO, E. F.; CROCE, D. M.; SEGURA-CARRETERO, A.; GODOY, H. T. Profile of phenolic compounds of Brazilian virgin olive oils by rapid resolution liquid chromatography coupled to electrospray ionisation time-of-flight mass spectrometry (RRLC-ESI-TOF-MS). **Food Chemistry**, v. 170, p 366-377, 2015.

BECCARIA, M.; MORET, E.; PURCARO, G.; PIZZALE, L.; COTRONEO, A.; DUGO, P.; MONDELLO, L.; CONTE, L. S. Reliability of the Δ ECN42 limit and global method for extra virgin olive oil purity assessment using different analytical approaches. **Food Chemistry**, v. 190, p. 216-225, 2016.

BELTRÁN, G.; JIMÉNEZ, A.; RIO, C.; SÁNCHEZ, S.; MARTINEZ, L.; UCEDA, M.; AGUILERA, M.. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 1920, p. 1-7, 2010.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

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

BRAKE, M.; MIGDADI, H.; AL-GHARAIBEH, M.; AYOUB, S.; HADDAD, N.; OGLAH, A. E. Characterization of Jordanian olive cultivars (*Olea europaea* L.) using RAPD and ISSR molecular markers. **Scientia Horticulturae**, v.176, p. 282-289, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, 30 de janeiro de 2012. Regulamento técnico do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 01 fev. 2012, Seção 1, p. 5-8.

CALDERÓN, J. Azeitona não é tudo igual. **Adega**, v. 42, 2009 a. Disponível em: <http://revistaadega.uol.com.br/artigo/azeitona-nao-e-tudo-igual_448.html>. Acesso em: 10 de ago. 2015.

CALDERÓN, J. O mito da acidez dos azeites. **Adega**, v.48, 2009 b. Disponível em: <http://revistaadega.uol.com.br/artigo/o-mito-da-acidez-dos-azeites_1053.html>. Acesso em: 26 de ago. 2015.

CAMPOS, V. M. C. **Resposta Técnica: Extração de azeite de oliva**. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais – CETEC, 2013. 6 p.

CAÑABATE-DÍAZ, B., CARRETERO A. S., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A., VEGA, A. B., FRENICH, A. G., VIDAL, J. L. M., MARTOS, J. D. Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS. **Food Chemistry**, v.102, p. 593–598, 2007.

CAPORASO, N.; SAVARESE, M.; PADUANO, A.; GUIDONE, G.; DE MARCO, E.; SACCHI, R. Nutritional quality assessment of extra virgin olive oil from the Italian retail market: Do natural antioxidants satisfy EFSA health claims?. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 154-162, 2015.

CARAPINHA, P. G. **Utilização do azeite na fritura de alimentos**. 2012. 54 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2012.

CARDOSO, L. G. V. **Características físico-químicas e avaliação do perfil de ácidos graxos de azeites obtidos de diferentes variedades de oliveiras introduzidas em Minas Gerais – Brasil**. 2006, 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2006.

CARDOSO, L. G. V.; BARCELOS, M. F. P.; OLIVEIRA, A. F.; PEREIRA, J. A. R.; ABREU, W. C.; PIMENTEL, F. A.; CARDOSO, M. G.; PEREIRA, M. C. A. Características físico-químicas e perfil de ácidos graxos de azeites obtidos de diferentes variedades de oliveiras introduzidas no Sul de Minas Gerais – Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, p. 127-136, 2010.

CARVALHO, E. F. A.; CALVETE, M. J. F. Energia Solar: Um passado, um presente... um futuro auspicioso. **Revista Virtual de Química**, v.2, p 192-203, 2010.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 173-187, 2011.

COIMBRA, M. C. **Caracterização dos frutos e dos óleos extraídos da polpa e amêndoa de guariroba (*Syagrusoleracea*), jerivá (*Syagrusromanzoffiana*) e macaúba (*Acrocomiaaculeata*)**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2010.

CONDELI, N.; CARUSO, M. C.; GALGANO, F.; RUSSO, D.; MILELLA, L.; FAVATI, F. Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. **Food Chemistry**, v.177, p.233-239, 2015.

COSTA, H. M. L. G. **Azeites aromatizados: Estudo da influência do agente aromatizante na composição química e resistência à oxidação**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança. 2012.

COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. (Ed.). Cultivo de Oliveira (*Oleaeuropaea L.*). Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, 125p, 2009.

CRIZEL-CARDOSO, M. M. **Influência do grau de maturação da azeitona na qualidade do azeite de oliva**. 2014. 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2014.

CRIZEL-CARDOSO, M. M.; GOULARTE-DUTRA, F. L.; OTT, V.; COUTINHO, E. F.; ZAMBIAZI, R. C. Perfil de ácidos graxos de azeites de oliva obtidos de variedades cultivadas em Bagé/RS. In: XIV Encontro de Pós-Graduação – ENPOS, Pelotas, 2012.

CUNHA, S. C. S. **Autenticidade e Segurança de Azeites e Azeitonas: Desenvolvimento de metodologias cromatográficas para o doseamento de triacilglicerois, fitosteróis, tocoferóis/tocotrienóis e pesticidas**. 2007. 394 f. Tese (Doutorado em Ciências farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto. 2007.

DABBOU, S.; BRAHMI, F.; TAAMALI, A.; ISSAOUI, M.; OUNI, Y.; BRAHAM, M.; ZARROUK, M.; HAMMAMI, M. Extra virgin olive oil components and oxidative stability from olives grown in Tunisia. **Journal of the American Oil Chemists, Society**, v.87, p.1199-1209, 2010.

DABBOU, S.; ISSAOUI, M.; ESPOSTO, S.; SIFI, S.; TATICCHI, A.; SERVILI, M.; MONTEDORO, G. F.; HAMMAMI, M. Cultivating and growing area Effects on compounds of indigenous and European cultivars introduced oil Minor in Tunisia. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, p. 1314-1325, 2009.

DAG, A.; KEREM, Z.; YOGEV, N.; ZIPORI.; LAVEEE, S.; DAVID, E. B. Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. **Scientia Horticulturae**, 127, 358–366. 2011.

DAMODARAN, S., KIRK L. P., FENNEMA, O. R.: **Química de alimentos**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

DIAS, S. M. C. **Pasta de azeite versus azeite virgem extra**. 2009, 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

EPAMIG. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. **Azeite brasileiro tenta se impor em mercado dominado por importados**, Clipping. 2013.

Disponível em:

<<http://economia.uol.com.br/agronegocio/noticias/redacao/2013/12/19/azeite-brasileiro-tenta-se-impor-em-mercado-dominado-por-importados.htm>>. Acesso em: 19 de jun. 2015.

EPAMIG. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. **Azeitona e Azeite de Oliva: Tecnologias de Produção**. v. 27. 2006.

FERNANDES, C. M. M. **Aplicação de técnicas analíticas para detecção de resíduos de pesticidas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas**. 2014. 98 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) – Instituto Politécnico de Tomar, Tomar. 2014.

FERRAZ, V. **Processamento do Azeite**. 2009. 6 f. Trabalho (Licenciatura em Engenharia Alimentar) - Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra, 2009.

FERREIRA, L. R. S. **Contributo para a caracterização de azeites virgens produzidos na região do Douro**. 2014. 79 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança. 2014.

FILHO, D. B. F.; JÚNIOR, J. A. S. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r)*. **Revista Política Hoje**, v. 18, p. 115-146, 2009.

FOGAÇA, F. H. S. **Efeito do tocoferol no desempenho e na estabilidade lipídica da Tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)**. 2005, 79 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da UNESP, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

FRANCESCO, A. D.; FALCONI, A.; GERMANO, C. D.; BONAVENTURA, M. V. M. D.; COSTA, A.; CARAMUTA, S.; CARLO, M. D.; COMPAGNONE, D.; DAINESE, E.; CIFANI, C.; MACCARRONE, M.; D'ADDARIO, C. Extra virgin olive oil up-regulates CB₁ tumor suppressor gene in human colon cancer cells and in rat colon via epigenetic mechanisms. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.26, p.250-258, 2015.

GAMBOCORTA, G.; FACCIA, M.; PREVITALI, M. A.; PATI, S.; LA NOTTE, E.; BAIANO, A. Effects of olive maturation and stoning on quality indices and antioxidant content of extra virgin oils (cv. *Coratina*) during storage. **Journal of food science**, v.75, n.3, p.229-235, 2010.

GARCÍA-INZA, G. P.; Castro, D. P.; Hall, A. J.; Rousseaux, M. C. Responses to temperature of fruit dry weight, oil concentration, and oil fatty acid composition in olive (*Olea europaea* L. var. 'Arauco'). **European Journal of Agronomy**, v. 54, p.107-115, 2014.

GENOVESE, A.; CAPORASO, N.; VILLANI, V.; PADUANO, A.; SACCHI, R. Olive oil phenolic compounds affect the release of aroma compounds. **Food Chemistry**, v. 181, p.284-294, 2015.

GERBER, M. Olive oil, monounsaturated fatty acids and cancer. **Cancer Letters**, v. 114, p. 91-92, 1997.

GIUFFRIDA, D.; SALVO, F.; SALVO, A.; COSSIGNANI, L.; DUGO, G. Pigments profile in monovarietal virgin olive oils from various Italian olive varieties. **Food Chemistry**, v. 124, p.1119-1123, 2011.

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

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; SANT'ANA, H. M. P.; CHAVES, J. B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v.32, p.2098-2103, 2009.

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

HORST, M. A.; MORENO F. S. **Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes - Carotenoides**. Série de Publicações ILSI Brasil. 1ª ed. São Paulo: ILSI Brasil, 2009, v. 6, p. 1-36.

HU, F. B. The Mediterranean Diet and mortality - Olive oil and beyond. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, p. 2595-2596, 2003.

HUK, T. T. S.; SCAPINELLO, J.; CROCE, D. M.; KUHN, F.; BOHN, A.; DEL MAGRO, J. Determinação da composição química e potencial antioxidante do azeite de oliva produzido na região oeste de Santa Catarina. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química, Florianópolis-SC, 2014.

INGLESE, P.; FAMIANI, F.; GALVANO, F.; SERVILI, M.; ESPOSTO, S.; URBANI, S. Factor saffecting extra-virgin olive oil composition. **Horticultural Reviews**, v.38, p.83-149, 2011.

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. **Spectrophotometric investigation in the ultraviolet**.COI/T.20/Doc. Nº19, 2008.

IOC, Internatinal Olive Council: Market newsletter - November 2015. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/news/view/682-year-2015-news/652-market-newsletter-november-2015>>. Acesso em: 5 de dez. 2015.

JABEUR, H.; ZRIBI, A.; ABDELHEDI, R.; BOUAZIZ, M. Effect of olive storage conditions on Chemlali olive oil quality and the effective role of fatty acids alkyl esters in checking olive oils authenticity. **Food Chemistry**, v.169, p.289-296, 2015.

JESUS, A. M. G. **Olivicultura de precisão: Avaliação da variabilidade espacial da produtividade e qualidade da azeitona e azeite num olival semi-intensivo**. 2013. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronómica) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2013.

JORGE, R. O. **Caracterização de azeites virgem extra “gourmet” varietais e “blends” comercializados no mercado do rio grande do sul**. 2010. 105 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial)- Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2010.

JORGE, Z. L. C. **Análise sensorial, consumo, e qualidade de azeites de oliva extra virgem.** 2013. 194 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial)- Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2013.

JÚLIO, L. R. C. **Tratamento, caracterização química e estudo *in vivo* do bagaço de azeite resultante da extração do azeite de oliva.** 2015. 145 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2015.

KOUIDIS, A.; BOSKOU, D. Virgin Olive Oil: Losses of Antioxidant Polar Phenolic Compounds due to Storage, Packaging, and Culinary Uses. In: PREEDY, V. R. **Processing and Impact on Active Components in Food.** London:Academic Press, 2015, p. 267- 274.

LARA-ORTEGA, F. J.; SAINZ-GONZALO, F. J.; GILBERT-LÓPEZ, B.; GARCIA-REVES, J. F.; MOLINA-DÍAZ, A. Multicommuted flow injection method for fast photometric determination of phenolic compounds in commercial virgin olive oil samples. **Talanta**, v. 147, p. 531-536, 2016.

LAROUSSI-MEZGHANI, S.; VANLOOT, P.; MOLINET, J.; DUPUY, N.; HAMMAMI, M.; GRATI-KAMOUN, N.; ARTAUD, J. Authentication of Tunisian virgin olive oils by chemometric analysis of fatty acid compositions and NIR spectra. **Food Chemistry**, v.173, p.122-132, 2015.

LAVEE, S.; WODNER, M. Factors affecting the nature of oil accumulation in fruit of olive. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.66, p.583-591, 1991.

LIMA, L. A. **Resposta Técnica: Colheita mecanizada da azeitona.** Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico - CDT/UnB. 2015. 4p.

LOMBARDO, N., MARONE, E.; ALESSANDRINO, M.; GODINO, G.; MADEO, A.; FIORINO, P. Influence of growing season temperatures in the fatty acids (FAs) of triacylglycerols (TAGs) composition in Italian cultivars of *Olea europaea*. **Advances in Horticultural Science**, v.22, p.49–53, 2008.

LOPEZ, S.; BERMUDEZ, B.; LA PAZ, S. M.; JARAMILLO, S.; VARELA, L. M.; ORTEGA-GOMEZ, A.; ABIA, R.; MURIANA, F. J. G. Membrane composition and dynamics: A target of bioactive virgin olive oil constituents. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes**, v.1838, p.1638-1656, 2014.

LUKIC, M.; LUKIC, I.; KRAPAC, M.; SLADONIA, B.; PILIZOTA, V. Sterols and triterpene diols in olive oil as indicators of variety and degree of ripening. **Food Chemistry**, v.136, p.251-258, 2013.

MANAI-DJEBALI, H.; KRICHÉNE, D.; OUNI, Y.; GALLARDO, L.; SÁNCHEZ, J.; OSORIO, E.; DAOUD, D.; GUIDO, F.; ZARROUK, M. Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.27, p.109-119, 2012.

MANCEBO-CAMPOS, V.; SALVADOR, M. D.; FREGAPANE, G. Antioxidant capacity of individual and combined virgin olive oil minor compounds evaluated at mild temperature (25 and 40 °C) as compared to accelerated and antiradical assays, **Food Chemistry**, v.150, p.374-381, 2014.

MARTINEZ-GONZALEZ, M. A.; FUENTE-ARRILLAGA, C.; NUNEZ-CORDOBA, J. M.; BASTERRA-GORTARI, F. J.; BEUNZA, J. J.; VAZQUEZ, Z.; BENITO, S.; TORTOSA, A.; BES-RASTROLLO, M. Adherence to Mediterranean Diet and risk of developing diabetes: prospective cohort study. **BMJ Clinical Research**, v. 336, p. 1348-1251, 2008.

MARTINS, S. L. C.; SILVA, H. F.; NOVAES, M. R. C. G.; ITO, M. K. Efeitos terapêuticos dos fitosteróis e fitostanois na colesterolemia. **Archivos Latino americanos de Nutrición**, v.54, p. 257-263, 2004.

MATOS, L. C.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, B. P. P. Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. **Food Chemistry**, v.102, p.976-983, 2007.

MÁXIMO, T. C. B. **Práticas agrícolas associadas à olivicultura em modo de produção biológico e efeito na qualidade da azeitona e azeite na região de Trás-os-Montes**. 2013. 103 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança. 2013.

MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos de azeites de oliva e de folhas de oliveira. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, p. 537-548, 2012.

MENDEZ, M. A.; POPKIN, B. M.; JAKSZYN, P.; BERENGUER, A.; TORMO, M. J.; SANCHEZ, M. J.; QUIRÓS, J. R.; PERA, G.; NAVARRO, C.; MARTINEZ, C.; LARRAÑAGA, N.; DORRONSORO, M.; CHIRLAQUE, M. D.; BARRICARTE, A.; ARDANAZ, E.; AMIANO, P.; AGUDO, A.; GONZÁLEZ, C. A. Adherence to a

Mediterranean Diet is associated with reduced 3-year incidence of obesity. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 2934-2938, 2006.

MENENDEZ, J. A.; VELLON, L.; COLOMER, R.; LUPU, R. Oleic Acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erb B-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification. **Annals of Oncology**, v. 16, p. 359-371, 2005.

MERÇON, F. O que é uma gordura trans? **Química Nova na Escola**, v.32, p. 78-83, 2010.

MODOLO, J, S. **Quantificação de estigmastadienos em azeite de oliva (*oleaeuropaea l.*) por cromatografia em fase gasosa**. 2007, 178 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2007.

MONTEDORO, G. F.; SERVILI, M.; BALDIOLI, M.; MINIATI, E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil: 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p. 1571-1578, 1992.

MOREIRA, N. X.; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v.24, p.105-123, 2002.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 4ª ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003. 420p.

MOYANO, M. J.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; ALBA, J.; HEREDIA, F. J. A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (I): CIEXYZ non-uniform colour space. **Food Research International**, v. 41, p.505–512, 2008.

MUKAKA, M. M. A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. **Malawi Medical Journal**, v,24, p. 69-71, 2012.

NAJAFIAN, L.; GHODSVALI, A.; HADDAD KHODAPARAST, M. H.; DIOSADY, L. L. Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. **Food Research International**, v. 42, p. 171-175, 2009.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de bioquímica**. 3ª ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 1009 p.

NINFALI, P.; ALUIGI, G., BACCHIOCCA, M.; MAGNANI, M. Antioxidant capacity of extra-virgin olive oils. **Journal American Oil Chemists' Society**, v. 78, p. 243- 247, 2001.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1ª ed. São Paulo: Manole, 2006. 664p.

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, p. 363-470, 1998.

PICINATO, M. C.; CURI, R.; MACHADO, U. F.; CARPINELLI, A. R. Soybean- and olive-oils-enriched diets increase insulin secretion to glucose stimulus in isolated pancreatic rat islets. **Physiology & Behavior**, v. 65, p. 289-294, 1998.

PIMENTEL, A. S. A. **Capacidade de enraizamento de estacas semi-lenhosas de oliveira das variedades Cobrançosa, Verdeal, Negrinha e Santulhana**. 2010. 97f. Dissertação (Mestrado em Gestão de Recursos Florestais) - Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança. 2010.

PSOMIADOU, E.; TSIMIDOU, M.; BOSKOU D. α -Tocopherol content of Greek virgin olive oils. **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1770–1775, 2000.

QUILES, J. L.; RAMÍREZ-TORTOSA, M. C.; YAQOUB, P. **Olive oil and health**. 1. St. London: Cabi, 2006. 416p.

RAFFO, A.; BUCCI, R.; D'ALOISE, A.; PASTORE, G. Combined effects of reduced malaxation oxygen levels and storage on extra-virgin olive oil volatiles investigated by a novel chemometric approach. **Food Chemistry**, v. 182, p.257-267, 2015.

RAMALHEIRO, J. P. S. C. **Contribuição para a caracterização bioquímica do estado de maturação de azeitonas de diferentes variedades**. 2009. 51f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2009.

RAMALHO, V. C.; SILVA, M. G.; JORGE, N. Influência do extrato de alecrim sobre a estabilidade do α tocoferol em óleo de soja submetido à termoxidação. **Alimentos e Nutrição**, v.17, p.197-202, 2006.

RAMOS-GÓMEZ, S.; BUSTO, M. D.; ALBILLOS, S. M.; ORTEGA, N. Novel qPCR systems for olive (*Olea europaea* L.) authentication in oils and food. **Food Chemistry**, v. 194, p. 447-454, 2016.

RAPOPORT, H. F. **El cultivodelolivo**. 6. Ed. Madri: EdicionesMundi-prensa, 2008. 846 p.

RE, R; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, p.1231–1237, 1999.

REBOREDO-RODRÍQUEZ, P.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Quality of extra virgin olive oils produced in an emerging olive growing area in north-western Spain. **Food Chemistry**, v.164, p. 418-426, 2014.

ROCHA, T. E. S. **Composição de ácidos graxos e de fitoesteróis em frutos de quatro variedades de abacate (*Persea Americana* Mill)**. 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Departamento de Nutrição, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

RODRIGUES, J. F. **Azeites de oliva da região da Serra da Mantiqueira: Estudo químico e sensorial para caracterização da qualidade**. 2015. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, 2015.

RODRIGUES, A. N.; VEIGA, C.; SOARES, F. D.; RODRIGUES, P.; TORRES, L. M. **Gafa da Oliveira**. In: Proteção integrada da oliveira nas regiões de Trás-os-Montes e Beira interior. Disponível em: <http://home.utad.pt/~ltorres/documentos_pdf/gafa.pdf> Acesso em: 24 de fev. de 2016.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 2001. 64p.

RUTZ, J. K. **Caracterização e microencapsulação de suco de pitanga roxa (*Eugenia uniflora* L.)**. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e

Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

SAGLAM, C.; TUNA, Y, T.; GECGEL, U.; ATAR, E. S. Effects of olive harvesting methods on oil quality. **APCBEE Procedia**, v.8, p.334-342, 2014.

SALVADOR, M. D.; ARANDA, F.; GOMES-ALONSO, S.; FREGAPANE, G. Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. Composition, quality and oxidative stability. **Food Chemistry**, v.74, p.267-274, 2001.

SANTOS, C. R. B.; PORTELLA, E. S.; AVILA, S. S.; SOARES, E. A. Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associadas à síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**, v. 19, p.389-401, 2006.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER, H. T.; CASELLA FILHO, A.; ARAÚJO, D. B.; CESENA, F. Y.; ALVES, R. J. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF). *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, v. 9, p. 1-28, 2012.

SCARMEAS, N.; LUCHSINGER, J. A.; SCHUPF, N., BRICKMAN, A. M.; COSENTINO, S.; TANG, M. X.; STERN, Y. Physical activity, diet, and risk of Alzheimer disease. **Jama**, v. 302, p.627-637, 2009.

SCARMEAS, N.; STERN, Y.; TANG, M. X.; MAYEUX, R.; LUCHSINGER, J. A. Mediterranean Diet and risk for Alzheimer's disease. **Annals of Neurology**, v.59, p. 912-921, 2006.

SCHIESSEL, D. L. **Ácido graxo α linolênico causa o mesmo efeito que seus derivados de cadeia longa em ratos portadores de tumor de Walker 256? Investigação antitumoral e imunitária.** 2011. 107 f. Tese (Doutorado em Biologia celular e molecular) - Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SCHRODER, H.; MARRUGAT, J.; VILA, J.; COVAS, M. I.; ELOSUA, R. Adherence to the traditional Mediterranean Diet is inversely associated with body mass index and obesity in a spanish population. **The Journal of Nutrition**, v.134, p.3355-3361, 2004.

SCHWARTZ, G.J.; FU, J.; ASTARITA, G.; LI, X.; GAETANI, S.; CAMPOLONGO, P. VINCENZO, C.; PIOMELLI, D. The lipid messenger OEA links dietary fat intake to satiety. **Cell Metabolism**, v.8, p.281-288, 2008.

SERVILI, M.; SELVAGGINI, R.; ESPOSTO, S.; TATICCHI, A.; MONTEODORO, G. F.; MOROZZI, G. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspect of production that affect their occurrence in the oil. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p.113–127, 2004.

SIBBETTE, G. S.; FERGUSON, L. **Olive production manual**. Second Edition. University of California Division of Agriculture and Natural Resources Publication 3353, 2005.

SILVA, L. F. O. **Caracterização agroindustrial de cultivares de oliveira com potencial econômico para o Sul de Minas Gerais**. 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2011(a).

SILVA, L. F. O.; OLIVEIRA, A. F.; PIO, R.; ALVES, T. C.; ZAMBON, C. R. Variação na qualidade do azeite em cultivares de oliveira. **Bragantia**, v.71, p.201-209, 2012.

SILVA, S. F. **Estabilidade de azeite de oliva extra virgem (Olea europaea) em diferentes sistemas de embalagem**. 2011. 140 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011(b).

SILVA, S. N.; SILVA, C. R. R. **Bioquímica**. Recife: EDUFRPE, 2010. 122p.

SILVA, W. G.; ROVELLINI, P.; FUSARI, P.; VENTURINI, S. Azeite de oliva vendido no Brasil: qualidade e índice nutricional. **Nutrire**, v.40, p. 45-53, 2015.

SIVAKUMAR, G.; BATI, C.B.; PERRI, E.; UCCELLA, N. Gas chromatography screening of bioactive phytosterols from mono-cultivar olive oils. **Food Chemistry**, v. 95, p. 525-528, 2006.

SOUTINHO, S. M. A. **Avaliação dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modo biológico**. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar) – Escola Superior Agrária de Viseu, Instituto Politécnico de Viseu, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.

TOLEDO, E.; SALAS-SALVADÓ, J.; DONAT-VARGAS, C.; BUIL-COSIALES, P.; ESTRUCH, R.; ROS, E.; CORELLA, D.; FITÓ, M.; HU, F. B.; ARÓS, F.; GÓMEZ-GRACIA, E.; ROMAGUERA, D.; ORTEGA-CALVO, M.; SERRA-MAJEM, L.; PINTÓ,

X.; SCHRÖDER, H.; BASORA, J.; SORLÍ, J. V.; BULLÓ, M.; SERRA-MIR, M.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A. Mediterranean Diet and Invasive Breast Cancer Risk Among Women at High Cardiovascular Risk in the PREDIMED Trial: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Internal Medicine**, v.175, p. 1752-1760, 2015.

TORRECILLA, J. S.; VIDAL, S.; AROCA-SANTOS, R.; WANG, S. C.; CANCELLA, J. C. Spectroscopic determination of the photo degradation of monovarietal extra virgin olive oils and their binary mixtures through intelligent systems. **Talanta**, v.144, p.363-368, 2015.

TSIMIDOU, M. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. **Italian Journal of Food Science**, v. 10, p.99-116, 1998.

UNCU, O.; OZEN, B. Prediction of various chemical parameters of olive oils with Fourier transform infrared spectroscopy. **LWT - Food Science and Technology**, v.63, p. 978-984, 2015.

VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. **Fundamentos de Bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, 2000.931 p.

VOSEN, P. M. Olive oil production. In: **Olive Production Manual**. Second Edition. Oakland: University of California Division of Agriculture and Natural Resources Publication 3353, 2005. p.157-173.

VOSEN, P. M. Olive oil: History, production, and characteristics of the world's classic oils. **HortScience**, v.42, p.1093-1100, 2007a.

VOSEN, P. M. **Organic olive production manual**. Oakland: University of California Division of Agriculture and Natural Resources Publication 3505, 2007b.

ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. 1997. 304 f. Thesis (Doctor of Foods and Nutritional)- Sciences Inter departmental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.

WIKEMEDIA, Sphingolipids general structures. Disponível em:
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sphingolipids_general_structures.png>
Acesso em: 24 de fev. de 2016.

ZHAO, B.; MA, Y.; XU, Z.; WANG, J.; WANG, F.; WANG, D.; PAN, S.; WU, Y.; PAN, H.; XU, D.; LIU, L.; JIANG, H. Hydroxytyrosol, a natural molecule from olive oil, suppresses the growth of human hepatocellular carcinoma cells via inactivating AKT and nuclear factor-kappa B pathways. **Cancer Letters**, v. 347, p. 79-87, 2014.