

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia  
Agroindustrial



Tese

**Parâmetros químicos de azeites de oliva monovarietais  
produzidos no sul do Rio Grande do Sul/Brasil**

**Fabiana Lemos Goularte-Dutra**

**Fabiana Lemos Goularte-Dutra**

**Parâmetros químicos de azeites de oliva monovarietais  
produzidos no sul do Rio Grande do Sul/Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadores: Prof. PhD Rui Carlos Zambiasi  
Pesquisador Dr.Enilton Fick Coutinho

Pelotas, 2013

G694p Goularte-Dutra, Fabiana Lemos  
Parâmetros químicos de azeites de oliva  
monovarietais produzidos no sul do Rio Grande do  
Sul/Brasil / Fabiana Lemos Goularte-Dutra; Rui Carlos  
Zambiasi, orientador; Enilton Fick Coutinho,  
co-orientador. - Pelotas, 2013.  
103 f.

Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel,  
Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

1.Olivicultura. 2.Qualidade. 3.Ácidos Graxos.  
4.Extra virgem. 5.Antioxidantes. I. Zambiasi, Rui  
Carlos , orient. II. Coutinho, Enilton Fick ,  
co-orient. III. Título.

CDD: 634.63

**Banca examinadora:**

PhD. Rui Carlos Zambiasi

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Carla Rosane Barboza Mendonça

Prof. Dr. Cláudio Martin Pereira de Pereira

Prof. Dr. Enilton Fick Coutinho

Prof. Dr. Tatiana Valesca Rodriguez Alicieo

***Dedico***

*Ao meu esposo, pela confiança e incentivo.*

## **Agradecimentos**

Ao meu esposo, pelo incentivo, paciência e confiança no meu trabalho.

Aos meus familiares, em particular aos meus pais, por terem proporcionado minha preparação tanto pessoal quanto intelectual, para que eu conseguisse chegar aqui.

A minha comissão de orientação, em especial ao Professor Rui, pela orientação, paciência e pela oportunidade de crescimento profissional.

Aos meus colegas de curso e do laboratório de cromatografia, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, em especial as amigas Michele Crizel, Vanessa Pestana, Lúcia Borges e Mariângela Bruscatto, companheiras de chimarrão, as quais sempre me deram muito apoio e auxílio nas análises.

As bolsistas de iniciação científica e estagiários do Laboratório de Cromatografia, por todo carinho e ajuda prestada.

A Embrapa Clima Temperado, na pessoa do Pesq. Enilton Coutinho, pelo fornecimento das amostras e auxílio financeiro deste trabalho. Ao funcionário Marco Aurélio por toda a atenção e presteza para a obtenção das amostras e ao Fabrício Carlotto por toda a ajuda, indispensável para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos, por me escutarem e incentivarem em diversos momentos;

E por fim, e não menos importante, a Deus,

Deus se deleita em ocultar as coisas; os estudiosos em descobrir as coisas.

*Proverbios (Salomão) 24:34 – 25:5*

## Resumo

GOULARTE-DUTRA, Fabiana Lemos. **Parâmetros químicos de azeites de oliva monovarietais produzidos no sul do Rio Grande do Sul/Brasil**. 2013. 108f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A produção de azeite pelo Brasil é praticamente nula, assim quase não existem informações científicas quanto as características químicas de azeites produzidos no sul do Rio grande do Sul. O objetivo deste trabalho foi analisar quimicamente azeites de oliva monovarietais oriundos de cinco cultivares de oliveira introduzidas em unidades experimentais de Pelotas e Dom Pedrito. O trabalho foi desenvolvido em três capítulos sendo: **Capítulo I** – Artigo de revisão bibliográfica sobre compostos bioativos no azeite de oliva e benefícios à saúde. Foram considerados os principais trabalhos a respeito da composição em ácidos graxos, compostos fenólicos, tocoferóis, carotenóides e clorofilas no azeite de oliva e sua relação com a estabilidade e redução de risco de determinadas patologias. **Capítulo II** - Caracterização dos azeites de olivas das cultivares Arbequina, Arbequina Maria da Fé, Koroneiki (Pelotas), Grapollo e Manzanilla (Dom Pedrito) da safra 2010/11. Frutos de cada cultivar ( $\pm$  40 kg) foram colhidos e o azeite obtido por extração mecânica. Determinou-se o rendimento em azeite, acidez livre, índice de peróxidos, absorbância em ultravioleta (K232 nm e K270 nm), índice de refração, perfil de ácidos graxos, e o conteúdo de compostos fenólicos totais, tocoferóis, carotenóides e de clorofilas. Considerando-se os parâmetros avaliados, os azeites das olivas das cultivares Grapollo, Koroneiki, Arbequina Maria da Fé e Manzanilla classificaram-se como extra-virgem, enquanto que o da cultivar Arbequina como azeite de oliva virgem; **Capítulo III** – Caracterização dos azeites de olivas das cultivares Arbequina e Koroneiki cultivadas em Dom Pedrito em três safras consecutivas (2009/10, 2010/11 e 2011/12). Frutos de cada cultivar ( $\pm$  40 kg) foram colhidos e o azeite

obtido por extração mecânica. Determinou-se a acidez livre, índice de peróxidos, absorvância em ultravioleta (K232 nm e K270 nm), perfil de ácidos graxos, e o conteúdo de compostos fenólicos, tocoferóis, carotenóides e de clorofilas. Com exceção do azeite de oliva da cultivar Arbequina na safra 2011/12, todas as outras amostras apresentaram índices compatíveis com azeite de oliva extra-virgem. Houve diferença nos teores dos compostos bioativos tanto entre as cultivares quanto entre as diferentes safras de uma mesma cultivar.

Palavras-chave: Qualidade. Antioxidantes. Ácidos graxos. Tocoferóis. Olivicultura

## Abstract

GOULARTE-DUTRA, Fabiana Lemos. **Chemical parameters of monovarietal olive oil produced in southern Rio Grande do Sul / Brazil.**2013. 108f. Thesis. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Olive growing is recent in Brazil; therefore, there is no scientific data regarding the chemical characteristics of oils produced in southern Rio Grande do Sul. The objective of this study was to chemically analyse olive oils from seven monovarietal olive cultivars introduced in experimental units in Pelotas and Dom Pedrito. The study was conducted in three chapters: **Chapter I** – Literature review on bioactive compounds in olive oil and health benefits. It was considered the main reviews on the fatty acid composition, phenolic compounds, tocopherols, carotenoids and chlorophylls in olive and its relationship with oil stability and risk reduction of certain pathologies. **Chapter II** - Characterization of olive from Arbequina, Arbequina Maria da Fé, Koroneiki (Pelotas), Grapollo and Manzanilla (Dom Pedrito) cultivars from 2010/11 harvest. It was determined the oil yield, free acidity, peroxide value, ultraviolet absorbance (K232 and K270 nm nm), refractive index, fatty acid profile, phenolic compounds, tocopherols, carotenoids and chlorophyll content. Considering the parameters evaluated, the olive oils from Grapollo, Koroneiki, Manzanilla and Maria da Fé cultivars were classified as extra virgin, while the olive oil from Arbequina cultivar as virgin olive oil; **Chapter III** - Characterization of Arbequina and Koroneiki olive cultivars grown in Dom Pedrito in three consecutive seasons (2009/10, 2010/11 and 2011/12). Fruits ( $\pm$  40 kg) of each cultivar were harvested and the oil obtained by mechanical extraction. It was determined the free acidity, peroxide value, UV absorbance (K232 and K270 nm nm), fatty acid profile, total phenolic compounds, tocopherols, total carotenoids and chlorophyll content. With the exception of the olive oil from cultivar Arbequina, olive harvest in 2011/12, all other samples showed levels consistent with olive oil extra virgin. There were differences in

the levels of bioactive compounds both between cultivars and crops from the same cultivar.

Keywords: Quality. Antioxidant. Fatty acids. Tocopherols. Olive.

## Lista de Figuras

Figura 1 Zoneamento agroclimático para oliveira no estado do Rio Grande do Sul .....19

Figura 2 Importação brasileira de azeite de oliva .....20

### CAPÍTULO I

Figura 1 Estrutura química dos principais alcoóis fenólicos e derivados sercoiridóides do azeite de oliva..... 39

Figura 2 Estrutura dos tocoferóis..... 44

### CAPÍTULO II

Figura1 Relação polpa/caroço e rendimento (%) em azeite das diferentes cultivares obtidas em Dom Pedrito e Pelotas.....67

Figura 2 Cromatograma típico para tocoferóis em azeite de oliva ('Arbequina') por HPLC.....72

Figura 3 Cromatograma: A) Separação dos ácidos graxos em azeite de oliva da cultivar ('Arbequina') do sul do Rio Grande do sul/Brasil, por GC. B) Padrões.....75

### CAPÍTULO III

Figura 1 Informações meteorológicas registrada em Dom Pedrito (Rio Grande do Sul/Brasil) no período de pré-maturação e maturação dos frutos de azeitona nos anos 2009/10, 2010/11 e 2011/12.....86

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Limite dos parâmetros de qualidade para cada categoria de azeite de oliva .....	23
----------	---	----

### CAPÍTULO I

Tabela 1	Conteúdo de compostos fenólicos em azeite de oliva.....	43
Tabela 2	Conteúdo de tocoferóis em azeite de oliva.....	44
Tabela 3	Conteúdo de pigmentos em azeite de oliva.....	47

### CAPÍTULO II

Tabela 1	Caracterização da amostra por cultivar, safra 2010/11.....	63
Tabela 2	Características analíticas de azeites de oliva monovarietais produzidos em Pelotas e Dom Pedrito/ RS/ Brasil (safra 2010/11).....	68
Tabela 3	Conteúdo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de compostos bioativos nos azeites de oliva monovarietais produzidos em Pelotas e Dom Pedrito/ RS/ Brasil (safra 2010/11).....	70
Tabela 4	Composição em ácidos graxos nos azeites de oliva monovarietais produzidos em Pelotas e Dom Pedrito/ RS/ Brasil (safra 2010/11).....	76

### CAPÍTULO III

Tabela 1	Características analíticas de azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito/ RS/ Brasil.....	92
Tabela 2	Tocoferóis individuais em azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito-RS/Brasil.....	93
Tabela 3	Teor de compostos bioativos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito-RS/Brasil.....	94

Tabela 4	Ácidos graxos (%) em azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito-RS/Brasil.....	97
----------	---	----

## Sumário

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 A cultura da oliveira.....	17
2.2 O cultivo da oliveira no sul do Rio grande do Sul/Brasil.....	17
2.3 Produção e consumo de azeite de oliva .....	20
2.4 Cultivares de oliveira .....	21
2.5 Classificação do azeite de oliva .....	22
2.6 Padrões e qualidade do azeite de oliva .....	23
2.6.1 Acidez livre.....	24
2.6.2 Índice de peróxidos .....	24
2.6.3 Absorbância no ultravioleta .....	25
2.7 Obtenção do azeite de oliva .....	26
2.7 Composição química do azeite de oliva .....	27
Referências .....	29
3 CAPÍTULO I. Azeite de oliva: compostos bioativos e implicações na saúde humana .....	35
1 Introdução.....	36
2 Bioativos em azeite de oliva.....	37
2.1 Compostos fenólicos.....	38
2.2 Tocoferóis.....	43
2.3 Pigmentos.....	45
2.4 Ácidos graxos.....	47
3 Benefícios à saúde.....	49
4 Considerações finais.....	52
Referências.....	52

4	CAPÍTULOII. Caracterização de azeites de oliva produzidos na região sul do Rio Grande do Sul/ Brasil.....	59
1	Introdução.....	60
2	Metodologia.....	62
3	Resultadose Discussão.....	67
4	Conclusões.....	78
5	Referências.....	78
5	CAPÍTULOIII. Azeites de oliva produzidos em diferentes safras na região da campanha/RS – Brasil.....	83
1	Introdução.....	84
2	Metodologia.....	85
3	Resultados e discussão.....	91
4	Conclusões.....	98
5	Referências.....	99
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	103

## 1 Introdução Geral

Atualmente existe grande interesse em compostos naturais que apresentam efeitos benéficos à saúde humana, os quais possam estar presentes nos alimentos. O azeite de oliva virgem, o qual não passa pelo processo de refino, preserva sua constituição “natural”, incluindo os compostos bioativos, sendo que seu consumo tem sido crescente na população brasileira. Quando consumido com frequência, confere benefícios à saúde humana, devido ao elevado conteúdo de ácido graxo monoinsaturado (ácido oléico) e à presença de substâncias antioxidantes, que lhe conferem características de alimento funcional.

Os maiores produtores de azeite de oliva são Espanha, Itália, Grécia e Portugal, países de clima temperado mediterrâneo, e se destacam pelo grande volume anual de exportação. Países como Estados Unidos, Chile e Argentina aclimataram, com certo sucesso, a cultura da oliveira (IOOC, 2013a).

Embora seja predominantemente um país de clima tropical, o Brasil possui regiões com condições climáticas e características adequadas para o cultivo de oliveiras, o que pode significar para um futuro breve menor volume de importação e, conseqüentemente, menor evasão de divisas. Ademais, a implantação de oliveiras, além de possibilitar o fortalecimento do mercado interno de azeitona e azeite de oliva, se constitui em alternativa para a diversificação da atividade agrícola. Nesse contexto, o plantio no Brasil tem aumentado, porém a caracterização dos azeites produzidos ainda é incipiente.

Para ser comercializado, o azeite de oliva é classificado em determinados grupos, conforme os padrões vigentes. Estes são baseados nos requisitos químicos de qualidade, sendo os principais a acidez livre, o índice de peróxidos e a absorção em ultravioleta (BRASIL, 2012).

Adicionalmente, a análise dos antioxidantes e pigmentos presentes no azeite de oliva também contribui para sua caracterização, pois seus conteúdos influenciam tanto no aspecto sensorial como em seu período de validade (AGUILERA et al., 2005), quanto aos efeitos benéficos à saúde, como pela redução do risco de

doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (COVAS, 2007; OWEN et al., 2000).

As características físico-químicas do azeite de oliva variam em função de diversos fatores, sendo os principais o local de cultivo da oliva (solo e clima), cultivar, práticas culturais, estágio de maturação do fruto e condições de processamento (ZAMORA, ALAIZ, HIDALGO, 2001; ISSAOUI et al., 2009; KANDYLIS et al., 2011). Em função da influência dos fatores extrínsecos na qualidade do azeite, pesquisas devem ser realizadas para descrever as características gerais dos azeites oriundos de cultivares distintas cultivadas em diferentes regiões do Brasil.

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivos caracterizar azeites monovarietais, de sete cultivares de oliveiras introduzidas no Brasil, pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), nos municípios de Pelotas e Dom Pedrito, RS, e avaliar o efeito de diferentes safras sobre as características químicas de azeites das cultivares Arbequina e Koroneiki oriundos de plantas cultivadas em Dom Pedrito.

## **2 Revisão Bibliográfica**

### **2.1 A cultura da oliveira**

A oliveira pertence a família das Oleáceas, gênero *Olea europaea*. Sua existência remonta ao décimo segundo milênio a.C., sendo a bacia do Mediterrâneo e Ásia Menor considerados os locais de origem do cultivo da oliveira, a qual disseminou-se, e atualmente é cultivada em lugares distantes de suas origens como África do Sul, Austrália, Japão e China (IOOC, 2013b).

No Brasil, o cultivo de oliveiras foi introduzido a cerca de dois séculos por imigrantes europeus, tendo apresentado na época considerável produção de frutos. No entanto, para evitar a concorrência com o azeite importado de Portugal, a família real ordenou a extinção dos olivais no Brasil (GOMES, 1979). Após a segunda guerra mundial houve o retorno do cultivo de oliveiras com a retomada da imigração europeia (FAGUNDES, 2004).

No entanto, o estudo no setor olivícola somente iniciou em 1986 por meio da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais) na região de Minas Gerais, a fim de incentivar a disseminação da olivicultura no país. Resultados promissores foram obtidos, com início de produção no quarto ano de plantio, apresentando produtividade em algumas cultivares de até 80-100 kg de azeitonas (FAGUNDES, 2004). No ano de 2005 as pesquisas se expandiram para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, e em 2009, em São Paulo.

### **2.2 O cultivo da oliveira no Sul do Rio Grande do Sul/Brasil**

A oliveira foi introduzida oficialmente no Rio Grande do Sul (RS) em 1948 por meio da criação do "serviço oleícola", pela Secretaria da Agricultura, e da promessa de incentivos do governo para o cultivo e comercialização dos produtos, porém, devido ao pequeno conhecimento técnico, ocorreu a implantação de olivais de baixa qualidade (GOMES, 1979; COUTINHO et al., 2009).

Somente em 2005, com o objetivo inicial de avaliar a viabilidade do cultivo comercial da oliveira na região Sul do Brasil, a pesquisa foi iniciada com o projeto

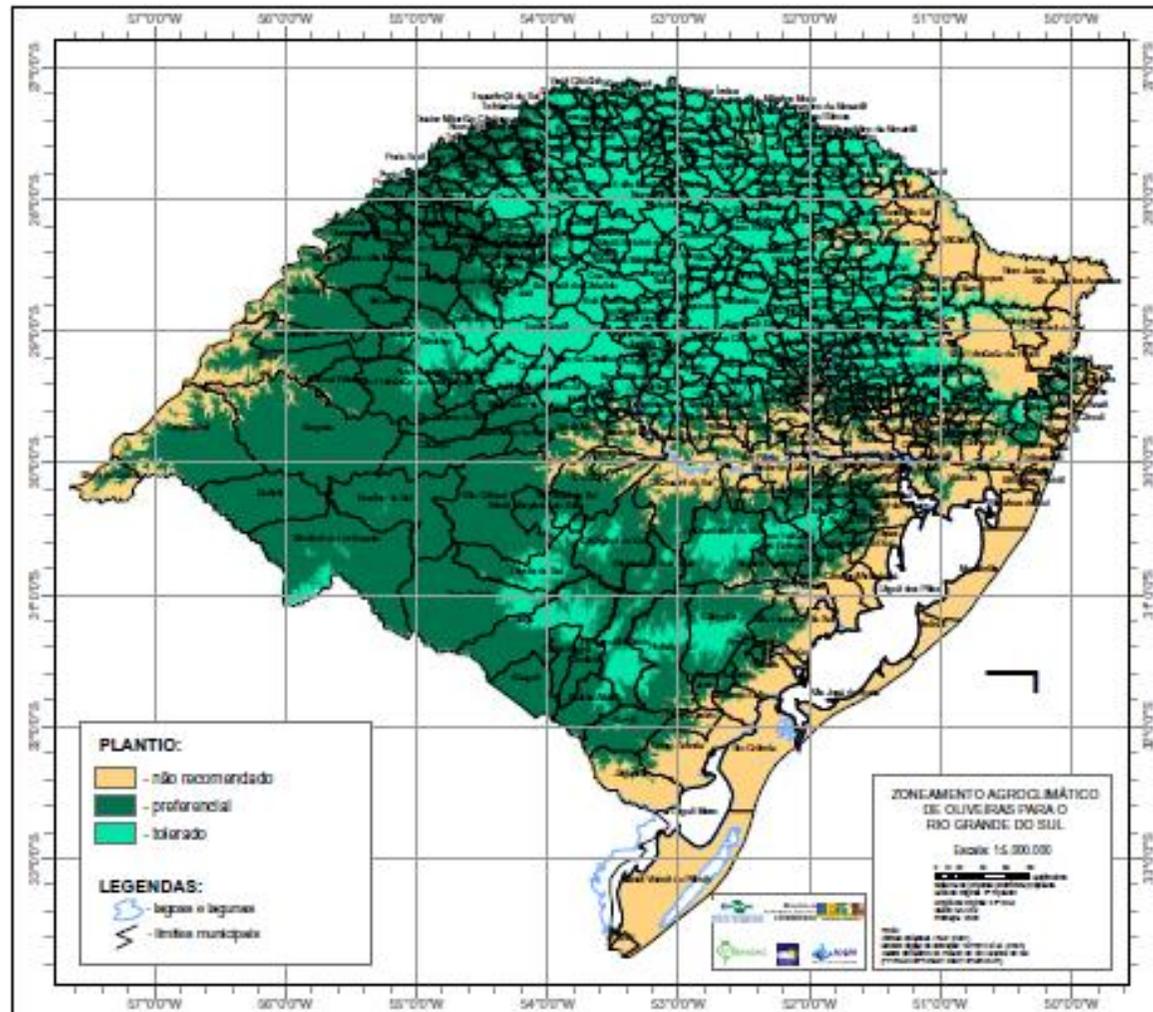
"Introdução e avaliação agronômica de oliveiras no sul do Brasil", o qual foi coordenado pela Embrapa Clima Temperado (CPACT/Pelotas), em conjunto com outras instituições de pesquisas nacionais e internacionais. Este projeto foi elaborado considerando os resultados obtidos pela EPAMIG/MG, o desempenho de pomares cultivados no Chile, na Argentina e no Uruguai, além do potencial de geração de renda e diversificação do agronegócio que o cultivo da oliveira representa, principalmente, para a Metade Sul do Rio Grande do Sul (WREGGE et al., 2009).

No Brasil, a pesquisa científica constitui papel importante para que o cultivo de oliveira prospere. Segundo Oliveira, Antunes e Schuch (2006), nos países tradicionalmente produtores, as características mais importantes são: controle do vigor, exigência hídrica e nutricional, adaptabilidade pedoclimática, resistência a parasitas, precocidade produtiva, quantidade e qualidade da produção.

Para tanto, mais de 60 cultivares foram importadas de diversos países tradicionalmente produtores como Espanha, Itália e Portugal, a fim de possibilitar a implantação de diversas unidades de observação em distintas regiões dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, para realizar o estudo da adaptação das plantas nas condições de solo e clima da região. Dentre as cultivares inicialmente testadas, a Arbequina e a Koroneiki receberam indicação de cultivo, pela Embrapa Clima Temperado, para região sul do país.

Segundo o zoneamento agroclimático realizado pela Embrapa Clima Temperado (Figura 1), para o Rio Grande do Sul (RS), existem regiões para a cultura de oliveira que podem ser: não recomendadas, recomendadas com restrições ou recomendadas. Considerando as condições ótimas de umidade relativa do ar e temperatura para o cultivo da oliveira, a fronteira oeste e a metade sul do estado do RS constituem-se nas regiões mais adequadas para o cultivo da espécie (WREGGE et al., 2009).

No RS, 21 municípios foram identificados com pomares de oliveiras, sendo a grande maioria localizados na metade sul, região que apresenta como principais potenciais do setor a Campanha e a Serra do Sudeste. Atualmente, o Estado conta com aproximadamente 585 hectares destinados à cultura, sendo destes 456 hectares de pomares sem idade de produção, 70 hectares em produção e 59 hectares com produção desativada (EMATER, 2013).



**Figura 1.** Zoneamento agroclimático para oliveira no Estado do Rio Grande do Sul.

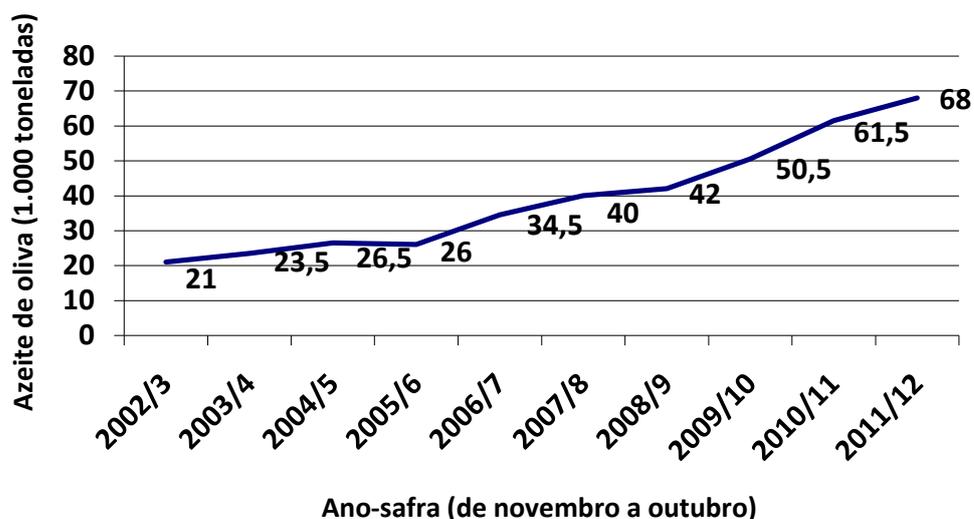
Fonte: WREGGE et al.(2009).

### 2.3 Produção e consumo de azeite de oliva

A produção mundial de azeite de oliva cresceu 25% nos últimos cinco anos em função da expansão dos locais de cultivo de oliveira, obtendo-se um total de 3.408,5 milhões de toneladas na safra 2011/12. A Espanha é a principal produtora de azeite de oliva, seguida da Itália e Grécia. Esses três países mediterrâneos são responsáveis por mais de 69% da produção mundial de azeite de oliva (IOOC, 2013a).

Na América do Sul, os maiores produtores de azeite de oliva são a Argentina e o Chile, obtendo na última safra cerca de 32 mil toneladas e 21,5 mil toneladas, respectivamente (IOOC, 2013a).

Os países que apresentam o maior consumo de azeite de oliva são a Itália (734,5 mil toneladas), a Espanha (582,0 mil toneladas) e os Estados Unidos (294,0 mil toneladas). O Brasil aparece na décima colocação, com um consumo de 68 mil toneladas ano (safra 2011/12), o qual foi triplicado nos últimos 10 anos (Figura 2).



**Figura 2.** Consumo brasileiro de azeite de oliva.

Fonte: IOOC (2013a)

Em função desse consumo, de acordo com o Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio Exterior, o Brasil dispendeu, em 2012, mais de US\$ 250 milhões com a importação de azeite de oliva (SECEX, 2013), pois até o momento, considera-se que o país importa, praticamente, 100% do que consome.

## 2.4 Cultivares de oliveira

A oliveira possui inúmeras cultivares, muitas vezes compostas de plantas morfológicamente similares, mas com caracteres genéticos diferentes (VILLA, 2007), ou seja, cada cultivar possui características específicas, produzindo azeites de oliva com características e composição típicas que conferem um sabor único (MATOS et al., 2007; QUEST-RITSON, 2011). Na Espanha são catalogadas mais de 250 cultivares (VILLA, 2007), enquanto que na Itália tem cerca de 400 (FABRO, 2009).

As cultivares diferem mais notadamente no tamanho das azeitonas e no tamanho e forma do caroço. Algumas exigem solos mais ricos e férteis, enquanto que a maioria se desenvolve bem em solos mais pobres. Além disso, se distinguem quanto a produtividade, durabilidade, resistência a doenças, etc (QUEST-RITSON, 2011). De acordo com a finalidade a que se destina o fruto, a cultivar pode ser apta para: obtenção de azeite, a qual deve ter bom rendimento quantitativo e qualitativo de azeite; azeitona de mesa, que se caracteriza por terem frutos grandes e menor conteúdo em azeite; ou de dupla aptidão, que apresenta características intermediárias, podendo ser utilizada para produção de azeitona em conserva se atingir o tamanho adequado, ou para a produção de azeite (VILLA, 2007; COUTINHO et al., 2009).

Portanto, para a escolha da cultivar é importante levar em consideração a finalidade, resistência a pragas, doenças e as condições edafoclimáticas (VILLA, 2007).

Dentre as inúmeras cultivares de oliveira existente, algumas estão sendo avaliadas agronomicamente visando plantio na região Sul do Brasil para produção de azeite de oliva. As principais características são sumarizadas como (VILLA, 2007; COUTINHO, JORGE, COSTA, 2007; QUEST-RITSON, 2011):

- a) Arbequina – de origem espanhola, com considerável resistência ao frio; entrada em produção precoce, elevada produtividade, bom rendimento e qualidade do azeite produzido.
- b) Koroneiki – de origem grega, susceptível ao frio, mas resistente a seca; com produtividade elevada e constante; produz frutos com elevado conteúdo de azeite, o qual é apreciado por suas características sensoriais.
- c) Manzanilla – de origem espanhola, susceptível ao frio hibernal; entrada da produção precoce, com alta produtividade.

d) Grappolo – de origem Italiana, tolerante a seca; frutos com alto conteúdo de azeite.

## **2.5 Classificação do azeite de oliva**

No Brasil, em janeiro de 2012 foi publicado a Instrução Normativa nº 1 que estabelece o Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva, o qual classifica o azeite de oliva em função dos seus requisitos de identidade (em função da matéria-prima e processo de obtenção) e qualidade (em função do percentual de acidez livre, índice de peróxidos e da absorbância no ultravioleta)(BRASIL, 2012).

Segundo este Regulamento, o azeite de oliva pode ser classificado em:

1) Azeite de oliva virgem: produto 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 azeite de oliva do grupo azeite de oliva virgem, de acordo com os parâmetros de qualidade, pode ser classificado segundo três tipos, podendo, ainda, ser enquadrado como fora de tipo e desclassificado:

- a) Azeite de oliva extra virgem;
- b) Azeite de oliva virgem;
- c) Azeite de oliva lampante.

2) Azeite de oliva: produto constituído pela mistura de azeite de oliva refinado com azeite de oliva virgem ou com azeite de oliva extra virgem.

3) 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 glicéridica inicial.

Na Tabela 1 pode-se observar os valores dos parâmetros de qualidade permitidos para cada categoria de azeite. A qualidade do azeite é avaliada por

quatro parâmetros: grau de acidez, índice de peróxidos, absorvância no ultravioleta e análise sensorial (BRASIL, 2012).

Tabela 1 – Limite dos parâmetros de qualidade para cada categoria de azeite de oliva.

Categoria do azeite		AC	IP	Absorbância ultravioleta		
		(% ácido oléico)	(mEq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>	ΔK
Azeite de oliva virgem	Extra-virgem	≤ 0,8	≤ 20	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01
	Virgem	≤ 2,0	≤ 20	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01
	Lampante	> 2,0	*	*	*	*
Azeite de oliva		≤ 1,0	≤ 15	*	≤ 0,9	≤ 0,15
Azeite de oliva refinado		≤ 0,3	≤ 5	*	≤ 1,1	≤ 0,16

Fonte: adaptado do Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva (BRASIL, 2012). \* = não se aplica; AC = acidez livre; IP = índice de peróxidos.

O azeite de oliva enquadrado no tipo lampante não pode ser destinado diretamente à alimentação humana, porém poderá ser refinado para enquadramento no grupo azeite de oliva ou no grupo azeite de oliva refinado.

Internacionalmente, a regulamentação do azeite de oliva é estabelecida por diversos órgãos, como pela União Européia (EEC, 2003), pela Comissão do Codex Alimentarius (2001) e pelo Conselho Oleícola Internacional (IOOC, 2011), na qual o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento baseou-se para a elaboração da Instrução Normativa publicada em 2012 (BRASIL, 2012).

## 2.6 Padrões de qualidade do azeite de oliva

Além dos parâmetros de qualidade constantes na legislação brasileira para o azeite de oliva, podem ser realizadas análises complementares tais como: composição em ácidos graxos, composição de esteróis, eritrodiol e uvaol, ceras, diferença do ECN 42 (triacilgliceróis com número equivalente de carbonos igual a 42), estigmastadienos, ésteres metílicos e ésteres etílicos de ácidos graxos, índice de refração, índice de saponificação, umidade e material volátil, material insaponificável, impurezas insolúveis, índice de iodo e teores de arsênio, chumbo, cobre e ferro (BRASIL, 2012).

A regulamentação atual (BRASIL, 2012) contempla exigências quanto aos parâmetros de qualidade e características sensoriais do azeite de oliva, que auxiliam na redução da ocorrência de possíveis adulterações com outros óleos vegetais, o

que foi observado de forma frequente em nosso país nos últimos anos (ANTONIASSI et al., 1998; AUED-PIMENTEL et al., 2002; BECKER et al., 2005; AUED-PIMENTEL et al., 2008).

### 2.6.1 Acidez Livre

Acidez livre consiste no conteúdo de ácidos graxos livres, expressa em porcentagem de ácido oléico (BOSKOU, 1998; AUED-PIMENTEL et al., 2008), os quais são originados pela ação química ou enzimática (lipases), pela degradação dos triacilgliceróis, liberando ácidos graxos e, conseqüentemente, induzindo ao aumento da acidez (TOUS et al., 1997; PEIXOTO et al., 1998; UCEDA et al., 2006).

O grau de acidez é uma variável relacionada com a qualidade da matéria-prima (fruto), com a qualidade e o grau de pureza do óleo, com o processamento e, principalmente, com as condições de conservação do azeite (MORETTO; FETT, 1998). O conteúdo de acidez depende de fatores, como: ataques de pragas e insetos, do clima e da manipulação das azeitonas (POULIAREKOU et al., 2011), do índice de maturação dos frutos (BACCOURI et al., 2008; KEFI et al., 2010), do processo de produção (ISSAOUI et al., 2009) e de armazenamento do azeite (MÉNDEZ; FALQUÉ, 2007). Neste sentido, qualquer injúria induzida na azeitona durante a colheita, transporte e estocagem, originam danos nos tecidos que facilitam a ação das enzimas (FIGUERES et al., 1997; TOUS et al., 1998). Em última instância, quanto maior o teor dos ácidos graxos livres, pior o estado de conservação dos frutos, tratamento ou conservação do azeite.

Considerando-se a legislação brasileira, o azeite de oliva próprio para o consumo humano deve apresentar acidez de no máximo 2% (BRASIL, 2012).

### 2.6.2 Índice de peróxidos

O índice de peróxidos é utilizado para avaliar a qualidade oxidativa de óleos e gorduras pela medida do conteúdo de peróxidos e hidroperóxidos de ácidos graxos, os quais são produtos primários da oxidação de lipídios. A maioria dos métodos que medem hidroperóxidos lipídicos baseia-se na capacidade dos hidroperóxidos de oxidar compostos indicadores (ZAMBIASI, 2003; MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Os valores de peróxidos são expressos em miliequivalentes (mEq) de oxigênio por kg de óleo, sendo que 1 mEq é igual a 2 mmol de hidroperóxido (MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

A oxidação lipídica envolve uma sequência complexa de alterações químicas resultantes da interação de lipídios, principalmente de ácidos graxos insaturados, com o oxigênio, gerando moléculas com odores e sabores indesejados conhecidos como rancidez oxidativa (ORDÓÑEZ et al., 2005). Além disso, podem afetar a qualidade nutricional, devido a degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais (GRANADOS, 2000; MCCLEMENTS; DECKER, 2010).

Os níveis de oxidação são influenciados principalmente pela disponibilidade de oxigênio, temperatura, presença de resíduos de metais, incidência de luz, devendo-se, portanto, ter cuidado tanto no processamento quanto no armazenamento do azeite de oliva (ORDÓÑEZ et al., 2005; KANAVOURAS; CERT; HERNANDEZ, 2005).

O índice de peróxido também é utilizado como critério para classificação do azeite de oliva, sendo o valor de 20 meq.O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>, o limite máximo para ser considerado próprio para o consumo humano (BRASIL, 2012).

### 2.6.3 Absorbância na região do ultravioleta (K270 nm e K232 nm)

Os ácidos graxos absorvem a luz em comprimentos de onda específicos da região ultravioleta, assim, este parâmetro pode ser usado para determinar a qualidade do azeite de oliva. Para o azeite obtido de uma azeitona sã, que não tenha sido submetido a algum tratamento diferente das operações físicas próprias da sua extração, o valor da absorbância no ultravioleta (K270 nm e K232 nm) deve ser inferior aos limites legais estabelecidos.

Após o início da oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados ocorre a formação das ligações duplas conjugadas, originando dienos e trienos conjugados, além de compostos carbonílicos. Os dienos conjugados são identificados pela sua absorção no comprimento de onda de 232nm, enquanto que os trienos conjugados e compostos carbonílicos são identificados no azeite a 270 nm (UCEDA; HERMOSO; AGUILERA, 2004).

Os azeites com valores acima dos limites também podem indicar a presença de óleos refinados, pois o refino provoca mudança na configuração de ácidos graxos e a formação de dienos e trienos conjugados (ANGEROSA et al., 2006).

## 2.7 Obtenção do azeite de oliva

Para ser considerado de boa qualidade, o azeite de oliva deve apresentar-se dentro de determinados padrões, tanto físico-químicos quanto sensoriais, que estão diretamente relacionados com a característica do fruto. Vários são os fatores que podem influenciar, os quais vão desde a colheita até o armazenamento.

A colheita dos frutos destinados à extração do azeite deve ser realizada antes da azeitona apresentar-se completamente madura, fase que oferece a máxima quantidade de azeite e melhores características, tanto do ponto de vista sensorial como de alguns índices físico-químicos de qualidade (COSTA, 1978; ALBA, 2004). Com isso, a produção do azeite de oliva começa com a seleção das azeitonas, as quais devem ser firmes e não conter danos físicos.

Em geral, a elaboração do azeite de oliva segue as seguintes etapas (ALBA, 2004; UCEDA et al., 2006):

- a) operações prévias: recepção, caracterização, limpeza, lavagem e armazenamento do fruto;
- b) preparação da pasta: moagem e batimento (destruição da estrutura dos tecidos vegetais e liberação do azeite de oliva);
- c) separação das fases sólidas e líquidas: prensagem, centrifugação (sistema de duas fases e sistema de três fases);
- d) separação de fases líquidas: decantação natural e centrifugação (obtenção da fase aquosa e do azeite de oliva).
- e) armazenamento do azeite.

Os depósitos ideais para o armazenamento do azeite de oliva devem ser de aço inoxidável, para evitar efeitos adversos sobre a qualidade do aroma e sabor, produzindo a deterioração do azeite (VILLALTA, 1999). Além disso, deve-se proteger o azeite da luz, do ar e manter a temperatura relativamente constante, entre 15 e 25°C, para evitar a alteração do produto por oxidação (FERNÁNDEZ et al., 1991; APARÍCIO; HARWOOD, 2003).

Segundo Barranco, Toro e Rallo (1998), utilizando o modo de obtenção do azeite por extração mecânica, para cada 5 kg de azeitonas, produz-se, em média, um litro de azeite.

## 2.8 Composição química do azeite de oliva

A composição do azeite de oliva pode variar devido às condições agronômicas e climáticas, à cultivar, à qualidade do fruto, ao sistema de extração e aos processos de refino. Também durante a estocagem do azeite, reações de hidrólise, de esterificação e de oxidação podem originar alterações nos compostos majoritários e minoritários do produto (CERT; MOREDA; PÉREZ-CAMINO, 2000).

Os componentes majoritários consistem nos triacilgliceróis (ésteres de ácidos graxos e glicerol), os quais representam a “fração saponificável”, constituindo cerca de 98 % do azeite de oliva (BOSKOU, 1998). A composição do azeite em ácidos graxos é influenciada pela cultivar, condições climáticas e localização geográfica do olival.

O grande percentual dos ácidos graxos no azeite de oliva está na forma insaturada, com predominância dos monoinsaturados, os quais estão presentes em proporções que variam entre 61,2 e 79,6 % do total dos ácidos graxos. Os ácidos graxos poliinsaturados representam entre 5,8 e 13,6 % e os saturados entre 10,5 e 20,2 % do total (AGUILERA et al., 2005; ALLALOUT et al., 2009; HADDADA et al., 2007; MATOS et al., 2007).

O ácido graxo poli-insaturado mais abundante, pertencente à série  $\omega$ -6, é o ácido linoleico (C18:2); enquanto que o ácido linolênico, série  $\omega$ -3, está presente em pequenas quantidades no azeite de oliva. Os ácidos graxos linoleico e linolênico são essenciais ao homem, pois as células dos mamíferos não têm a capacidade de inserir uma dupla ligação (dessaturar) antes do carbono 9 da cadeia dos ácidos graxos. Esses ácidos graxos poli-insaturados demonstram efeitos similares aos monoinsaturados, estando relacionados com a redução do LDL-colesterol. Além disso, os ácidos graxos  $\omega$ -3 podem diminuir as concentrações de triglicerídeos. Além disso, os ácidos graxos da série  $\omega$ -6, quando consumidos em elevadas quantidades, podem provocar pequenas reduções nas concentrações séricas de HDL-colesterol (SANTOS et al., 2012).

O consumo de ácido graxo monoinsaturado, especificamente ácido oléico, série  $\omega$ -9, tem sido relacionado à redução dos níveis de LDL-colesterol e aumento do HDL-colesterol sanguíneo (KATAN, ZOCK, MENSINK, 1994).

Os componentes minoritários, denominados no seu conjunto como “fração insaponificável”, incluem mais de 200 compostos químicos, tais como álcoois alifáticos e triterpênicos, esteróis, hidrocarbonetos, compostos aldeídicos,

compostos cetônicos, tocoferóis, compostos fenólicos, pigmentos, dentre outros, os quais perfazem cerca de 2 % do total do azeite (BOSKOU, 1996; CRIADO et al., 2008; KANDYLIS et al., 2011).

Os tocoferóis são importantes por seu valor nutricional como precursores da vitamina E (BELTRÁN et al., 2010) e por sua propriedade antioxidante. Esses compostos constituem o grupo dos antioxidantes lipofílicos, tendo sido estabelecida correlação significativa entre alguns tocoferóis e estabilidade oxidativa, observando-se inibição efetiva na autooxidação lipídica do azeite de oliva (ALLALOUT et al., 2009). O  $\alpha$ -tocoferol é a forma mais abundante dentre os tocoferóis presentes no azeite de oliva, perfazendo em torno de 95 % dos tocoferóis (BACCOURI et al., 2008).

Outros antioxidantes naturais encontrados no azeite de oliva estão inclusos no grupo dos compostos fenólicos, os quais se destacam pela estabilização das espécies reativas de oxigênio, contribuindo tanto para o aumento da vida útil do azeite (PARDO; CUESTA; ALVARRUIZ, 2007) quanto para proteção em nível celular, auxiliando na redução do risco de algumas doenças (SERVILI et al., 2004). Além disso, o conteúdo de compostos fenólicos também tem sido relacionado com o índice de amargor, influenciando no sabor do azeite de oliva (BELTRAN et al., 2000).

A composição das clorofilas e dos carotenóides influencia determinantemente a cor do azeite de oliva, parâmetro sensorial avaliado pelos consumidores. A presença desses pigmentos no azeite é influenciada pela época da colheita do fruto (ROCA; MINGUEZ-MOSQUERA, 2001; CRIADO et al., 2008), e pelo processo de extração, o qual acarreta perda dessas substâncias, principalmente das clorofilas, devido a transformação estrutural da clorofila em feofitina pela remoção do íon  $Mg^{+2}$  (MOYANO et al., 2008).

Trabalhos relatam o papel dos carotenóides como antioxidante e como agente protetor de doenças cardiovasculares e de patologias degenerativas dos olhos (MAYNE et al., 1996; KRITCHEVSKY, 1999; LANDRUM; BONE, 2001). Entretanto, a clorofila é um pigmento que merece atenção por estar associada à atividade oxidativa em alimentos processados, em função da ação pró-oxidante na presença de luz (FAKOURELIS; LEE; MINN, 1987).

## Referências

- AGUILERA, M.P.; BELTRÁN, G.; ORTEGA, D.; FERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ, A. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 387-391, 2005.
- ALBA, J. Elaboracion del aceite de oliva virgen. In BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. (Eds.), **El cultivo del olivo** (pp. 615 - 656). Córdoba: Mundi-prensa, 2004.
- ALLALOUT, A.; KRICHÈNE, D.; METHENNI, K.; TAAMALLI, A.; OUESLATI, 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.
- ANGEROSA, F.; CAMPESTRE, C.; GIANANTE, L. **Analysis and authentication**. In *Olive oil: Chemistry and Technology*. BOSKOU, D (ed) (second edition). AOCS Press, Champaign. Illinois, 2006.
- ANTONIASSI, R.; PEREIRA, D.; SZPIZ, R. R.; JABLONKA, H. J.; LAGO, C. A. Avaliação das características de identidade e qualidade de amostras de azeite de oliva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.1, n, 1-2, p. 32-43, 1998.
- APARÍCIO, R.; HARWOOD, J. (2003). **Manual del aceite de oliva**. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; MINAZZI-RODRIGUES, R. S.; BADOLATO, E. S. G. Olive oil: adulteration from 1993 to 2000. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 61, n.2, p. 69-75, 2002.
- AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; KUMAGAI, E. E.; CANO, C. B. Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicérido ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. **Quimica Nova**, v. 31, n. 1, p. 31-34, 2008.
- BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; DAOUD 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.
- BARRANCO, D.; TORO, C. DE.; RALLO, L. Épocas de maduración de cultivares de olivo en cordoba. **Investigacion Agraria: Produccion y Proteccion Vegetales**, Madrid, v. 13, n. 3, p. 359-368, 1998.
- BELTRAN, G.; JIMÉNEZ, A.; AGUILERA, M. P.; UCEDA, M. Análisis mediante HPLC de La fracción fenólica del aceite de oliva virgen de La variedad Arbequina. Relación com La medida del amargor K225 y La estabilidad. **Grasas y Aceites**. v. 51, p. 320-324, 2000.

BELTRÁN, G.; AGUILERA, M.P.; DEL RIO, C.; SANCHES, S.; MARTINES, L. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 633-639, 2010.

BECKER, D. F. S.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R. & FERNANDES, G. B., Quantificação de Fitosteróis em Azeite de Oliva Importados e Disponíveis no Comércio de Campinas Utilizando Cromatografia em Fase Gasosa. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v.8, n. 3, jul./set., p. 190-199, 2005.

BOSKOU, D. **Olive oil: Chemistry and technology**. Champaign, IL:AOCS Press. 1996.

BOSKOU, D. **Química y tecnología del aceite de oliva**. AMV Ediciones, Mundi-Prensa. Madrid, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, 30 de janeiro de 2012. Regulamento técnico dos azeites de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 23, p. 5-8, 01 fev. 2012. Seção 1.

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

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

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1978. v. 1, p. 1031.

COUTINHO, E. F.; JORGE, R. O.; COSTA, V. B. **Cultivares de Oliveira**. In.: A cultura da oliveira. COUTINHO, E. F. (Ed.). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 143p (39-50).

COUTINHO, E. F.; CAPPELLARO, T. H.; RIBEIRO, F. C.; HAERTER, J. A. **Introdução e importância econômica**. In.: COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. (Eds.) Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.). Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2009, 125p (p. 17-20).

COVAS, M. I. Olive oil and the cardiovascular system. **Pharmacological Research**, v. 55, p. 175–186, 2007.

CRIADO, M. N.; ROMERO, M. P.; CASANOVAS, M.; MOTILVA, M. J. Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. **Food Chemistry**, v. 110, p. 873–880, 2008.

EMATER. **Reunião de Olivicultura propõe debate entre produtores, técnicos e pesquisadores.** Disponível em: <http://www.emater.tcche.br/site/noticias/noticia.php?id=15705>. Acesso em 20/02/2013.

EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY (EEC). (2003). Characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. EEC Regulation 1989/2003. *Official Journal European Community*, L 295, 77 p.

FABRO, A. **Del. L'olivo: coltivazione, raccolta e utilizzo.** FANCONERI, S. (ed.). Milano: Giunti Demetra. 2009, 126p.

FAKOURELIS, N.; LEE, E. C.; MINN, D. B. Effects of chlorophyll and b-carotene on the oxidation stability of olive oil. *Journal of Food Science*, v. 52, p. 234–235, 1987.

FAGUNDES V. **Oliveiras: EPAMIG aposta no potencial da azeitona e do puro azeite de Minas.** Minas Faz Ciência, Belo Horizonte, n.19, p.16-20, 2004.

FERNÁNDEZ, M.H.; OJEDA, M.; RODRÍGUEZ, A.; BERNARDINO, J.; RUIZ, L.; GARCÍA, A. (1991). **Elaboracion de aceite de oliva de calidad.** Junta de Andalucía, Dirección General de Investigación, Tecnología e Formación Agroalimentaria y Pesquera, 5/91 Apuntes. Sevilla.

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

GOMES P. **A Olivicultura no Brasil.** Livraria Nobel S.A., São Paulo, 1979. 237p.

GRANADOS, J. A. (2000). **Enciclopèdia del aceite de oliva.** Editorial Planeta S. A., Barcelona.

HADDADA, F.M; NANAY, H.; OUESLATI, I.; DAOUD, D.; SÁNCHEZ, J.; OSORIO, E.; ZARROUK, M. Fatty acid, triacylglycerol, and phytosterol composition in six Tunisian olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, 0.10941-10946, 2007.

ISSAOUI, M.; DABBOU, S.; BRAHMI, F.; HASSINE, K. B.; ELLOUZE, M. H.; HAMMAMI, M. Effect of extraction systems and cultivar on the quality of virgin olive oils. *International Journal of Food Science and Technology*. v. 44, p. 1713-1720, 2009.

IOOC. International Olive Council. **Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils.** COI/T.15/NC No 3/Rev. 6. Madrid, 2011. Disponível em <http://www.internationaloliveoil.gov>. Acesso em: 06/02/2012.

IOOC. International Olive Oil Council. **World Olive Oil Figures.** Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>. Acesso em 18/02/2013a.

IOOC. International Olive Oil Council. **The olive tree**. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/web/aa-ingles/oliveWorld/olivo.html>. Acesso em 18/02/2013b.

KANAVOURAS, A.; CERT, A.; HERNANDEZ, R. J. Oxidation of olive oil under still air. **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 3, p. 183 – 189, 2005.

KANDYLIS, P.; VEKIARI, A.S.; KANELLAKI, M.; GRATI KAMOUN, N.; MSALLEM, M.; KOURKOUTAS, Y. Comparative study of extra virgin olive oil flavor profile of Koroneiki variety (*Olea europaea* var. *Microcarpa alba*) cultivated in Greece and Tunisia during one period of harvesting. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 1333-1341, 2011.

KATAN M, ZOCK P, MENSINK R. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. **American Journal Clinical Nutrition**; v. 60, p. 1017–1022, 1994.

KEFI, B. B.; AMMARI, F.; ATTIA, B. M.; GHANEM-BOUGHANMI, N. Oxidation stability of virgin olive oil during ripening. **Ernährung/Nutrition**, v. 34, n. 5, p. 197-205, 2010

KRITCHEVSKY, S. B.  $\beta$ -Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 5–8, 1999.

LANDRUM, J. T.; BONE, R. A. Lutein, zeaxanthin and the macular pigment. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 385, p. 28–40, 2001.

MATOS, L. C.; CUNHA, S. C.; AMARAL, J. S.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, B. P. P. Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. **Food Chemistry**, v. 102, p. 406 – 414, 2007.

MAYNE, S. T., JANERICH, D. T., GREENWALD, P., CHOROST, S., TUCCI, C., ZAMAN, M. B., et al. Dietary b-carotene and lung cancer risk in US nonsmokers. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 86, p. 33–38, 1996.

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

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. **Lipídeos**. In: Química de Alimentos de Fennema. Eds. DAMODARAM, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p., p. 131 – 178.

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

MOYANO, M. J.; MELENDEZ-MARTINEZ, 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.

OLIVEIRA, A. F. de; ANTUNES, L. E. C.; SCHUCH, M. W. Caracterização morfológica de cultivares de oliveira em coleção e considerações sobre o seu cultivo no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 231, p. 55-62, mar./abr. 2006.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p.

OWEN, R. W.; GIACOSA, A.; HULL, W. E.; HAUBNER, R.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. **European Journal of Cancer**, v. 36, p. 1235–1247, 2000.

PARDO, J. E.; CUESTA, M. A.; ALVARRUIZ, A. Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin “Aceite Campo de Montiel” (Ciudad Real, Spain). **Food Chemistry**, v. 100, p. 977-984, 2007.

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

POULIAREKOU, E.; BADEKA, A.; TASIOULA-MARGARI, M.; KONTAKOS, S.; LONGOBARDI, F.; KONTOMINAS, M.G. Characterization and classification of Western Greek olive oils according to cultivar and geographical origin based on volatile compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 7534 – 7542, 2011.

QUEST-RITSON, C. **Guia ilustrado Zahar**: Azeite. Tradução: Maria Slade Oliveira. Rio de Janeiro: Zahar, 2011. 288p.

ROCA, M.; MINGUEZ-MOSQUERA, M. I. Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 78, n. 2, p. 133–138, 2001.

SANTOS, R. D.; GAGLIARDI, A. C. M.; XAVIER, H. T.; CASELLA FILHO, A.; ARAÚJO, D. B.; CESENA, F. Y.; ALVES, R. J. et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF). **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 9, n.2 (Supl. 2), p. 1-28, 2012.

SECEX. BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior. **Importação de azeite de oliva Virgem**. Disponível em: <http://aliceweb2.mdic.gov.br/>. Acesso em 04/03/2103.

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

TOUS, J.; ROMERO, A.; PLANA, J. Comportamento agrônômico y commercial de cinco variedades de olivo en Tarragona. **Investigacion Agrária: Produccion y Proteccion Vegetable**, (Madrid), v. 13, n. 1-2, p. 97-109, 1998.

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

UCEDA, M.; HERMOSO, M.; AGUILERA, M. P. La calidad Del aceite de oliva. In: **El cultivo del olivo**. BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. (Eds.). 5. ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, 800p.

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

VILLA, P. **El cultivo del olivo**. Barcelona: De Vecchi, 2007, 143p.

VILLALTA, L. **Obtención del aceite de oliva virgen**.2 ed. Editorial Agrícola Española, S.A: Madrid. 1999.

ZAMBIAZI, R. C. **Tecnologia de óleos e gorduras**. Universidade Federal de Pelotas,2003, 122p.

ZAMORA, R., ALAIZ, M.; HIDALGO, F. J. Influence of cultivar and fruit ripening on olive (*Olea europaea*) fruit protein content, compositionand antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4267–4270, 2001.

WREGGE, M. S. **Zoneamento Agroclimático para Oliveira no Estado do Rio Grande do Sul**. Embrapa Clima Temperado:Pelotas, 2009. 24p.

# CAPÍTULO I: AZEITE DE OLIVA: COMPOSTOS BIOATIVOS E IMPLICAÇÕES NA SAÚDE HUMANA

## OLIVE OIL: BIOACTIVE COMPOUNDS AND IMPLICATIONS ON HUMAN HEALTH

GOULARTE-DUTRA, F. L.<sup>1</sup>; ZAMBIAZI, R. C.<sup>2</sup>; HELBIG, E.<sup>3</sup>, COUTINHO, E. F.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial/Universidade Federal de Pelotas.

E-mail:[fgoularte@hotmail.com](mailto:fgoularte@hotmail.com)

<sup>2</sup>Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos / Universidade Federal de Pelotas.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos/Universidade Federal de Pelotas.

<sup>4</sup>Embrapa Clima Temperado/Pelotas.

### Resumo

Nos últimos anos tem ocorrido um crescente aumento no consumo de azeite de oliva, principalmente pelos benefícios à saúde proveniente de sua utilização regular na dieta. O azeite, quando obtido pela extração a frio, apresenta em sua constituição alto conteúdo em ácido oléico, entre 58,8 % e 81,6 % do total dos ácidos graxos, além de compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos, entre 42 e 565 mg kg<sup>-1</sup>, tocoferóis, entre 39 e 495 mg kg<sup>-1</sup> e pigmentos como carotenóides, entre 1,4 e 27,4 e clorofilas, entre 0,6 a 50 mg kg<sup>-1</sup>. Muitos destes compostos, além de contribuírem para a estabilidade oxidativa do azeite, apresentam propriedades benéficas à saúde humana, como a ação antioxidativa, imunomoduladora, antitumoral e anti-inflamatória. Entretanto, são necessários mais estudos para elucidar os mecanismos de ação, a correlação destes compostos e os benefícios observados com o consumo do azeite de oliva.

Palavras-chave: antioxidantes. compostos fenólicos. ácido oléico. tocoferóis.

### Abstract

In recent years there has been a steady increase in the consumption of olive oil. The olive oil is obtained by the cold extraction, presenting in its constitution high content of oleic fatty acid and some bioactive compounds including phenolic compounds, tocopherols and pigments such as carotenoids and chlorophyll. These components, besides the oxidative stability contribution to the oil, present beneficial properties to human health, with antioxidant, immunomodulatory, antitumoral and anti-

inflammatory effect. However, more studies are needed to establish more clearly the mechanisms of action and correlation of the phytochemicals in olive oil and the benefits observed with oil consumption.

Key words: antioxidant. phenolic compounds. oleic acid. tocopherols.

## 1 Introdução

O azeite de oliva, óleo obtido do fruto da oliveira (*Olea europaea*), é amplamente consumido em países que compõem a bacia do mediterrâneo desde a antiguidade. Sua comercialização está disseminada em diversos países do mundo, incluindo o Brasil, o qual atingiu a importação de cerca de 68 mil toneladas na safra 2011/12, estabelecendo-se como o quarto maior importador de azeite de oliva (IOOC, 2013).

Nos últimos anos tem ocorrido um crescente aumento no consumo deste produto, segundo dados disponibilizados pelo International Olive Council em 2012, o consumo mundial de azeite de oliva comestível foi superior a 3,4 milhões de toneladas (IOOC, 2013).

O fruto da oliveira contém grande quantidade de água (40 a 45 %), carboidratos (10 a 20 %) e em torno de 30 % de lipídios (BRUNETON, 1991). Na fração lipídica, os triacilglicerídeos são os componentes majoritários, os quais representam cerca de 98 % do peso total (QUEST-RITSON, 2011).

Dentre os ácidos graxos que compõem os triacilglicerídeos, destaca-se o ácido oléico, constituindo 55 a 83 % do total (IOOC, 2011). Este ácido graxo monoinsaturado tem sido correlacionado à propriedades benéficas à saúde, além de contribuir para o aumento da vida útil do azeite, juntamente com os antioxidantes naturais que estão presentes em quantidades minoritárias no azeite de oliva (COVAS *et al.*, 2006).

O conteúdo dos compostos bioativos no azeite de oliva pode variar em função da cultivar, grau de maturação das olivas, condições do solo e clima, bem como dos cuidados nos processos de colheita, extração, conservação e distribuição do produto final, o que influencia na qualidade final do azeite (BRUNI, CORTESI e FIORINO, 1994; TEMIME *et al.*, 2008).

Os padrões internacionais de identidade e qualidade para o azeite de oliva estão descritos no Codex Alimentarius (2001) e nas normas da União Europeia (EEC, 2003), e os padrões nacionais pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2012) os quais identificam e classificam o azeite dentro de diferentes categorias para o consumo. A classificação do azeite baseia-se, principalmente, em parâmetros sensoriais e físico-químicos, como acidez, índice de peróxidos e coeficiente de extinção na região do ultravioleta.

Os azeites de oliva virgem e extra-virgem não passam pelo processo de refino, conservando assim alto conteúdo de compostos bioativos, como compostos fenólicos, pigmentos, tocoferóis e fitosteróis, os quais são total ou parcialmente removidos dos óleos vegetais nos vários estágios do refino (MORETTO e FETT, 1998).

Considerando o aumento no consumo, a preocupação com uma alimentação mais saudável e a importância da utilização do azeite de oliva, este trabalho apresenta uma revisão sobre os compostos bioativos presentes no azeite de oliva e suas implicações na saúde humana.

## **2 Bioativos no azeite de oliva**

Os principais compostos bioativos presentes no azeite de oliva pertencem ao grupo dos compostos fenólicos, tocoferóis, fitosteróis, clorofilas e carotenóides, além do ácido oléico.

Os compostos fenólicos atuam algumas vezes como quelantes de metais (SHAHIDI, JANITHA e WANASUNDARA, 1992) e como estabilizadores de radicais livres. Juntamente com os tocoferóis agem como inibidores tanto na etapa de iniciação como na de propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários formados pela ação destes antioxidantes são relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático que ocorre nestes compostos (NAWAR, 1985; PORTER, CALDWELL e MILLS, 1995).

A ação dos carotenóides como antioxidantes pode ser devido a ação quelante do oxigênio molecular singlete ou pela interação com radicais livres por meio de transferência de elétrons, estabilizando o elétron desemparelhado por ressonância (FOOTE, CHANG e DENNY, 1970). Além disso, a interação com outros antioxidantes pode gerar efeitos sinérgicos (DELGADO-VARGAS, JIMÉNEZ e

PAREDES-LÓPES, 2000), como por exemplo, com os tocoferóis, os quais são considerados potentes antioxidantes naturais, protegendo o óleo dos processos oxidativos, aumentando assim sua estabilidade (CHOTIMARKORN e SILALAI, 2008).

Vários autores (ZAMBIAZI e ZAMBIAZI, 2000; AGUILERA *et al.*, 2005; ALLALOUT, 2009; BELTRÁN *et al.*, 2005; TURA *et al.*, 2007) relatam a relação da estabilidade oxidativa do azeite de oliva com os compostos fenólicos, os quais atuam como interruptores de radicais livres, e com a composição em ácidos graxos, pois o ácido graxo monoinsaturado possui apenas uma ligação dupla, sendo menos propenso a oxidação em comparação com os poli-insaturados (FITÓ, DE LA TORRE, COVAS, 2007).

No entanto, quando em altas concentrações, tanto os tocoferóis (vitamina E) como o betacaroteno podem exibir atividade pró-oxidante em modelos de sistemas *in vitro* (GORDON, 1996; ZAMBIAZI, 1997). Adicionalmente, as clorofilas podem apresentar atividade pró-oxidante em óleos e gorduras comestíveis, com evidente prejuízo sobre a qualidade do óleo. Em função disso, as clorofilas e seus derivados devem ser removidos dos óleos durante o processo de refino com o intuito de aumentar a estabilidade oxidativa (LEVADOUX *et al.*, 1987; TAUTORUS e LOW, 1993). A atividade pró-oxidante da clorofila e de seus derivados em óleos vegetais ocorre na presença de luz, principalmente na região do ultra violeta, pois esta molécula é fotossensível, portanto, pode-se reduzir este efeito pela não exposição direta do azeite à luz (ENDO, USUKI e KANEDA, 1984; ENDO, USUKI e KANEDA, 1985).

Além de contribuir para a estabilidade, o ácido oléico também demonstra efeitos benéficos a saúde. Estudos têm comprovado que esse ácido graxo aliado aos compostos bioativos conferem ao azeite de oliva propriedades antioxidativas, anti-inflamatória e hipolipidêmica (PERONA, CABELLO-MORUNO e RUIZ-GUTIERREZ, 2006).

## 2.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são produtos oriundos do metabolismo secundário dos vegetais (TAIZ e ZEIGER, 2004). Uma grande variedade de derivados fenólicos é essencial para o crescimento e reprodução das plantas, pois estes compostos

agem como antipatógenos e atuam na proteção contra predadores, como insetos (BUTLER, 1992).

Em alimentos, os compostos fenólicos podem contribuir para o amargor, adstringência, pigmentação, sabor, odor e estabilidade oxidativa dos produtos (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Geralmente a estrutura destes compostos compreende um anel aromático, com uma ou mais hidroxilas substituintes (Fig.1), variando desde moléculas fenólicas simples até compostos altamente polimerizados (ROBBINS, 2003).

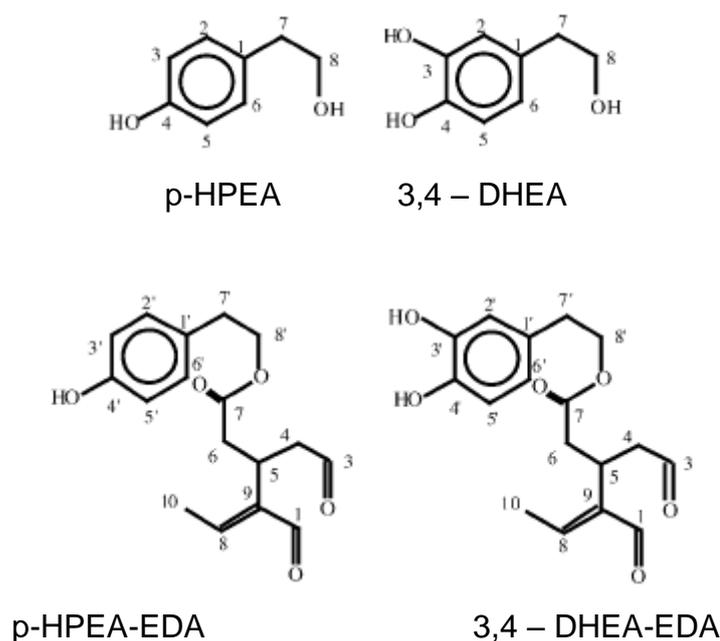


Figura 1. Estrutura química dos principais alcoóis fenólicos e derivados sercoiridóidesdo azeite de oliva. p-HPEA – tirosol; 3,4-DHEA – hidroxitirosol;p-HPEA-EDA- forma aldeídica do ácido elenólico ligado ao tirosol; 3,4-DHPEA-EDA- forma aldeídica do ácido elenólico ligado ao hidroxitirosol.

Fonte: SERVILI et al. (2004)

Os compostos fenólicos fazem parte da “fração polar” do azeite de oliva virgem, e para sua determinação existem diferentes métodos de análise, sendo a determinação espectrofotométrica do conteúdo total de compostos fenólicos a mais empregada. A análise de identificação dos compostos fenólicos pode ser realizada por eletroforese capilar, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou por cromatografia gasosa (CG). Esta última tem como vantagem o baixo limite de

detecção, porém requer a preparação de derivados voláteis e quimicamente estáveis à altas temperaturas (ANGEROSA *et al.*, 1995; TASIOULA-MARGARI e OKOGERI, 2001; MENDONÇA *et al.*, 2005; SAITTA *et al.*, 2009).

Gimeno *et al.* (2002) investigaram o efeito do sistema de extração, com decantador de duas e três fases, e do índice de maturação (IM) da oliva no conteúdo de compostos fenólicos do azeite de oliva. Estes autores observaram que o conteúdo de compostos fenólicos diminuiu com o amadurecimento da oliva, e que no decantador de duas fases ocorreu maior preservação do conteúdo de compostos fenólicos do que no processo de três fases. Os teores de compostos fenólicos no óleo extraído do fruto verde (IM = 1,48 a 2,55) variaram entre 72 e 123 mg de ácido caféico  $\text{kg}^{-1}$  de azeite, e no fruto maduro (IM = 3,00 a 4,65) variaram entre 42 e 80 mg ácido caféico  $\text{kg}^{-1}$  de azeite.

O mesmo comportamento foi observado por Morelló, Romero e Motilva (2004), que investigaram o efeito do grau de maturação da oliva nos teores de compostos fenólicos em azeites oriundos de três diferentes cultivares da Espanha. O conteúdo total de compostos fenólicos diminuiu com o avanço do estágio de maturação, em todas as cultivares, apresentado teores entre 139 e 565 mg de ácido caféico  $\text{kg}^{-1}$  de azeite. Morelló *et al.* (2003) analisaram dez amostras de azeite de oliva de diferentes lugares da região de "Les Garrigues" (Catalunha, Espanha) e encontraram teor médio de 99 mg de ácido caféico  $\text{kg}^{-1}$ .

Allalout *et al.* (2009) encontraram para os azeites de oliva monovarietais produzidos a partir de quatro variedades espanholas e gregas, cultivadas no modo super intensivo (maior densidade de plantas) no norte da Tunísia, teores que variaram de 108,3 a 236,5 mg ácido gálico  $\text{kg}^{-1}$  de azeite. Ocakoglu *et al.* (2009) determinaram o conteúdo total de compostos fenólicos em azeites oriundos de oito variedades cultivadas na Turquia, em duas colheitas, obtendo teores mínimos de 91,6 e máximo de 356,7 mg ácido gálico  $\text{kg}^{-1}$ , demonstrando que existe variação no conteúdo destes compostos em função da safra e entre as variedades de oliva. Bosseli *et al.* (2009) compararam três diferentes temperaturas no processo de extração (25 °C, 35 °C e 45 °C), em planta industrial, utilizando amostras de olivas cultivadas em duas regiões da Itália. Uma amostra foi constituída pela cultivar Coratina e a outra por um "blend" das cultivares Frantoio e Leccino. O conteúdo total de compostos fenólicos no azeite aumentou com o aumento da temperatura, de 84

(25 °C) para 143 mg ácido gálico kg<sup>-1</sup> (45 °C) para o “blend” e de 172 para 241 mg ácido gálico kg<sup>-1</sup> para o azeite da cultivar Coratina.

Através destes estudos, percebe-se que ocorre grande variação nos teores de compostos fenólicos em azeite de oliva (Tabela 1), em função da cultivar, local de cultivo, safra, índice de maturação do fruto e do modo e temperatura de extração do azeite. Salienta-se que segundo a Commission of the European Communities, o regulamento n.º 1019/2002 introduziu novas normas de comercialização para o azeite, onde a indicação de extração a frio só poderá ser usada para azeites obtidos em temperaturas abaixo de 27 °C (EUROPEAN UNION COMMISSION, 2002).

A determinação de compostos fenólicos por espectrofotometria fornece conteúdos totais, mas não indica qual grupo ou substância é predominante, sendo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de fase reversa e a cromatografia gasosa (CG) as técnicas mais comumente utilizadas para a determinação de compostos fenólicos individuais. De acordo com o exposto por Servili *et al.* (2004), o azeite de oliva virgem contém diferentes classes de compostos fenólicos, tais como ácidos fenólicos e derivados, alcoóis fenólicos, flavonóides, secoiridóides e lignanas. Tasioula-Margari e Okogeri (2001) isolaram por CLAE e caracterizaram por CG as principais frações dos compostos fenólicos presentes no azeite de oliva virgem da variedade de oliveira Lianolina, produzida na Grécia, por três safras consecutivas. Os compostos foram agrupados em frações, onde a primeira, representando menos de 6%, correspondeu aos compostos fenólicos simples, sendo o tirosol (*p*-HPEA) e o hidroxitirosol (3,4 – DHPEA) os predominantes. Da segunda a quarta frações encontraram-se os compostos fenólicos complexos, dentre eles, compostos contendo tirosol e hidroxitirosol. O perfil das amostras estudadas nos três anos consecutivos foi similar. Entre os compostos fenólicos complexos, os derivados do tirosol e do hidroxitirosol corresponderam a mais de 70%.

Na Sicília, Saitta *et al.* (2009) analisaram compostos fenólicos em trinta e quatro amostras comerciais de azeites de oliva virgem, da variedade Nocellara Del Belice. Os autores identificaram, por cromatografia gasosa com espectrometria de massa (CG- MS), 27 compostos descritos em azeites de oliva e a presença de cinco não identificados anteriormente, que podem ser uma peculiaridade desta variedade de oliveira. Os principais compostos fenólicos presentes nas amostras avaliadas foram o tirosol (10,5 – 32,3 mg kg<sup>-1</sup>), hidroxitirosol (12,80 – 36,10 mg kg<sup>-1</sup>) e seus respectivos derivados, ligstrosídeo-aglicona di-aldeído, *p*-HPEA – EDA, (66,80 –

124 mg kg<sup>-1</sup>) e oleuropeína aglicona di-aldeído, 3,4 - DHPEA – EDA, (84,20 – 156 mg kg<sup>-1</sup>).

Suarez *et al.*(2008), utilizando cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC), analisaram amostras de azeite de oliva virgem oriundo do fruto da oliveira da variedade Arbequina, na Espanha. Neste estudo, os compostos fenólicos mais abundantes identificados foram os derivados secoiridoides 3,4 – DHPEA –EDA (152 mg kg<sup>-1</sup>) e *p*-HPEA – EDA (20 mg kg<sup>-1</sup>). Entre os compostos fenólicos minoritários foram identificados os alcoóis fenólicos como tirosol (3 mg kg<sup>-1</sup>) e hidroxitirosol (2,50 mg kg<sup>-1</sup>); os flavonóides, principalmente a luteolina (4,10 mg kg<sup>-1</sup>); e os ácidos fenólicos, os quais totalizaram 1,40 mg kg<sup>-1</sup>.

Resultados similares foram obtidos por Allalout *et al.* (2009) em azeites de oliva monovarietais produzidos a partir de variedades espanholas (Arbequina, Arbosana e Arbequina 1-18) e grega (Koroneiki), cultivadas no modo intensivo no norte da Tunísia. Os compostos mais representativos, em todas as variedades, foram os que contêm a forma aldeídica do ácido elenólico ligado ao tirosol (*p*-HPEA - EDA) e ao hidroxitirosol (3,4 - DHPEA - EDA), ligostroside aglicona (*p*-HPEA - EA) e oleuropeína aglicona (3,4 - DHPEA –EA), os quais variaram de 21 - 62 mg kg<sup>-1</sup>; 9 – 69 mg kg<sup>-1</sup>; 2 - 6 mg Kg<sup>-1</sup>; 8 - 37 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Nesse mesmo estudo, foram encontradas quantidades consideráveis de lignana pinosresinol, alcoóis fenólicos hidroxitirosol e tirosol, e o ácido felúrico, os quais variam, respectivamente de 8 a 13 mg kg<sup>-1</sup>, de 2 a 28 mg kg<sup>-1</sup>, de 2 a 15 mg kg<sup>-1</sup> e de 2 a 19 mg kg<sup>-1</sup>. Observou-se, em geral o mesmo perfil dos compostos fenólicos nas amostras de azeite estudadas, entretanto foi encontrada uma grande variação dos teores de cada componente em função das diferentes cultivares.

Em estudo com azeites de oliva extra-virgem monovarietais, extraídos de seis variedades de oliveira cultivadas na Turquia, foi avaliada por HPLC a distribuição dos compostos fenólicos simples, ácidos fenólicos e flavonóides, em duas safras. Os compostos fenólicos majoritários encontrados, mediante comparação com os tempos de retenção dos padrões, em mg kg<sup>-1</sup>, foram o hidroxitirosol (0,07 a 5,78), tirosol (0,25 a 19,30), ácido vanílico (0,07 a 0,86), ácido *p*-cumárico (0,01 a 0,96), ácido cinâmico (0,04 a 2,55), luteolina (0,07 a 2,74) e apigenina (0,84 a 24,05) (OCAKOGLU *et al.*, 2009). Os autores concluíram que as cultivares de oliveiras apresentam diferente distribuição de compostos fenólicos, sendo o perfil altamente dependente da época da colheita.

Observou-se que as quantidades dos compostos fenólicos em azeite de oliva variam de traços a níveis relativamente altos, sendo os ácidos e alcoóis fenólicos presentes em menores teores que os derivados secoiridóides (Tabela 1).

Tabela 1 – Conteúdo de compostos fenólicos em azeite de oliva

Referência	Compostos fenólicos				
	Totais	<i>p</i> -HPEA <sup>2</sup>	3,4 - DHPEA <sup>2</sup>	<i>p</i> -HPEA - EDA <sup>2</sup>	3,4 - DHPEA - EDA <sup>2</sup>
Gimeno et al. (2002)	42 – 123*	-	-	-	-
Morelló et al. (2004)	139 – 565*	-	-	-	-
Bosseli et al. (2009)	84 – 241 <sup>1</sup>	-	-	-	-
Ocakolu et al. (2009)	92 – 357 <sup>1</sup>	0,3 – 19,3	0,07 – 5,8	-	-
Suarez et al. (2008)	-	3,0	2,5	20,0	152
Allalout et al. (2009)	108 – 237 <sup>1</sup>	8 – 13	2 – 28	21 – 62	9 – 69
Saiita et al. (2009)	-	11 – 32	13 – 36	67 – 124	84 – 156

\* expressos em mg de ácido caféico kg<sup>-1</sup> de azeite de oliva; <sup>1</sup> expressos em mg ácido gálico kg<sup>-1</sup> de azeite de oliva; <sup>2</sup> expressos em mg kg<sup>-1</sup> de azeite de oliva; *p*-HPEA = tirosol; 3,4 - DHPEA = hidroxitirosol; *p*-HPEA - EDA = forma aldeídica do ácido elenólico ligado ao tirosol; 3,4 - DHPEA - EDA = forma aldeídica do ácido elenólico ligado ao hidroxitirosol.

## 2.2 Tocoferóis

O conteúdo de tocoferóis em azeites de oliva é fator considerável para estimular o consumo deste produto, pois é um importante antioxidante natural presente em óleos vegetais (POKORMÝ, 1991).

Os tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), Figura 2, juntamente com os tocotrienóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), são compostos lipossolúveis, designados genericamente como precursores da vitamina E (KIM e GODBER, 2001), os quais atuam na interrupção da cadeia de propagação de radicais livres, reduzindo o efeito de processos oxidativos (HENNEKES e GAZIANO, 1993).

Portanto, os tocoferóis que se encontram na fração insaponificável do azeite de oliva, possuem importância tanto do ponto de vista nutricional quanto da estabilidade do azeite.

O  $\alpha$ -Tocoferol tem sido encontrado como o tocoferol predominante no azeite de oliva (Tabela 2), estando em menores quantidades o  $\gamma$  e  $\beta$ -tocoferol, não tendo sido detectado conteúdos do  $\delta$  - tocoferol (BACCOURI *et al.*, 2008; BELTRÁN *et al.*, 2005; TURA *et al.*, 2007).

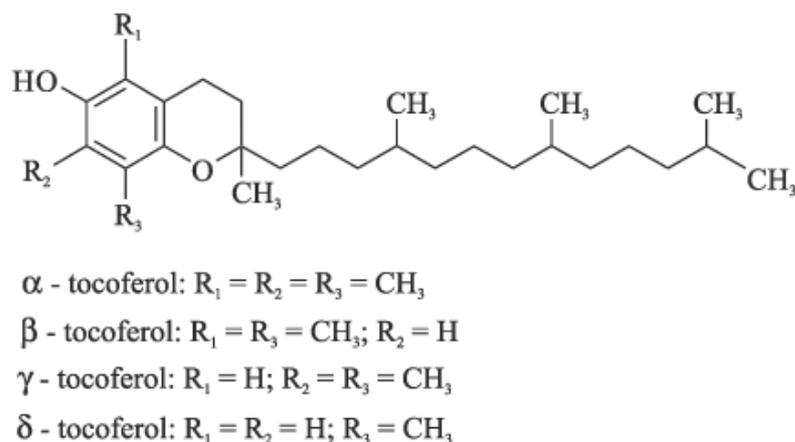


Figura 2. Estrutura dos tocoferóis

Fonte: RAMALHO, JORGE (2006).

Beltrán *et al.* (2005), observaram no azeite de oliva monovarietal de origem espanhola (cultivar Hojiblanca), que o efeito de diferentes safras demonstrou ter maior influência sobre o conteúdo de tocoferóis do que o índice de maturação dos frutos. O estresse hídrico influenciou, principalmente, no conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol, ocorrendo conteúdos maiores em anos com pouca precipitação. Em geral, os teores destes compostos reduziram ao longo do amadurecimento da azeitona, com conteúdo médio de três safras consecutivas e nos diferentes índices de maturação de 293; 3,30; e 5,20  $\text{mg kg}^{-1}$  para o  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  – tocoferol, respectivamente.

Tabela 2 - Conteúdo de tocoferóis em azeite de oliva

Referência	Tocoferóis ( $\text{mg kg}^{-1}$ )			
	Total	$\alpha$ -Tocoferol	$\beta$ -Tocoferol	$\gamma$ -Tocoferol
Matos <i>et al.</i> (2007)	138,5 a 298,0	188 a 291	0,9 a 1,0	0,0 a 16,1
Beltrán <i>et al.</i> (2005)	248,0 a 381,0	232,0 a 374,0	1,7 a 4,3	2,3 a 12,4
Baccouri <i>et al.</i> (2008)	137,7 a 495,2	120,6 a 478,1	3,4 a 12,8	4,8 a 18,2
Tura <i>et al.</i> (2007)	39,4 a 425,9	38,7 a 387,2	0,3 a 15,5	0,2 a 25,6

Conteúdos similares foram observados por Matos *et al.* (2007) para os azeites de oliva monovarietais oriundos das cultivares Cobrançosa, Madural e Verdeal Transmontana, cultivadas no nordeste de Portugal. Em todas as cultivares o conteúdo de  $\alpha$  – tocoferol reduziu com o aumento do índice de maturação, variando de 291 para 221, de 219 para 202 e de 188 para 133  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente. O conteúdo de  $\beta$ -tocoferol ficou praticamente constante enquanto que ocorreu pequeno aumento no conteúdo de  $\gamma$ -tocoferol.

Em outro estudo foi avaliado o azeite de oliva extra-virgem, cultivar Chétoui (Tunísia), comparando o sistema de plantação irrigado e não irrigado. Os azeites obtidos de olivas do sistema de plantação sem irrigação apresentaram maior conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol. O conteúdo de tocoferóis decresceu com o estágio de amadurecimento das azeitonas, de 421,66 para 261,44 mg kg<sup>-1</sup>, em ambos sistemas de plantio. Na cultivar Chemlali, observou-se uma redução no conteúdo de tocoferóis apenas nos estádios finais da maturação (BACCOURI *et al.*, 2008).

Adicionalmente, ao analisar os fatores cultivar e ambiente, observou-se que os tocoferóis foram influenciados pelo tipo de cultivar. Foram avaliadas 61 amostras de azeite de oliva, obtidos em 4 anos consecutivos de 18 cultivares de oliveira. Os teores de tocoferóis variaram entre 38,70 e 387,20 mg kg<sup>-1</sup> para o  $\alpha$ -tocoferol; de 0,30 e 15,53 mg kg<sup>-1</sup> para o  $\beta$ -tocoferol; e 0,22 e 25,65 mg kg<sup>-1</sup> para o conteúdo de  $\gamma$ -tocoferol (TURA *et al.*, 2007).

### 2.3 Pigmentos

Os carotenóides e as clorofilas são pigmentos naturais que conferem cor aos alimentos, sendo os principais responsáveis pela coloração do azeite de oliva virgem e extra virgem, que variam de amarelo esverdeado ao verde dourado (AYUSO, HARO e ESCOLAR, 2004; ESCOLAR, HARO e AYUSO, 2007). Os carotenóides conferem coloração amarelada, destacando-se a luteína e o  $\beta$ -caroteno, enquanto que as clorofilas conferem coloração esverdeada (STANCHER, ZONTA e BOGONI, 1987; GANDUL-ROJAS e MINGUEZ-MOSQUERA, 1996).

Além da cor, as clorofilas e os carotenóides desempenham papel importante na estabilidade oxidativa dos azeites, devido à atividade antioxidante de alguns carotenóides, como  $\beta$ -caroteno e luteína, e da atividade pró-oxidante das clorofilas na presença de luz (SCHWARTZ e LORENZO, 1990).

Componentes das frações de clorofila e de carotenóides presentes no azeite virgem monovarietal, cultivar Arbequina (Catalunha, Espanha), foram avaliados por CLAE, durante duas safras consecutivas diferentes índices de maturação. O teor de carotenóides totais foi de 5,80 a 2,60 mg kg<sup>-1</sup> e de 9,50 a 2,20 mg kg<sup>-1</sup> nos diferentes anos, sendo predominante a luteína e o trans- $\beta$ -caroteno. Dentre as clorofilas, destacou-se a clorofila a, com conteúdos de 0,50 a 2,30 mg kg<sup>-1</sup> na primeira safra e de 0,30 a 5,40 mg kg<sup>-1</sup> na segunda, sendo que a clorofila total foi em média de 2,30 e 4,70 mg kg<sup>-1</sup>, para a primeira e segunda safra, respectivamente. As diferenças

quantitativas foram atribuídas aos diferentes estádios de maturação, onde a maior concentração de pigmentos foi obtida a partir de olivas comestádio de maturação que apresentaram pequenas manchas avermelhadas (CRIADO *et al.*, 2008). Estes mesmos autores observaram uma redução da fração de clorofila *a* e *b*, principalmente da clorofila *a*, a qual foi completamente degradada entre o 6° e o 12° mês de armazenamento do azeite na ausência de luz, em frascos de vidro âmbar fechados com atmosfera de nitrogênio à 4 °C, envolvendo provavelmente uma transformação em seus derivados.

Os principais componentes da fração dos carotenóides, luteína e  $\beta$ -caroteno, demonstraram grande estabilidade no armazenamento do azeite, mesmo após os 24 meses, onde a retenção da pró-vitamina A foi próxima de 80%, confirmando assim, a grande estabilidade desta fração quando o azeite virgem é armazenado em condições com ausência de luz.

Adicionalmente, Baccouri *et al.* (2008) encontraram correlação negativa, para todas as amostras de azeite de oliva monovarietal oriunda da Tunísia, entre o conteúdo dos pigmentos e o índice de maturação. Os conteúdos foram de 9,30 e 19,80 mg kg<sup>-1</sup> para o início do amadurecimento da oliva, e de 1,66 e 3,66 mg kg<sup>-1</sup> no estágio final de maturação das olivas, os quais foram avaliados por espectrofotometria, respectivamente para os carotenóides (448 e 475 nm) e clorofilas totais (670 nm).

Tura *et al.* (2007) analisaram 22 amostras de azeite de oliva, obtidos de diferentes cultivares de oliveira, em um mesmo pomar na Itália, onde verificaram o efeito dos fatores cultivar e ambiente. Os autores observaram que o conteúdo dos pigmentos variaram entre 1,40 e 27,40 mg kg<sup>-1</sup> e entre 0,60 e 50 mg kg<sup>-1</sup>, correspondente aos carotenóides e clorofilas totais, respectivamente. Essa grande variação no conteúdo dos pigmentos demonstra a influência das diferentes cultivares.

Além disso, verificou-se que tanto para os componentes clorofílicos quanto para os carotenóides, há elevação dos conteúdos no azeite de oliva quando se realiza o tratamento térmico (60 a 68°C) prévio ao processo de extração, especialmente para o conteúdo de luteína (incremento de 2,2 vezes) e da clorofila *a* (incremento de 2 a 7 vezes), possivelmente pela redução da atividade da enzima lipoxigenase (LUACES *et al.*, 2005).

Por outro lado, níveis muito baixos de carotenóides foram encontrados em azeites de oliva oriundos de diversas cultivares e regiões geográficas da Grécia, onde os conteúdos variaram de 0,20 a 3,90 mg kg<sup>-1</sup> e de 0,40 a 5,10 mg kg<sup>-1</sup> para a luteína e  $\beta$  - caroteno, respectivamente (PSOMIADOIU e TSIMIDOU, 2001).

Além dos fatores como índice de maturação e de variedades, o processo de extração e condições de armazenamento do azeite virgem, determinam o teor destes pigmentos, os quais apresentam uma ampla faixa de conteúdos em azeite de oliva (Tabela 3).

Tabela 3 - Conteúdo de pigmentos em azeite de oliva

Referência	Pigmentos (mg kg <sup>-1</sup> )			
	Carotenóides	$\beta$ - caroteno	Clorofilas	Clorofila a
Criado et al. (2008)	2,2 a 9,5	-	2,3 a 4,7	0,3 a 5,4
Psomiadoiu, Tsimidou (2001)	-	0,4 a 5,1	1,7 a 4,3	2,3 a 12,4
Baccouri et al. (2008)	9,3 a 19,8	-	1,7 a 3,7	-
Tura et al. (2007)	1,4 a 27,4	-	0,6 a 50	-

#### 2.4 Ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos também determina a qualidade do azeite de oliva, o qual segue um padrão específico, apresentando como ácido graxo (AG) majoritário o ácido oléico. Para ser considerado extra virgem, além de outros parâmetros de qualidade, o conteúdo de ácido oléico deve representar de 55 a 83 % dos ácidos graxos presentes no azeite, segundo o estabelecido pela regulamentação nacional (BRASIL, 2012).

Beltrán *et al.*(2005), determinaram a composição em ácidos graxos no azeite de oliva espanhol monovarietal (cultivar Hojiblanca) de três safras consecutivas, e encontraram como componentes majoritários o ácido oléico, seguido do palmítico e do linoléico, os quais, em média, representaram, respectivamente 70,5 a 78,9 %; 9,9 a 13,0 %; e 5,6 a 10,7 %.

Azeites de oliva monovariais portugueses oriundos das cultivares Cobrançosa, Madural e Verdeal Transmontana, foram avaliados considerando os diferentes índices de maturação das azeitonas. Entre todas as cultivares, os conteúdos de ácido oléico (71,2 - 81,6 %), linoléico (2,5 - 12,8 %) e palmítico (9,0 - 10,9 %) demonstraram pouca alteração em função do estágio de maturação do fruto, observando-se uma tendência de aumento do ácido oléico no início do período de

maturação e uma redução progressiva deste conteúdo com o aumento do grau de maturação da oliva (MATOS *et al.*, 2007).

A mesma tendência, porém com variação maior, foi observada por Baccouri *et al.* (2008) para o ácido linoléico, com um aumento médio de 63 % deste ácido graxo no final do período de maturação. No entanto, o conteúdo de ácido oléico apresentou comportamento inverso, com redução média de 8% no final do período de maturação em relação ao conteúdo nas azeitonas no índice inicial de maturação. Os conteúdos médios dos ácidos graxos majoritários foram de 67,8; 14,12 e 12,71 %, para os AGs oléico, linoléico e palmítico, respectivamente.

Estes dados são suportados por Gómez-Rico *et al.* (2007), os quais demonstraram que durante o amadurecimento do fruto ocorre o aumento do teor de ácido oléico, envolvendo a queda do conteúdo do ácido palmítico, devido a atuação de enzimas alongases e dessaturases. Também ocorre aumento do teor de ácido linoléico oriundo da transformação do ácido oléico por atividade enzimática (oleato dessaturase) durante a biossíntese dos ácidos graxos. Os conteúdos dos outros ácidos graxos mantiveram-se praticamente inalterados durante o amadurecimento. Comparando azeites de oliva monovarietais produzidos a partir de diferentes cultivares no norte da Tunísia, observou-se que o azeite da variedade grega Koroneiki apresentou o maior conteúdo de ácido oléico ( $75,5\% \pm 0,1$ ), enquanto que o azeite da cultivar espanhola Arbequina apresentou as menores proporções relativas ( $58,8\% \pm 2,7$ ). Os teores dos ácidos graxos palmítico e linoléico foram de 11,6 (Koroneiki) a 17,8 % (Arbosana), e de 8,6 (Koroneiki) a 12,9 % (Arbequina), respectivamente (ALLALOUT *et al.*, 2009).

A mesma tendência foi observada por Tura *et al.* (2007), os quais concluíram que a cultivar e o local de cultivo influenciam na proporção dos ácidos graxos.

Não foi observada diferença significativa entre o perfil de ácidos graxos em azeites de oliva obtidos de frutos antes e após ocorrer a injúria pelo frio. Em média, antes e após a injúria, o conteúdo dos ácidos oléico, palmítico e linoleico foi respectivamente de 71,4 e 71,7; 13,9 e 13,8; e de 10,6 e 10,4 % (MORELLÓ *et al.*, 2003).

O perfil dos ácidos graxos encontrado para azeites obtidos de oliveiras introduzidas no Sul de Minas Gerais (Brasil) demonstrou que todas as variedades avaliadas apresentaram conteúdos dentro dos parâmetros estipulados pela regulamentação nacional (BRASIL, 2012), apresentando diferença significativa para

o ácido oléico entre as variedades, cujo percentual variou de  $65,5 \pm 0,4$  a  $78,5 \pm 1,3$  % (CARDOSO *et al.*, 2010).

É importante ressaltar ainda, que além dos antioxidantes presentes no azeite de oliva, a razão entre os ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados apresentam correlação positiva com a estabilidade oxidativa do azeite. Em amostras de azeite de oliva esta razão varia, em média, de 4,9 a 13,7 (AGUILERA *et al.*, 2005; ALLALOUT *et al.*, 2009; BACCOURI *et al.*, 2008; BELTRÁN *et al.*, 2005).

Portanto, além de outros fatores, a composição em ácidos graxos do azeite de oliva pode ser influenciada pelo índice de maturação, cultivar e diferentes locais de cultivo.

### **3 Benefícios à saúde**

Em função do aumento da incidência de doenças crônicas, tem-se observado uma maior preocupação relacionada ao papel dos constituintes da dieta na gênese e na prevenção de doenças e seus mecanismos de ação, sendo a mesma, alvo de vários estudos.

Ebaid *et al.* (2010) avaliaram, em ratos Wistar do sexo masculino, o efeito do azeite de oliva e de seus compostos fenólicos sobre as alterações metabólicas cardíacas induzida pela obesidade. O estudo demonstrou que azeite de oliva, oleuropeína e ácido caféico, adicionados à dieta padrão aumentaram o catabolismo da gordura e otimizaram o metabolismo energético cardíaco nos ratos obesos. Além disto, foi observado que o azeite de oliva e seus compostos fenólicos reduziram o estresse oxidativo do miocárdio em condições de alimentação padrão.

Além deste estudo, também se observou correlação entre a inibição da oxidação do LDL (lipoproteína de baixa densidade) e um aumento na concentração de tirosol em extrato fenólico de azeite de oliva incubado *in vitro* (COVAS *et al.*, 2000), demonstrando a capacidade de ligação dos compostos fenólicos ao LDL. Adicionalmente, Lamuela-Raventós *et al.* (2004), demonstraram em um estudo de intervenção dietética, que o consumo de azeite de oliva e dieta mediterrânea por mais de uma semana, resultou em aumento dos compostos fenólicos no LDL.

No entanto, em estudo *in vivo* com consumo de azeite de oliva virgem, De La Torre-Carbot *et al.* (2010) não observaram aumento nos níveis de sulfato de tirosol

ligado ao LDL, mas observaram aumento de monossulfato de hidroxitirosol e de sulfato ácido de homovanílico ( $p < 0,05$ ), enquanto as concentrações circulantes de marcadores de oxidação, incluindo dienos conjugados e LDL oxidada, demonstraram uma redução ( $p < 0,05$ ), sendo que este último apresentou correlação negativa com os níveis de fenol-LDL ( $p = 0,013$ ). Assim, os autores concluíram que a concentração de fenóis no azeite modula o conteúdo fenólico metabólico na LDL após consumo diário. A relação inversa desses metabólitos com o grau de oxidação do LDL, suporta a ação antioxidante *in vivo* dos compostos fenólicos presentes no azeite, não sendo observados esses efeitos com o consumo de azeite de oliva refinado.

Segundo Huang e Sumpio (2008), várias evidências sugerem que os componentes do azeite de oliva extra virgem exercem efeito benéfico sobre a saúde cardiovascular. Covas (2007) salienta que os benefícios do consumo de azeite vão além de uma simples redução do colesterol LDL, onde dietas ricas em azeite reduzem as necessidades de insulina e diminuem a concentração plasmática de glicose em pacientes diabéticos tipo 2, em comparação com o efeito de dietas com baixo teor de gordura total (com alto teor de ácidos graxos saturados) e ricas em carboidratos. Adicionalmente, o LDL enriquecido com ácido oléico é mais resistente às modificações oxidativas, estando também relacionado com o teor de compostos fenólicos do azeite de oliva. Os autores concluíram que o azeite influencia as funções do endotélio, como a vasodilatação endotélio-dependente e uma redução da capacidade do LDL, enriquecido com ácido oléico, em promover a adesão e quimiotaxia de monócito, reduzindo o ambiente pró-trombótico, modificando a adesão plaquetária, coagulação e fibrinólise.

De acordo com relatos de Ruiz-Canela e Martínez-González (2011), o azeite de oliva, além de reduzir os níveis de LDL mantém ou aumenta os níveis de HDL (lipoproteína de alta densidade). Portanto, os compostos fenólicos (hidroxitirosol e oleuropeína) constituintes do azeite virgem, são potentes eliminadores de radicais superóxido e inibidores da oxidação da LDL, atuando na proteção de doenças cardiovasculares, pois a preservação da função endotelial é um mecanismo-chave para a prevenção da aterosclerose.

O consumo de azeite de oliva extra virgem por indivíduos saudáveis (normolipidêmicos) após 2 e 6 hs, induziu a uma redução significativa dos marcadores inflamatórios TXB<sub>2</sub> (tromboxano B<sub>2</sub>) e LTB<sub>4</sub> (leucotrieno B<sub>4</sub>). Ao

mesmo tempo foi observado um aumento da capacidade antioxidante do soro, sendo que os mesmos efeitos não foram observados quando foi administrado óleo de milho e azeite de oliva. Este estudo sugere que o azeite de oliva extra virgem pode exercer atividade cardioprotetora, embora de forma limitada, no estado pós-prandial. Estes dados adicionam mais evidências à hipótese de que as propriedades cardioprotetoras da dieta mediterrânea são, pelo menos em parte, devido ao consumo de azeites de oliva virgem (rico em antioxidantes), principalmente em relação ao conteúdo de componentes fenólicos (BOGANI *et al.*, 2007).

Foi observada uma repressão da transcrição do HER-2/neu, um gene de expressão em células cancerígenas de mama, ovário de estômago, através da ação da proteína PEA3 induzida pelo ácido oléico, podendo representar um novo mecanismo que correlaciona “dieta mediterrânea” e câncer (MENENDEZ *et al.*, 2006).

Doses dos óleos de canola e de oliva ( $5 \text{ mL kg}^{-1}$ ) não demonstraram citotóxicidade nem mutagenicidade, mas apresentaram efeito protetor contra aberrações cromossômicas cisplatina induzida ( $p > 0,05$ ) em células da medula óssea de ratos. Os azeites de oliva e oliva virgem foram mais efetivos na inibição do dano citogenético induzido por drogas antitumorais do que os óleos de canola e de milho ( $p > 0,05$ ) (EVANGELISTA, ANTUNES e BIANCHI, 2006).

Motilva *et al.* (2008), utilizando modelos experimentais em ratos alimentados com dietas padrão a adicionadas com azeite de oliva extra virgem, demonstraram redução de indicadores pró-inflamatórios gástricos, incluindo a mieloperoxidase (biomarcador de leucócitos) e produção de fator de necrose tumoral- $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ), induzida pela indometacina. Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) estimulam as moléculas de adesinas e a infiltração de leucócitos, os quais, quando ativados, liberam vários mediadores, tais como radicais livres ou citocinas pró-inflamatórias. FNT- $\alpha$  tem sido implicado na indução do processo adesivo observado após a administração do AINE e a supressão da sua produção facilita a cicatrização da úlcera. Portanto, o uso de azeite virgem, como recurso de lipídios da dieta, desempenha um papel benéfico nos mecanismos de defesa gástrica, favorecendo a eficiência da barreira mucosa, através da secreção de muco e os efeitos apoptóticos, reduzindo a resposta inflamatória.

Um estudo duplo-cego randomizado, realizado por Webb *et al.* (2008), resultou em maiores níveis de ácido oléico nos fosfolipídios plasmáticos ( $33,1 \% \pm 6,4$ ) em comparação com uma emulsão à base de soja ( $18,6 \% \pm 2,4$ ) em recém-

nascidos. Além disso, o aumento dos níveis de ácido linoléico no fosfolípídeo plasmático foi atenuado em recém-nascidos recebendo ácido oléico (12,6 % ± 3,0). Não foram observadas diferenças nos níveis plasmáticos de isoprostano-F2 de acordo com o tipo de emulsão lipídica recebido, embora o alto teor de  $\alpha$ -tocoferol contido na emulsão à base de ácido oléico pode o ferecer um efeito antioxidante e reduzir o risco de peroxidação lipídica. A emulsão a base de ácido oléico foi bem tolerada em recém-nascidos criticamente doentes, no entanto, a investigação dos potenciais benefícios a longo prazo de fornecer um equilíbrio mais adequado de ácidos graxos  $\omega$ -6: $\omega$ -3 no recém-nascido em rápido crescimento requer um estudo mais aprofundado.

#### 4 Considerações Finais

Além dos ácidos graxos, o azeite de oliva é fonte de diversos compostos bioativos, como compostos fenólicos, tocoferóis e carotenóides os quais desempenham ações antioxidantes, imunomoduladoras, antitumorais, antiinflamatórias, entre outras, constituindo-se em fatores importantes para estimular o consumo do produto. Estudos a longo prazo e mais intensos são necessários para que se possa estabelecer de forma mais clara os mecanismos de ação e a correlação dos compostos bioativos presentes no azeite de oliva e os benefícios observados com o seu frequente consumo.

A composição em ácidos graxos e o conteúdo dos compostos bioativos no azeite variam principalmente, segundo a cultivar, o grau de maturação da azeitona e em função do local de cultivo.

#### Referências

- AGUILERA, M.P.; BELTRÁN, G.; ORTEGA, D.; FERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ, A. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 387-391, 2005.
- ALLALOUT, A.; KRICHÈNE, D.; METHENNI, K.; TAAMALLI, A.; OUESLATI, 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.

ANGEROSA, F.; D'ALESSANDRO, N.; KONSTANTINOPOULOS P.; DI GIACINTO, L. GC - MS evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 1802 – 1807, 1995.

AYUSO, J.; HARO, M. R.; ESCOLAR, D. Simulation of the visible spectra for edible virgin oils: Potential uses. **Applied Spectroscopy**, v. 7, p. 474–480, 2004.

BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; DAOUD 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

BELTRÁN, G.; AGUILERA, M. P.; DEL RIO, C.; SANCHES, S.; MARTINES, L. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 89, p. 207 -215, 2005.

BOGANI, P.; GALLI, C.; VILLA, M.; VISIOLI, F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. **Atherosclerosis**, v. 6, p. 181- 190, 2007.

BOSELLI, E.; DI LECCE, G.; STRABBIOLI, R.; PIERALISI, G.; FREGA, N. G. Are virgin olive oils obtained below 27 °C better than those produced at higher temperatures? **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 748–757, 2009.

BRASIL (2012). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, 30 de janeiro de 2012. Regulamento técnico dos azeites de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23, 5-8. Seção 1.

BRUNETON, J. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Zaragoza: Acribia, 1991. p. 594.

BRUNI, U.; CORTESI, N.; FIORINO, P. Influence of agricultural techniques, cultivation and origin area on characteristics of virgin olive oil and on levels of some of its minor components. **Olivae**, v. 53, p. 28–34, 1994.

BUTLER, L. G. Protein-polyphenol interactions: nutritional aspects. In: INTERNATIONAL CONFERENCE GROUP POLYPHENOLS, 16, 1992, Lisboa. **Proceedings...** Lisboa: Group Polyphenols, 1992. p. 11–18.

CARDOSO, L. G. V.; BARCELOS, M. de F. P.; OLIVEIRA, A. F. de; PEREIRA, J. de A. R.; ABREU, W. C. de; PIMENTEL, F. de A.; CARDOSO, M. das G.; PEREIRA, M. C. de 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, n.1, p. 127-136, 2010.

CHOTIMARKORN, C. SILALAI, N. Addition of rice bran oil to soybean oil during frying increases the oxidative stability of the fried dough from rice flour during storage. **Food Research International**, v. 16, p. 1 - 10, 2008.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – FAO/WHO. **Codex Standard for olive oil, virgin and refined and for refined olive-pomace oil**. CODEX STAN 33-

1981(Rev. 1-1989). Roma: Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Roma, 2001. v. 8, p. 25-39.

COVAS M. I.; FITÓ M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M.; SEBASTIÁN DE LA TORRE, M. C.; MARRUGAT, J. Virgin olive oil phenolic compounds: binding to human LDL and effect on LDL oxidation. **International Journal of Clinical Pharmacology Research**, v. 20, p. 49-54, 2000.

COVAS, M. I.; RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; de la TORRE, R.; KAFATOS, A.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; OSADA J., et al. Minor components of olive oil: evidence to date of health benefits in humans. **Nutrition Reviews**, v. 64 (Suppl 4), p. s20– s30, 2006.

COVAS, M. I. Olive oil and the cardiovascular system. **Pharmacological Research**, v. 55, p. 175–186, 2007.

CRIADO, M. N.; ROMERO, M. P.; CASANOVAS, M.; MOTILVA, M. J. Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. **Food Chemistry**, v. 110, p. 873–880, 2008.

DE LA TORRE-CARBOT, K. ; CHÁVEZ-SERVÍN, J. L. ; JAÚREGUI, O. ; CASTELLOTE, A. I. ; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. ; NURMI, T. ; POULSEN, H. E. ; GADDI, A. V. ; KAIKKONEN, J. ; ZUNFT, H. F.; KIESEWETTER, H. ; FITÓ, M. ; COVAS, M. I. ; LÓPEZ-SABATER, M. C. Elevated circulating LDL phenol levels in men who consumed virgin rather than refined olive oil are associated with less oxidation of plasma LDL. **Journal of Nutrition**, v.140, p.501–508, 2010.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O.; Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains--characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173 - 289, 2000.

EBAID, G. M. X.; SEIVA, F. R. F; ROCHA, K. H. R.; SOUZA, G. A.; NOVELLI, E. L. B. Effects of olive oil and its minor phenolic constituents on obesity-induced cardiac metabolic changes. **Nutrition Journal**, v. 9, n. 46, 2010.

ENDO, Y.; USUKI, R.; KANEDA, T. Prooxidant activities of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 61, n. 4, p. 781-784, 1984

ENDO, Y.; USUKI, R.; KANEDA, T. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Champaign, v. 62, n. 9, p. 1387-1390, 1985.

ESCOLAR, D.; HARO, M. R.; AYUSO, J. The color space of foods: Virgin olive oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2085–2093, 2007.

EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY (EEC). Characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. EEC Regulation 1989/2003. **Official Journal of the European Commission**. 2003, 295, 57-66.

EUROPEAN UNION COMMISSION (2002). Regulation EEC 1019/2002 of 13 June 2002 on marketing standards for olive oil. **Official Journal of the European Commission**, L155, 0027–0031

EVANGELISTA, C. M. W.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. DE L. P. In vivo cytogenetic effects of multiple doses of dietary vegetable oils. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 4, p. 730-734, 2006.

FITÓ, M.; DE LA TORRE, R.; COVAS, M. I. Olive oil and oxidative stress. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, n.10, p. 1215 – 1224, 2007.

FOOTE, C. S.; CHANG, Y. C.; DENNY, R. W. Chemistry of singlet oxygen x carotenoid quenching parallels biological protection. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 92, p. 5216 – 5218, 1970.

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

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

GOMEZ-RICO, A.; SALVADOR, M. D.; MORIANA, A.; PEREZ, D.; OLMEDILLA, N.; RIBAS, F. Influence of different irrigation strategies in a traditional Cornicabra cv. Olive orchard on virgin olive oil composition and quality. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 568-578, 2007.

GORDON, M. H. Dietary antioxidants in disease prevention. **Natural Product Reports**, v.13, n.4, p.265-273, 1996.

HENNEKES, C.; GAZIANO, J. M. Antioxidants and heart diseases epidemiology and clinical evidence. **Clinical Cardiology**, v. 16, n. 4, p. 10-15, 1993.

HUANG, C. L., SUMPIO, B. E. Olive Oil, the Mediterranean Diet, and Cardiovascular Health. **Journal of the American College Surgeons**, v. 207, n. 3, p. 407 – 416, 2008.

IOOC. International Olive Council. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>>. Acesso em: março de 2013.

IOOC. International Olive Council. **Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils**. COI/T.15/NC No 3/Rev. 6. Madrid, 2011. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.gov>>. Acesso em: 06 de fevereiro de 2011.

KIM, J. S.; GODBER, J. S.; Oxidative stability and vitamin E levels increased in restructured beef roasts with added rice bran oil. **Journal of Food Quality**, v. 24, p. 17-26, 2001.

LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; GIMENO, E.; FITÓ, M.; CASTELLOTE, A-I.; COVAS, M. M.; DE LA TORRE-BORONAT, C.; LÓPEZ-SABATER, C. M. Interaction of Olive Oil Phenol Antioxidant Components with Low-density Lipoprotein. **Biological Research**, v. 37, p. 247-252, 2004.

LEVADOUX, W. L.; KALMOKOFF, M. L.; PICKARD, M. D.; GROOFWASSINK, J. W. D. Pigment removal from canola oil using chlorophyllase. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 64, n. 1, p. 139-144, 1987.

LUACES, P.; PEREZ, A. G.; GARCIA, J. M.; SANZ, C. Effects of heat-treatments of olive fruit on pigment composition of virgin olive oil. **Food Chemistry**, v. 90, p. 169–174, 2005.

MATOS, L. C.; CUNHA, S. C.; AMARAL, J. S.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, B. P. P. Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. **Food Chemistry**, v. 102, p. 406 – 414, 2007.

MENENDEZ, J. A.; PAPADIMITROPOULOU, A.; VELLON, L.; LUPU, R. A genomic explanation connecting “Mediterranean diet”, olive oil and cancer: Oleic acid, the main monounsaturated Fatty acid of olive oil, induces formation of inhibitory “PEA3 transcription factor-PEA3 DNA binding site” complexes at the Her-2/neu (erbB-2) oncogene promoter in breast, ovarian and stomach cancer cells. **European Journal of Câncer**, v. 42, p. 2425 – 2432, 2006.

MENDONÇA, C. R. B.; BICA, C. I. D.; PIATNICKI, C. M. S.; SIMÓ-ALFONSO, E. F.; RAMIS-RAMOS, G. Characterization of hydroxyaromatic compounds in vegetable oils by capillary electrophoresis with direct injection in an oil-miscible KOH/propanol/ methanol médium. **Electrophoresis**, v. 26, p. 3307 – 3314, 2005.

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

MORELLÓ, J. R.; ROMERO, M. P.; MOTILVA, M. J. Effect of the Maturation Process of the Olive Fruit on the Phenolic Fraction of Drupes and Oils from Arbequina, Farga, and Morrut Cultivars **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6002-6009, 2004.

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

MOTILVA, V.; SÁNCHEZ-FIDALGO, S., BARRANCO, M. D.; HERRERÍAS, J. M., ALARCÓN DE LA LASTRA, C. Mechanisms of increased gastric protection after NSAID-administration in rats consuming virgin olive oil diets. **Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, v. 3, p. 9 - 16, 2008.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Review: Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95–111, 2004

NAWAR, W. W. In: **Lipids**; Fennema, O. R., ed.; Marcel Dekker: New York, 1985. p. 139-244.

OCAKOGLU, D.; TOKATLI, F.; OZEN, B.; KOREL, F. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years, **Food Chemistry**, v. 113, p. 401 - 410, 2009.

PERONA, J. S.; CABELLO-MORUNO, R.; RUIZ-GUTIERREZ, V. The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, p. 429–445, 2006.

POKORMÝ, P. Natural antioxidants for food use. **Trends in Food & Technology**, v. 2, p. 223 -227, 1991.

PORTER, N. A.; CALDWELL, S. E.; MILLS, K. A. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. **Lipids**, v. 4, n. 30, p. 277-290, 1995.

PSOMIADOIU, E.; TSIMIDOU, M. Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 81, p. 640 – 647, 2001.

QUEST-RITSON, C. **Guia ilustrado Zahar: Azeite**. Tradução: Maria Slade Oliveira. Rio de Janeiro: Zahar, 2011. 288p.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química.Nova**, v. 29, n. 4, p, 755-760, 2006.

ROBBINS, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2866-2887, 2003.

RUIZ-CANELA, M. R.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A. Olive oil in the primary prevention of cardiovascular disease. **Maturitas**, v. 68, p. 245-250, 2011.

SAITTA, M.; SALVO, F.; BELLA, G. D.; DUGO, G.; LA TORRE, G. L. Minor compounds in the phenolic fraction of virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 112, p. 525–532, 2009.

SCHWARTZ, S. J.; LORENZO, T. V. Chlorophylls in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 29, p. 1 -17, 1990.

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

SHAHIDI, F., JANITHA, P.K., WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.

STANCHER, B.; ZONTA, F. BOGONI, P. Determination of olive oil carotenoids by HPLC. **Journal of Micronutrient Analysis**, v. 3, p. 97 – 106, 1987.

SUÁREZ, M.; MACIÀ, A.; ROMERO, M. P.; MOTILVA, M. J. Improved liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1214, p. 90–99, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TASIOULA-MARGARI, M.; OKOGERI, O. Isolation and characterization of virgin olive oil phenolic compounds by HPLC/UV and GC-MS. **Journal of Food Science: Food Chemistry and Toxicology**, v. 66, p. 530 – 534, 2001.

TAUTORUS, C.L.; LOW, N.H. Chemical aspects of chlorophyll breakdown products and their relevance to canola oil stability. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 70, n. 9, p. 843-847, 1993.

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

TURA, D.; GIGLIOTTI, C.; PEDO, S.; FAILLA, O.; BASSI, D.; SERRAIOCCO, A. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea L.*) and correlations with oxidative stability. **Scientia Horticulturae**, v. 12, p.108–119, 2007.

ZAMBIAZI, R. C. **The role of endogenous lipid componentes on vegetable oil stability**. Tese Doutorado. Winnipeg: University of Manitoba, 1997.

ZAMBIAZI, R. C.; ZAMBIAZI, M. Vegetable oil oxidation: effect endogenous components. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia Agroindustrial**, v. 34, n. 1, p. 22-32, 2000.

WEBB, A. N. ;HARDY, P.; PETERKIN, M.; LEE, O.; SHALLEY, H.; CROFT, K. D., MORI, T.A., HEINE, R.G., BINES, J.E. Tolerability and safety of olive oil– based lipid emulsion in critically ill neonates: A blinded randomized trial. **Nutrition**, v. 24, p. 1057–1064, 2008.

## **CAPÍTULO II. CARACTERIZAÇÃO DE AZEITES DE OLIVA PRODUZIDOS NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL/ BRASIL**

### **CHARACTERIZATION OF OLIVE OIL PRODUCED IN SOUTHERN RIO GRANDE DO SUL / BRAZIL**

GOULARTE-DUTRA, F.L.<sup>1,\*</sup>, ZAMBIAZI, R.C.<sup>2</sup>, Crizel-Cardoso, M.M.<sup>1</sup>, Bruscatto, M.<sup>1</sup>, Coutinho, E.F.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial / Universidade Federal de Pelotas, CEP 96010900, CP 354, RS/Brasil – [fgoularte@hotmail.com](mailto:fgoularte@hotmail.com)

<sup>2</sup> Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos / Universidade Federal de Pelotas, CEP 96010900, CP 354, RS/Brasil.

<sup>3</sup> Embrapa Clima Temperado, Pelotas, CEP 96010-971, CP 403, RS/Brasil.

#### **Resumo**

No estado do Rio Grande do Sul/Brasil as pesquisas em olivicultura reiniciaram no ano de 2005, porém ainda não se conhece as principais características dos azeites obtidos dessa região. Diversos fatores influenciam a qualidade do azeite de oliva, incluindo variedade e as condições de solo e clima de cultivos. Este estudo teve por objetivo avaliar a qualidade, incluindo o conteúdo de fitoquímicos, de cinco tipos de azeites de oliva monovarietais produzidos na região sul do Rio Grande do Sul, na safra 2010/11. As amostras de azeites oriundas das cultivares Grapollo e Manzanilla foram obtidas de uma unidade experimental situada na cidade de Dom Pedrito e os azeites das cultivares Arbequina, Arbequina Maria da Fé e Koroneiki, foram obtidos de oliveiras cultivadas na EMBRAPA/Pelotas. As amostras foram avaliadas quanto aos parâmetros de identidade e qualidade, conteúdo de compostos bioativos e perfil de ácidos graxos. Quanto aos parâmetros de qualidade, com exceção do azeite da cv. Arbequina, no qual a absorvância no ultravioleta ( $K_{232nm}=2,62$ ) esteve acima do limite para azeite de oliva extra-virgem, todas as demais amostras de azeite apresentaram índices compatíveis com azeite de oliva extra-virgem. O azeite da cv. Grapollo apresentou os maiores teores de tocoferóis, de compostos fenólicos e de carotenóides; enquanto que o azeite da Manzanilla apresentou o maior conteúdo de clorofilas. O ácido oléico foi o ácido graxo majoritário em todas as amostras de azeites, variando entre 63,6 e 77,6%. Todas as amostras de azeite de oliva foram caracterizadas como virgem, próprias para consumo humano segundo a legislação brasileira e o conselho oleícola internacional.

Palavras-Chave: Extra-virgem. Qualidade. Antioxidante. Ácidos graxos. Compostos fenólicos. Tocoferóis.

#### Abstract

Olive research began in 2005 in the state of Rio Grande do Sul/Brazil, but still is not known the characteristics of the oils produced in this region. Several factors influence the quality of olive oil, including variety and soil conditions and climate crops. This study aimed to evaluate the quality, including the content of phytochemicals, from five monovarietal olive oils produced in south of Rio Grande do Sul in 2010/11 season. Samples of oils from Grapollo and Manzanilla cultivars were obtained from an experimental unit in Don Pedrito city and Arbequina, Arbequina Maria da Fé and Koroneiki oils from olives grown at EMBRAPA / Pelotas. Samples were analyzed for identity and quality parameters, bioactive compounds and fatty acid profile. To quality parameters, with the exception of Arbequina olive oil, in which the absorbance in the ultraviolet (K232 nm) was 2.62, all other oil samples showed levels consistent with olive oil extra virgin. Grapollo olive oil showed the highest levels of tocopherols, phenolic compounds and carotenoids, whereas the Manzanilla olive oil showed the highest chlorophyll content. Oleic acid was the major fatty acid present in all oil samples, ranging from 63.6 to 77.6%. All samples of virgin olive oil were fit inside of the characteristics for human consumption according to Brazilian legislation and the International Olive Council.

Keywords: Extra virgin. Quality. Antioxidant. Fatty acids. Phenolic compounds. Tocopherols.

## 1. Introdução

A oliveira (*Olea europaea*) tradicionalmente é cultivada em países como Espanha, Itália e Grécia, países que além de serem grandes produtores, também são importantes consumidores de azeite de oliva virgem. Nos últimos anos, observou-se um aumento no consumo mundial de azeite de oliva virgem e virgem-extra, principalmente em função da alegação de conter alto conteúdo de compostos bioativos. Este comportamento também foi observado no Brasil, onde no período de 2005/06 a 2011/12 verificou-se um aumento no consumo do azeite de oliva

em 136%, atingindo a importação de 61,5 mil toneladas na última safra (IOOC, 2013).

O azeite de oliva tem despertado interesse da comunidade científica por apresentar alto percentual de ácido oléico, que é um ácido graxo monoinsaturado relacionado com a redução de risco de doenças cardiovasculares (Ruiz-Canela; Martínez-González, 2011). Além disso, o azeite de oliva contém tocoferóis e compostos fenólicos, os quais apresentam reconhecida atividade antioxidante, contribuindo tanto para as propriedades benéficas à saúde humana quanto para a estabilidade oxidativa do óleo (Baccouri et al., 2008). Adicionalmente a essas substâncias, o baixo conteúdo em acidez livre e índice de peróxidos também estão relacionados com a qualidade do azeite de oliva.

Além da cultivar, a qualidade final do azeite de oliva é influenciada, pelas práticas culturais, índice de maturação das olivas (IM), bem como pelos cuidados na colheita e no processo de extração do azeite (Beltrán et al., 2005; Baccouri et al., 2008; Allalout et al., 2009). Adicionalmente, Aguilera et al. (2005), Longobardi et al. (2012) e Giuffrida et al. (2011) observaram que a proporção dos principais ácidos graxos e o conteúdo de antioxidantes naturais diferem dependendo do local de crescimento.

O cultivo da oliveira foi intensificado e expandido da sua região de origem para outros continentes, como América do Sul, América do Norte e para alguns países da Ásia. O Brasil retomou suas pesquisas em olivicultura em 1986, no estado de Minas Gerais, e em 2005 no Rio Grande do Sul por meio da Embrapa Clima Temperado. Visando a definição de locais para implantação dos olivais, foi realizado um zoneamento agroclimático para o Rio Grande do Sul, o qual apontou que as melhores regiões para o plantio situam-se no Oeste e na Metade Sul do estado, onde a umidade relativa do ar é menor, principalmente na fase de florescimento das oliveiras, o que favorece a produção de frutos (Coutinho et al., 2009).

A área cultivada com oliveiras no RS compreende 526 ha (EMATER, 2013), apresentando em 2010 a primeira comercialização de azeite brasileiro em escala comercial, oriundo do município de Cachoeira do Sul (Olivas do Sul, 2011). Isto indica o grande potencial dessa cultura e uma excelente alternativa de produção e de renda para a agricultura gaúcha, assim como para a indústria e o comércio.

Considerando a inexistência de informações sobre as características dos azeites produzidos na região sul do Rio Grande do Sul, objetivou-se avaliar a

qualidade, incluindo o conteúdo de fitoquímicos, dos azeites de oliva monovarietais produzidos nos municípios de Pelotas e Dom Pedrito.

## 2. Metodologia

### 2.1 Padrões Cromatográficos

Os padrões  $\delta$  e  $\gamma$ -Tocoferol (pureza de 90% e  $\geq 96\%$ , respectivamente) foram adquiridos da Sigma Co. (St. Louis, EUA) e o  $\alpha$ -Tocoferol (99% de pureza) da Merk (Darmstadt, Alemanha). Uma mistura de ésteres metílicos dos ácidos graxos capróico, caprílico, cáprico, caproléico, láurico, dodecenóico, mirístico, miristoléico, palmítico, palmitoléico, margárico, heptadecenóico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico, araquídico, gadoléico, eicosadienóico, eicosatrienóico, eicosatetraenóico, behênico, erúcico, docosadienóico, docosatrienóico, tetraenóico, lignocérico e nervônico, foi adquirida da Sigma Co. (St. Louis, EUA).

### 2.2 Caracterização das amostras

Azeites monovarietais foram obtidos de oliveiras das cultivares Grapollo e Manzanilla (safra 2010/2011) cultivadas em Dom Pedrito, Rio Grande do Sul (Brasil), município localizado próximo a fronteira com o Uruguai (Latitude:  $-31^{\circ} 19' 53''$  S, Longitude:  $-54^{\circ} 06' 25''$  O; altitude média de 212 m; precipitação média na safra de 95,4 mm; temperatura média na safra de  $19,52^{\circ}\text{C}$ ; UR média de 77,0 %; solo classe Luvisolo Hipocrômico Órtico ). As oliveiras foram conduzidas em sistema de vaso policônico. Outros três azeites extra virgem foram obtidos de oliveiras 'Arbequina', 'Arbequina Maria da Fé' (AMF<sup>\*</sup>) e 'Koroneiki', todas pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Clima Temperado localizado em Pelotas, Rio Grande do Sul (Brasil) (Latitude  $31^{\circ} 40' 48.48''$  S, Longitude  $52^{\circ} 26' 42.71''$  O; altitude 57 m acima do nível do mar; precipitação média na safra de 104 mm; temperatura média na safra de  $18^{\circ}\text{C}$ ; UR média de 82,0%; solo classe Argissolo Vermelho-Amarelo). As oliveiras foram conduzidas em sistema de vaso policônico.

Na Tabela 1 observam-se os dados de cada cultivar na safra 2010/11, relativo a idade das plantas, data de colheita e índice de maturação (IM)

Tabela 1. Caracterização da amostra por cultivar, safra 2010/11

	Grapollo	Manzanilla	Arbequina	AMF**	Koroneiki
Idade plantas (anos)	7	7	5	5	5
Data de colheita	15/03	15/03	02/03	08/03	28/04
IM*	3,0	3,3	2,9	2,8	3,0

\* IM = índice de maturação; \*\*AMF = Arbequina Maria da Fé

Para determinação do IM, foram colhidos frutos em quatro quadrantes da planta (L, W, N, S), de partes superiores, médias e inferiores da copa, e selecionados aleatoriamente 100 frutos isentos de sintomas de doenças ou lesões, classificados conforme a coloração da epiderme e calculado segundo Beltran et al. (2004).

### 2.3 Extração do azeite

Os frutos (40 kg de cada cultivar) foram colhidos manualmente e transportados até o município de Cachoeira do Sul, onde foram submetidos ao processamento ainda no mesmo dia da colheita. Para a obtenção dos azeites, as folhas e os frutos que apresentavam sintomas de doenças ou lesões foram separados, as azeitonas lavadas em água corrente e a extração realizada em moinho "Spremoliva 10", baseada num princípio de extração a frio por duas fases. Após a extração, cerca de 500 mL de azeite, por cultivar, foram filtrados e o azeite foi filtrado para eliminar as sedimentações (impurezas) e armazenados a -80°C.

### 2.4 Determinações

#### Relação polpa caroço

Relação do peso da polpa (g) de 100 frutos com o peso (g) do caroço, medidos em balança analítica.

#### Rendimento de extração (%)

O rendimento em azeite para cada cultivar foi avaliado pelo conteúdo (kg) de matéria graxa extraída por processo mecânico, em relação ao peso dos frutos.

#### Índice de Refração

Determinado utilizando um refratômetro de ABBE, com banho a 20°C, ajustando previamente com água destilada (BRASIL, 2005).

Absorção específica a 232 e 270 nm

Realizada pela leitura em espectrofotômetro, de acordo com o método COI/T20/Doc. n°. 19/Rev. 3 (IOOC, 2010).

Acidez livre (Ca a-40)

Determinada pela titulação com álcali, segundo metodologia da AOCS (1992), sendo os resultados da acidez livre expressos em percentual de ácido oléico (g ácido oléico 100g<sup>-1</sup>).

Índice de Peróxidos (Cd 8-53)

Determinado pela reação com iodeto de potássio e titulação com tiosulfato de sódio, segundo metodologia da AOCS (1992), expressando em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de óleo (meq.O<sub>2</sub>kg<sup>-1</sup>).

Perfil de ácidos graxos

A composição em ácidos graxos dos azeites foi determinada por cromatografia em fase gasosa, na forma de ésteres de ácidos graxos, previamente preparados através da técnica de derivatização descrita por Zambiasi et al. (2007). As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso-CG (Perkin Elmer Clarus500), provido com detector FID, coluna capilar (Phenomenex) fase líquida constituída de 5% de fenil, 95% de dimetilpolisiloxano, de dimensões 15 m x 0,32 mm x 0,1 µm, injetor automático com capacidade de 5 µL. Os dados foram adquiridos e processados com auxílio do software Clarus 500. Utilizou-se gradiente de temperatura, com temperatura inicial da coluna de 90 °C, mantida por 1 min; após, passou para 160 °C com incremento linear de 12°C min<sup>-1</sup>, mantida por 3,5 min; seguindo a 190 °C com incremento linear de 1,2 °C min<sup>-1</sup>; e finalmente a 230 °C com incremento linear de 15°C min<sup>-1</sup>, mantida por 15 min. O injetor e o detector foram mantidos na temperatura de 230 °C e 240 °C, respectivamente. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste a 1,5 mL m<sup>-1</sup>. Os ácidos graxos foram identificados por meio da comparação com os tempos de retenção dos padrões e o teor de cada ácido graxo nas amostras de azeite foi calculado de acordo com a área de cada um dos picos

obtidos nos cromatogramas, multiplicadas por 100 e dividido pela área total de ácidos graxos da amostra, sendo os resultados expressos em porcentagem relativa.

#### Compostos fenólicos

A extração da fração fenólica foi realizada conforme metodologia descrita por Baccouri et al (2008), com poucas modificações. Consistiu em adicionar 4 mL de solução alcoólica (metanol:água, 60:40, v/v) em 4 g de amostra dissolvida em 2 mL de hexano. Posteriormente as amostras foram centrifugadas por 3 minutos à 1490g. A fase hidroalcoólica foi transferida para um funil de separação, e a fase oleosa (hexânica) foi re-extraída mais duas vezes com 4mL da solução alcoólica em cada etapa. Finalmente, a fração hidroalcoólica total obtida foi lavada com 4 mL de n-hexano para remover o óleo residual e concentrada a vácuo em rotaevaporador (Laborota 4000, Heidolph®) a 40°C. Ressuspendeu-se o extrato em 5 mL de metanol. A reação colorimétrica para a determinação do teor total de compostos fenólicos foi por meio da adição do reagente Folin-Ciocalteu em 1 mL do extrato. A leitura da absorbância da amostra foi realizada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000) a 765 nm. Para a quantificação, procedeu-se a elaboração da curva padrão de ácido gálico sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico kg<sup>-1</sup> azeite (Vázquez Roncero; Janer del Valle; Janer del Valle, 1973).

#### Tocoferóis

Pesou-se 150 mg de azeite de oliva em balão volumétrico de 5 mL e completou-se o volume com isopropanol. O extrato foi transferido para tubos “ependorf”, centrifugou-se nas condições de 9.000 g por 6 minutos, utilizando-se o sobrenadante para a avaliação dos tocoferóis por cromatografia líquida, realizada segundo descrito por Pestana et al. (2008). Foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE (SHIMADZU), constituído por um módulo de mistura dos solventes LC-10ATVP, desgaseificador FCV-10ALVP, bomba reodine DGU-14A, sistema de controle SCL-10AVP, forno da coluna CTO-10-ASVP e amostrador automático SIL-10AF. A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa, Synergi Fusion RP-80A (Phenomenex®) (4,6cm x 150mm x 4µm), tendo-se injetado 10 µL de amostra. Utilizou-se o detector de fluorescência com excitação de 290nm e emissão a 330nm. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software Class-VP. Foi utilizado como fase móvel inicial acetonitrila:metanol:isopropanol nas proporções

50:40:10 (v/v/v) por 10 minutos; alterando-se linearmente para acetonitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v) até atingir 12 minutos; e retornando linearmente para a fase móvel inicial até 15 minutos de análise. Utilizou-se fluxo constante de 1 mL min<sup>-1</sup>. Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curva de calibração com os padrões de δ, γ e α-tocoferóis. Os resultados foram expressos em mg kg<sup>-1</sup> de amostra.

### Carotenóides

Para a determinação de carotenóides foram utilizadas 2,5 g de azeite de oliva, que foram dissolvidas com solução de isooctano:etanol (3:1, v/v) em balão volumétrico de 10mL. A absorção da amostra foi determinada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000) a 450nm, segundo descrito por Zambiasi (1997). O conteúdo total de carotenóides foi determinado pela equação 1 (Rodriguez-Amaya, Kimura,2004).

$$C = ABSxVx10^4 / A_{1cm}^{1\%}xP \text{ (eq. 1)}$$

sendo, C= concentração de carotenóides totais, expressos em mg de β-carotenokg<sup>-1</sup> amostra; ABS= absorbância; V = volume do extrato (mL);  $A_{1cm}^{1\%} = 2500$  (coeficiente de absorção do solvente) e P = peso da amostra (g).

### Clorofilas

Para a análise de clorofilas utilizou-se a metodologia da AOCS – Tentative Method Cc 13d-55 (1992), empregando solução de iso-octano:etanol (3:1). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000) a 630, 670 e 710 nm. O teor total de clorofilas foi expresso em mg clorofila kg<sup>-1</sup> amostra.

### 2.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O programa utilizado para análise estatística foi o Statistix versão 8.0 (2003). Todas as análises foram feitas em triplicata.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Rendimento e relação polpa/caroço

Os teores de azeite variaram entre 10 e 15% em base fresca, e a relação polpa/caroço de 3,5 a 6,22 (Figura 1). Observou-se que os frutos das cultivares Koroneiki, Arbequina, Arbequina Maria da Fé e Grapollo tiveram maior rendimento em azeite e menor relação polpa/caroço, enquanto a cvs. Manzanilla o menor rendimento em azeite (10,0%) e maior relação polpa/caroço (6,2). Desta forma, percebe-se que nem sempre um fruto com maior relação polpa/caroço renderá maior percentual em azeite.

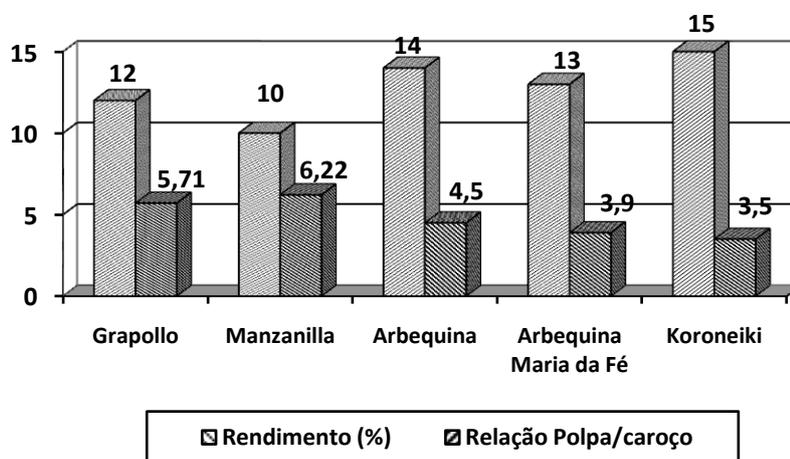


Figura 1. Relação polpa/caroço e rendimento (%) em azeite das diferentes cultivares obtidas em Dom Pedrito e Pelotas.

O conteúdo de azeite está diretamente relacionado à cultivar. Segundo Barranco (2004), o rendimento em azeite das principais cultivares de oliveira exportadas pela Espanha oscila entre 14 e 22%. As cultivares Arbequina, e Koroneiki apresentaram percentuais de rendimento dentro do intervalo supracitado. Em função disso, o rendimento de azeite constitui-se em um critério para ser considerado durante a seleção varietal (cultivar) a fim de se obter maior rendimento em azeite.

É importante ressaltar que o rendimento em azeite, além de variar em função da cultivar, é também altamente influenciado pelo clima da região de plantio (CARDOSO et al., 2010).

### 3.2 Determinações físico-químicas

Os dados da acidez livre, índice de refração, índice de peróxidos e absorvância nos comprimentos de onda a 232 e 270nm, das amostras de azeites de oliva das cultivares Koroneiki, Arbequina, Arbequina Maria da Fé, Grapollo e Manzanilla estão apresentados na Tabela 2.

Não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as amostras de azeite de oliva para o índice de refração. Utilizado como parâmetro de identidade do produto, o índice de refração dos óleos e gorduras pode apresentar pequena variação, visto que não são substâncias puras. Os resultados obtidos estão dentro dos limites tolerados para azeite de oliva, que segundo a Legislação Brasileira vigente (Brasil, 2012), pode apresentar valores entre 1,4677 a 1,4705.

Tabela 2. Características analíticas de azeites de oliva monovarietais produzidos em Pelotas e Dom Pedrito/ RS/ Brasil (safra 2010/11)

Cultivares	Variáveis**				
	IR (20°C)	AC	IP	K232nm	K270nm
Koroneiki	1,4693± 0,0a	0,62±0,02a	10,72± 0,79b	1,47± 0,05c	0,14± 0,005c
Arbequina	1,4693± 0,0a	0,34±0,001c	14,97± 0,95a	2,62±0,03 a	0,08± 0,003d
AMF <sup>†</sup>	1,4703± 0,0a	0,26±0,004 c	11,84± 0,26b	2,15± 0,01b	0,15±0,006 b
Grapollo	1,4693± 0,0a	0,60±0,04a	8,86± 0,04c	1,43± 0,06cd	0,18± 0,006a
Manzanilla	1,4693± 0,0a	0,46±0,04b	8,75± 0,54c	1,33± 0,02d	0,06±0,003 e

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*AMF - Arbequina Maria da Fé. \*\*IR – índice de refração; IP – índice de peróxidos ( $\text{meq.O}_2 \text{ Kg}^{-1}$ ); AC – acidez livre (% ácido oléico); K - coeficiente de extinção.

As amostras analisadas diferiram significativamente em relação a acidez livre, variando de 0,26 (Arbequina Maria da Fé) a 0,62 % de ácido oléico (Koroneiki). A variabilidade observada pode ter ocorrido em função do transporte dos frutos até a local de extração, por ataques de pragas e insetos (Alvarado, Civantos, Duran, 2004) ou alguma enfermidade, os quais podem influenciar no aumento de processos hidrolíticos no fruto (Trapero, Blanco, 2004). Contudo, todos os azeites apresentaram acidez inferior a 0,8%, o que é exigido pela legislação para a categoria extra-virgem (Brasil, 2012; EEC, 2003; IOOC, 2011). Os valores observados são similares aos reportados por Oliveira *et al.* (2010), que avaliaram sete diferentes azeites de oliva extraídos em Minas Gerais (Brasil), e encontraram acidez em ácido oléico variando entre 0,37 e 0,82%. Entretanto, são diferentes aos observados por Baccouri *et al.*

(2008), os quais encontraram teores inferiores, variando de 0,23 a 0,42%. No entanto, deve-se considerar que esses autores utilizaram distintas cultivares, índices de maturação e métodos de extração de azeite, o que pode justificar a variação dos dados.

A acidez é um dos fatores que influencia na qualidade do azeite de oliva. Seu teor está intimamente relacionado com a qualidade do fruto, como infecção por patógenos, exposição a pragas e o índice de maturação, além da manipulação da azeitona durante a colheita, o transporte, sistema de extração e armazenamento do azeite (Alba, 2004; Kiritsakis et al., 1998; Baccouri et al., 2008; Cardoso et al., 2010).

Os azeites das cvs. produzidas no município de Pelotas apresentaram os maiores índices de peróxidos, destacando-se o oriundo da cv. Arbequina, que apresentou o maior índice de peróxidos entre todas as amostras ( $14,97 \pm 0,95$  meq.O<sub>2</sub>kg<sup>-1</sup>). O índice de peróxidos se expressa como um marcador da deterioração oxidativa do azeite produzido, gerando compostos que alteram o sabor do azeite (Angerosa, Lanza, Marsilio, 1996).

Os valores de índice de peróxido para todas as amostras de azeite de oliva encontram-se abaixo do valor máximo preconizado pela legislação brasileira (Brasil, 2012) e regulamentação internacional para azeite de oliva extra-virgem, que é de 20 meq. O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> (EEC, 2003; IOOC, 2011). Os valores encontrados nesse trabalho estão dentro da faixa de variação para índice de peróxidos relatados por Pouliarekou et al. (2011), que encontraram em 51 amostras de azeites de oliva oriundos de diferentes regiões da Grécia, conteúdos de  $4,43 \pm 0,20$  a  $13,17 \pm 0,44$  meq. O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>.

Os azeites das cultivares que apresentaram os maiores índices de peróxido, Arbequina e da Arbequina Maria da Fé, também apresentaram os maiores coeficientes de extinção no comprimento de onda de 232 nm,  $2,62 \pm 0,03$  e  $2,15 \pm 0,01$ , respectivamente; sendo que o resultado para o azeite da Arbequina foi superior a 2,5, limite máximo aceitável para azeite de oliva extra-virgem (Brasil, 2012; EEC, 2003). Essa avaliação está relacionada não só com a presença dos hidroperóxidos (produtos do estágio inicial da peroxidação), mas também com a de dienos conjugados (produtos intermediários da oxidação), os quais não são detectados na determinação do índice de peróxidos (Anastasopoulos et al., 2012).

A absorção em 270 nm, que reflete a formação de compostos carbonílicos (produtos do estágio final da oxidação) e trienos conjugados (oriundos da manipulação tecnológica inadequada), variou de  $0,06 \pm 0,03$  a  $0,18 \pm 0,06$  nas

amostras de azeite de oliva, valores dentro dos limites estabelecidos pela legislação para azeite de oliva extra-virgem que é de no máximo 0,22 (Brasil, 2012; EEC, 2003).

Os parâmetros de qualidade estão diretamente relacionados com as características do fruto. Allalout (2009) afirma que a cultivar não tem influência nos parâmetros analíticos de qualidade, os quais são afetados por fatores exógenos que causam danos aos frutos, como ataque por insetos e manejo inadequado dos mesmos.

### 3.3 Compostos Bioativos

Os teores de clorofilas e carotenóides nas amostras de azeite de oliva variaram, respectivamente, de 0,32 a 2,72 mg kg<sup>-1</sup> e de 3,19 a 7,15 mg kg<sup>-1</sup> (Tabela 3), indicando que as amostras de azeite de oliva diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) em relação aos teores desses compostos.

Tabela 3. Conteúdo (mg kg<sup>-1</sup>) de compostos bioativos nos azeites de oliva monovarietais produzidos em Pelotas e Dom Pedrito/ RS/ Brasil (safra 2010/11)

Var.**	CULTIVARES				
	Koroneiki	Arbequina	AMF*	Grapollo	Manzanilla
FT	100,67±2,08bc	125,97±26,16ab	100,35±1,65bc	156,07±6,86a	72,27±0,15c
CT	5,73±0,10c	3,20±0,10d	3,19±0,16d	7,15±0,09a	6,42±0,18b
CLT	1,06±0,03c	0,32±0,004e	0,44±0,02d	2,36±0,01b	2,72±0,02a
TT	309,11±1,64d	360,21±1,15c	376,41±2,54b	424,24±1,15a	312,37±12,31d
α-TOC	302,40±1,51c	356,70±1,0b	368,80±2,9b	413,40±0,80a	305,07±12,15c
γ+β-TOC	6,71±0,17c	3,51±0,15d	7,61±0,37b	10,84±0,35a	7,30±0,16bc
δ-TOC	0,18 ± 0,01b	0,25 ± 0,009a	0,24±0,002a	nd	nd

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* AMF - Arbequina Maria da Fé. \*\*Variáveis: FT - fenóis totais (expresso em ácido gálico); CT - carotenóides totais (expresso em β-caroteno); CLT - clorofilas totais; TT - tocoferóis totais; α-TOC - alfa tocoferol; γ+ β-TOC - gama + beta tocoferol. nd = não detectado.

Os azeites das cultivares Manzanilla e Grapollo, provenientes do município de Dom Pedrito, apresentaram os maiores teores de clorofilas e de carotenóides (2,72 e 7,15 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente), enquanto que as amostras das cultivares Arbequina e Arbequina Maria da Fé, provenientes do município de Pelotas, apresentaram os menores conteúdos (0,32 e 3,19 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente). Conforme Allalout et al. (2009) e Tura et al. (2007), o conteúdo desses pigmentos é determinado,

principalmente, pela cultivar, além de outros fatores como condições climáticas e de solo, fatores que também podem ter influenciado nos dados do presente estudo.

No presente trabalho foram encontrados teores inferiores de clorofilas, enquanto que o conteúdo de carotenóides apresentou-se dentro da faixa reportada por Tura et al. (2007), que analisaram amostras de azeite de oliva, obtidos de diferentes cultivares de oliveira da Itália e obtiveram teores de 1,40 a 27,40 mg kg<sup>-1</sup> para carotenóides e de 0,60 a 50 mg kg<sup>-1</sup>, para clorofilas.

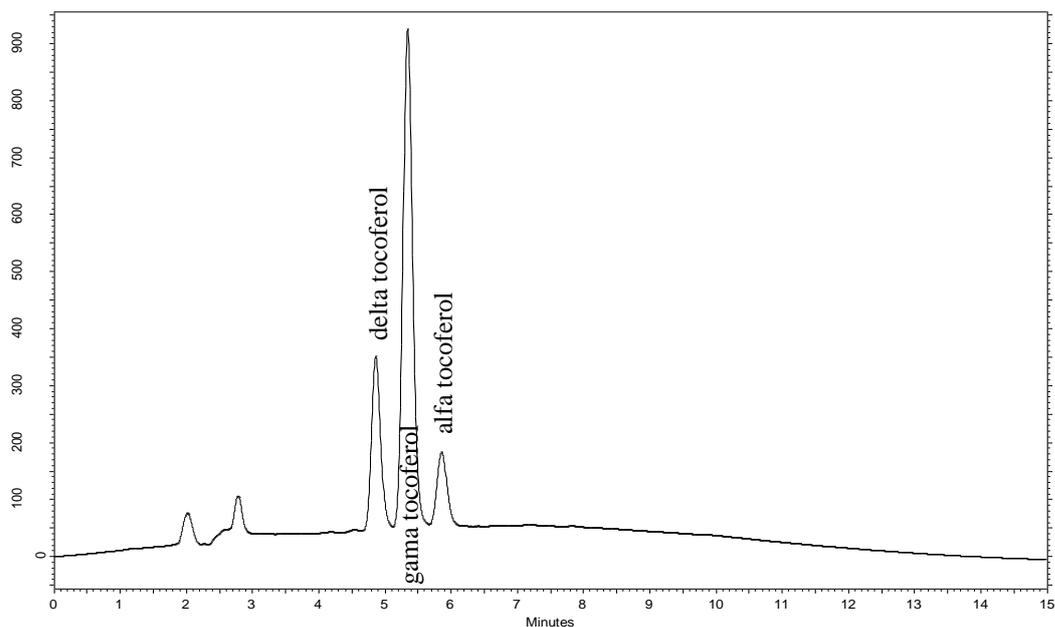
No entanto, azeites de oliva das cvs. Arbequina e Koroneiki produzidos na Tunísia apresentaram conteúdos de pigmentos diferenciados aos do presente trabalho. Os respectivos teores de clorofilas foram superiores,  $4,5 \pm 0,88$  e  $3,45 \pm 0,13$  mg Kg<sup>-1</sup> enquanto que os de carotenóides foram inferiores,  $1,99 \pm 0,05$  e  $1,79 \pm 0,01$  mg kg<sup>-1</sup> (Allalout et al., 2009).

Segundo alguns autores (Psomiadou, Tsimidou, 2001; Criado et al., 2008, Issaoui et al., 2009), a presença dos pigmentos no azeite depende de diversos fatores, tais como cultivar de oliveira, condições de solo e clima, grau de maturação do fruto e processo de extração do azeite, o que podem ter contribuído para a variação dos valores observados nesse trabalho.

Na Figura 2 é mostrado um cromatograma típico de separação de tocoferóis em azeite de oliva. Os picos do delta ( $\delta$ -), gama ( $\gamma$ -) e alfa ( $\alpha$ -) tocoferóis foram identificados utilizando padrões nas mesmas condições cromatográficas. Nas condições deste estudo, o  $\gamma$ - tocoferol elui conjuntamente com o  $\beta$ - tocoferol. Estes dados são concordantes com a literatura (Chen et al., 2011; Pestana et al., 2008), onde é relatado que a coluna de fase reversa (RP-HPLC) não permite a separação desses isômeros.

Não foi detectado o  $\delta$ -tocoferol nos azeites oriundos de Dom Pedrito (cvs. Grapollo e Manzanilla). Nos azeites oriundos de Pelotas não houve diferença ( $p < 0,05$ ) nos teores deste tocoferol entre os azeites das cvs. Arbequina (0,25 mg kg<sup>-1</sup>) e Arbequina Maria da Fé (0,24 mg kg<sup>-1</sup>), os quais foram superiores ao encontrado no azeite da cv. Koroneiki (0,18 mg kg<sup>-1</sup>). Guinazi (2004) encontrou  $3,69 \pm 0,19$  mg kg<sup>-1</sup> de  $\delta$ -tocoferol em azeite de oliva comercial, quantidade superior a determinada no presente estudo. No entanto, em azeites de oliva extra-virgem o  $\delta$ -tocoferol normalmente não é detectado (Parcerisa et al., 2000; Chen et al., 2011).

A)



B)

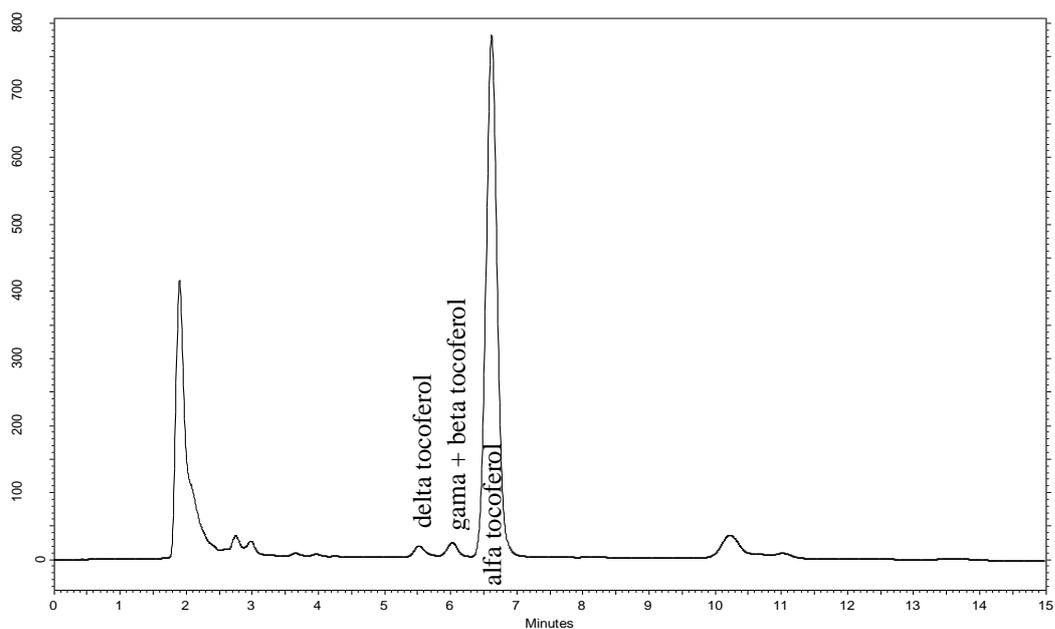


Figura 2. Cromatograma A) Padrões: delta-tocopherol, gama-tocopherol e alfa-tocopherol; B) Separação de tocoferóis em azeite de oliva ('Arbequina') por HPLC. Condições da análise cromatográfica: coluna Synergi Fusion RP-80A(4,6cm x 150mm x 4 $\mu$ m) da Phenomenex®, utilizando como fase móvel inicial acetonitrila:metanol:isopropanol (50:40:10, v/v/v) e vazão constante de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e detector de fluorescência a 290nm de excitação e de 330nm de emissão.

O teor de ( $\gamma$ + $\beta$ )-tocopherol variou de 3,51 mg kg<sup>-1</sup> (cv. Arbequina, Pelotas) a 10,84 mg kg<sup>-1</sup> (cv. Grapollo, Dom Pedrito) nos azeites de oliva. Esses resultados são

inferiores aos relatados por Chen et al. (2011) que encontraram entre 6 e 21 mg kg<sup>-1</sup> em diferentes amostras de azeite de oliva extra-virgem.

O  $\alpha$ -tocoferol foi o composto majoritário, representando em média 97,98% dos tocoferóis e sua quantidade diferiu significativamente entre as cultivares ( $p < 0,05$ ), sendo superior no azeite da cv. Grapollo (413,40  $\pm$  0,80 mg kg<sup>-1</sup>). Teores intermediários foram encontrados nos azeites das cvs. Arbequina Maria da Fé (356,70  $\pm$  1,0 mg kg<sup>-1</sup>) e Arbequina (368,80  $\pm$  2,90 mg kg<sup>-1</sup>), com os azeites das cvs. Manzanilla e Koroneiki apresentando os menores conteúdos, 305,07  $\pm$  12,15 e 302,40  $\pm$  1,51 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Esses resultados estão de acordo com os valores relatados por Manai-Djebali et al. (2012), que obtiveram variações de 139 a 402 mg kg<sup>-1</sup> em cinco variedades de azeite de oliva oriundos da Tunísia, sugerindo que o conteúdo de tocoferol é dependente da cultivar. Segundo Beltran et al. (2010), as variações no conteúdo dos tocoferóis ocorrem principalmente em função da resposta de cada cultivar à alterações nas condições ambientais em cada safra. Além disso, segundo Matos et al. (2007), de um modo geral, o conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol reduz enquanto que o conteúdo de  $\gamma$ -tocoferol aumenta ao longo do processo de maturação do fruto.

As amostras de azeite de oliva apresentaram altos teores de tocoferóis, sendo, em média, três vezes superior ao conteúdo total de compostos fenólicos. Beltrán et al. (2010), relacionou o teor elevado de  $\alpha$ -tocoferol com a elevada atividade biológica da vitamina E (281 mg/kg  $\alpha$ -TE<sup>-1</sup>), sendo que o azeite de oliva extra virgem apresentou atividade de vitamina E superior ao descrito para outros óleos vegetais. Estudos com o  $\alpha$ -tocoferol relatam que este composto possui ação vitamínica e protege o organismo humano contra ataque de radicais livres, aumentando a resistência celular ao “stress” oxidativo (Baldioli et al., 1996).

Comportamento similar ao conteúdo total de tocoferóis foi observado em relação ao decompostos fenólicos, o que já era esperado, visto que ambos fitoquímicos são dependentes da cultivar (Allalout et al., 2009). Maior teor de compostos fenólicos (156,07  $\pm$  6,86 mg kg<sup>-1</sup>) foi observado no azeite de oliva da cv. Grapollo, cultivada em Dom Pedrito. Os azeites das cvs. Arbequina, Koroneiki e Arbequina Maria da Fé (cultivadas em Pelotas) apresentaram conteúdos intermediários de compostos fenólicos, variando de 125,97 a 100,35 mg kg<sup>-1</sup>, enquanto que o azeite da cv. Manzanilla (Dom Pedrito) apresentou o menor conteúdo, 72,27  $\pm$  0,15 mg kg<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos com relação ao conteúdo total de compostos fenólicos estão em concordância com a faixa de variação reportada por Tura et al. (2007); entretanto, teores superiores foram encontrados por Ocakoglu et al. (2009) e Longobardi et al. (2012). As variações são explicadas por diferentes autores devido a fatores tais como variedade, local de cultivo, safra, grau de maturação do fruto, modo e temperatura de extração do azeite, além de variações da metodologia de análise utilizada (Aguilera et al., 2005; Boselli et al., 2009; Ocakoglu et al., 2009, Manai-Djebali et al., 2012).

Os resultados obtidos são corroborados por Allalout et al. (2009) e Tura et al. (2007), que também observaram a variação dos teores de compostos fenólicos em função da cultivar. Esses antioxidantes auxiliam na estabilidade oxidativa do azeite de oliva, contribuindo para o aumento da vida de prateleira.

#### 3.4 Composição em ácidos graxos

Os principais ácidos graxos identificados nas amostras de azeite de oliva (Figura 3) foram o ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoléico (C16:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oléico (C18:1), ácido linoléico (C18:2) e o ácido linolênico (C18:3).

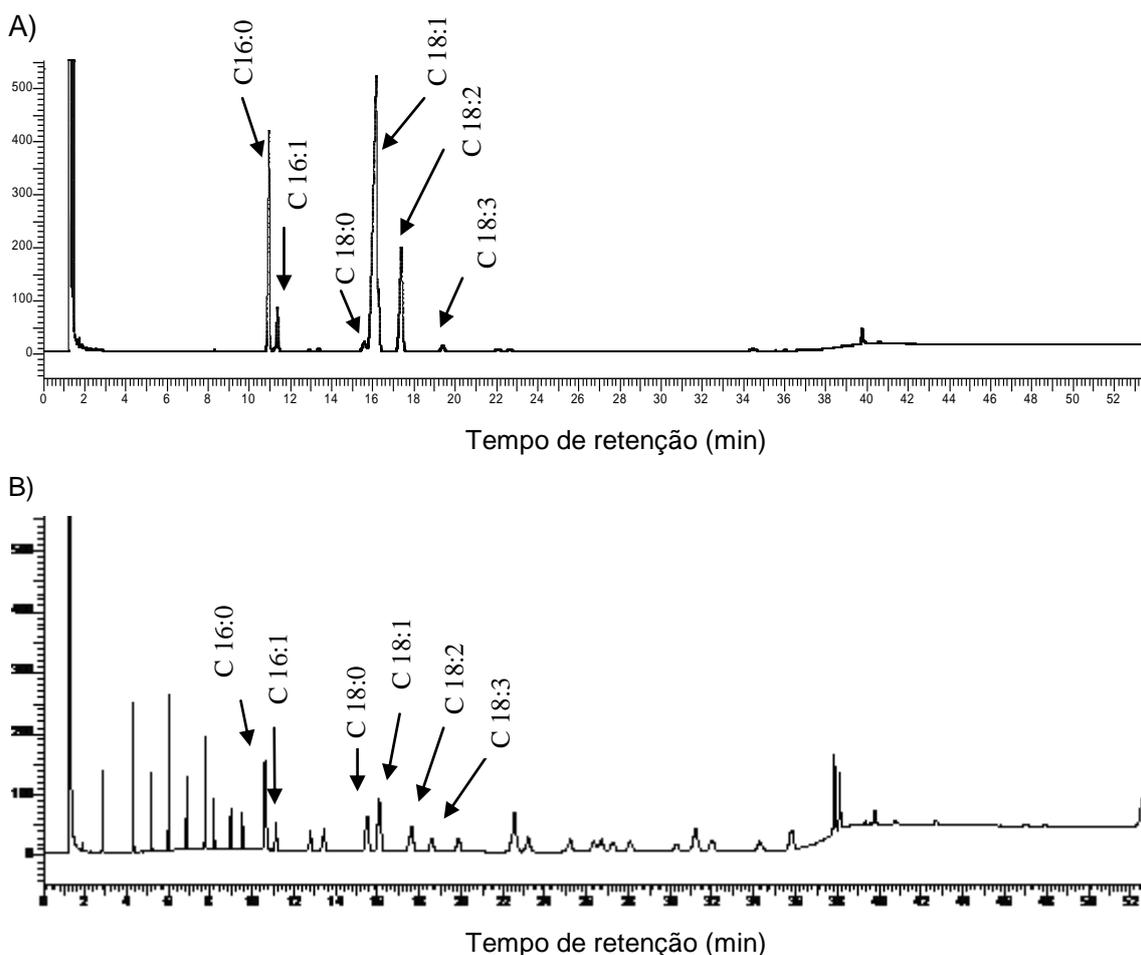


Figura 3. Cromatograma: A) Separação dos ácidos graxos em azeite de oliva da cultivar ('Arbequina') do sul do Rio Grande do sul/Brasil, por GC. Condições cromatográficas: detector FID, coluna capilar (15 m x 0,32 mm x 0,1  $\mu$ m) da Phenomenex<sup>®</sup>, injetor e detector mantidos a 230 °C e 240 °C, respectivamente, gradiente de temperatura na coluna (de 90 a 230 °C) e nitrogênio como gás de arraste a 1,5 mL  $m^{-1}$ . B) Padrões: ésteres metílicos dos ácidos graxos palmítico (C16:0), palmitoléico (C16:1), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2), linolênico (C18:3).

As amostras analisadas diferiram significativamente em relação ao conteúdo dos ácidos graxos (Tabela 4). Entretanto, todos os percentuais relativos encontram-se dentro dos limites preconizados para azeite de oliva, tanto pela legislação brasileira atual (Brasil, 2012) quanto pela regulamentação internacional (EEC, 2003; IOOC 2011), as quais estabelecem valores para os ácidos graxos palmítico de 7,5 % a 20,0%, palmitoléico de 0,3 a 3,5%, esteárico de 0,5 % a 5,0%, oléico de 55,0 % a 83,0%, linoléico de 3,5 % a 21,0% e linolênico  $\leq$  1,0%.

O ácido oléico foi o ácido graxo majoritário em todas as amostras, com teores médios variando entre 63,6 % (cv. Manzanilla) a 77,6 % (cv. Grapollo), seguido do ácido palmítico, o qual oscilou de 11,8% (cv. Manzanilla) a 18,5% (cv. Arbequina) e do ácido linoléico com percentuais de 6,4% (cv. Manzanilla) a 11,4% (cv. Arbequina). Os ácidos graxos esteárico, palmitoléico e linolênico apresentaram-se como componentes minoritários. Beltrán et al.(2005), determinaram a composição em ácidos graxos em azeite de oliva, cultivar Hojiblanca, nas safras consecutivas de 1996/97, 1997/98 e 1998/99 e também encontraram como componentes majoritários o ácido oléico, seguido do palmítico e do linoléico.

Tabela 4. Composição em ácidos graxos nos azeites de oliva monovarietais produzidos em Pelotas e Dom Pedrito/ RS/ Brasil (safra 2010/11)

AG**	Cultivares					BRASIL (2012)
	Koroneiki	Arbequina	AMF*	Grapollo	Manzanilla	
-----área % relativa-----						
C16:0	13,4±0,22 b	11,8±1,03 c	12,2±0,22 bc	12,3±0,34 bc	18,5±0,13 a	7,5-20,0
C16:1	1,0±0,01 c	1,1±0,03 b	0,8±0,03 d	0,9±0,04 cd	3,3±0,05 a	0,3-3,5
C18:0	1,6±0,06 cd	2,0±0,05 b	2,5±0,11 a	1,5±0,18 d	1,8±0,08 bc	0,5-5,0
C18:1	76,6±0,08 ab	77,2±0,77 ab	76,0±0,55 b	77,6±0,40 a	63,6±0,35 c	55,0-83,0
C18:2	6,9±0,32 b	6,4±0,16 b	6,5±0,44 b	6,5±0,31 b	11,4±0,09 a	3,5-21,0
C18:3	0,80±0,04 c	0,84±0,03 bc	1,0±0,03 a	0,9±0,04 b	0,9±0,01 bc	≤ 1,0
<b>TOTAL</b>	100,2	99,3	99,1	99,7	99,5	
<b>Σ AGS</b>	15,0	13,8	14,7	13,8	20,3	
<b>Σ AGM</b>	77,6	78,3	76,9	78,5	66,9	
<b>Σ AGP</b>	7,7	7,24	7,5	7,4	12,4	
<b>AGM/AGP</b>	10,1	10,8	10,3	10,6	5,4	

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* AMF: Arbequina Maria da Fé. \*\* AG: ácidos graxos, C16:0: palmítico, C16:1: palmitoleico, C18:0: esteárico, C18:1: oléico, C18:2: linoléico, C18:3: linolênico. Σ AGS: somatório dos ácidos graxos saturados; Σ AGM: somatório dos ácidos graxos monoinsaturados; Σ AGP: somatório dos ácidos graxos poliinsaturados; AGM/AGP: relação dos ácidos graxos monoinsaturados com os poliinsaturados.

Considerando-se os teores de ácido oléico observados nas amostras, Covas (2007) salienta que os benefícios do consumo de azeite vão além da redução plasmática do colesterol LDL, pois a presença deste ácido graxo, juntamente com compostos fenólicos, tornam o azeite de oliva mais resistente às modificações oxidativas, exercendo um efeito benéfico sobre a saúde cardiovascular.

Alguns trabalhos relatam a influência da maturação do fruto na composição dos ácidos graxos oléico, linoléico e palmítico, que ocorre em função de atividade enzimática durante a biossíntese dos ácidos graxos (Matos et al., 2007; Baccouri et al., 2008; Gómez-Rico et al., 2007). Visto que os índices de maturação das amostras no presente trabalho são muito próximos, acredita-se que a variação observada entre as amostras não tenha ocorrido em função do estágio de maturação das azeitonas.

O azeite da cv. Manzanilla apresentou os maiores percentuais de ácido palmítico e linoleico e o menor percentual de ácido oléico em comparação com os outros azeites. Comportamento similar foi verificado por Pardo, Cuesta, Alvarruiz (2007) para os azeites de oliva da Manzanilla e Arbequina, da região de Campo de Montiel, Espanha. No entanto, no presente trabalho foi observado resultado diferenciado para o azeite da cv. Arbequina, o qual apresentou alto percentual de ácido oléico e reduzido percentual dos ácidos palmítico e linoléico. Este comportamento pode ser explicado pelo efeito da interação cultivar e ambiente, demonstrada por Allalout et al. (2009) e Tura et al. (2007), os quais concluíram que a cultivar e o local de cultivo influenciam na proporção dos ácidos graxos.

Menor relação AGM/AGP foi observada no azeite da cultivar Manzanilla (5,4), enquanto que nas outras amostras verificou-se relação superior a 10, sugerindo que estas apresentam maior tendência à estabilidade por oxidação. Estudos relatam que a razão AGM/AGP, conteúdo de compostos fenólicos e conteúdo de  $\alpha$ -tocoferol apresentam correlação positiva com a estabilidade oxidativa do azeite de oliva (Aguilera et al., 2005; Allalout et al., 2009).

Considerando-se a expansão da olivicultura no sul do Brasil, este trabalho disponibiliza informações ainda inexistentes sobre as características dos azeites de oliva virgem obtidos de plantas cultivadas nesta região, os quais podem ser utilizados no incremento de programas de expansão da cultura no país. Além disso, cabe salientar que os plantios ainda estão em fase inicial, devendo-se, assim, continuar realizando avaliações das características físico-químicas de outras safras para se obter resultados mais contundentes.

#### 4. Conclusões

Os azeites de oliva das cultivares Grapollo, Koroniki, Arbequina Maria da Fé e Manzanilla tem valores compatíveis com azeite de oliva extra-virgem, enquanto que a cv. Arbequina com azeite de oliva virgem.

O azeite da cv. Grapollo possui maiores teores de compostos fenólicos, de carotenóides e de tocoferóis. . O azeite da cv. Manzanilla apresenta maior conteúdo de clorofilas.

A composição em ácidos graxos situou-se dentro dos limites preconizados para azeite de oliva tanto pela legislação brasileira atual quanto pela regulamentação internacional. O ácido oléico foi o ácido graxo majoritário em todas as amostras, seguido dos ácidos palmítico e linoléico.

#### Referências

AGUILERA, M.P.; BELTRÁN, G.; ORTEGA, D.; FERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ, A. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 387-391, 2005.

ALBA, J. Elaboracion del aceite de oliva virgen. In. BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. (Eds.), **El cultivo del olivo**. 5 ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, p. 615 - 656.

ALLALOUT, A., KRICHÈNE, D., METHENNI, K., TAAMALLI, A., OUESLATI, 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.

ALVARADO, M.; CIVANTOS, M.; DURAN, J. M. Plagas. In. BARRANCO, D. FERNANDEZ-ESCOBAR, R., RALLO, L. (Eds.), **El cultivo del olivo**. 5 ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, p. 481 - 556.

ANASTASOPOULOS, E.; KALOGEROPOULOS, N.; KALIORA, A. C.; FALIREA, A., KAMVISSIS, V. N.; ANDRIKOPOULOS, N. K. Quality characteristics and antioxidants of Mavrolia cv. **Virgin olive oil**. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 89, p. 253-259, 2012.

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

AOCS. American Oil Chemists' Society.(1992). **Official and tentative methods of the American Oils Chemists' Society**, Champaign, IL.

BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; DAOUD 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.

BALDIOLI, M.; SERVILI, M.; PERRETTI, G.; MONTEDORO, G. F. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 73, p. 1589-1593, 1996.

BARRANCO, D. Variedades y patronos. In: BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. (Eds.). **El cultivo del olivo**. 5 ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, p. 63 -92.

BELTRAN, G.; UCEDA, M.; HERMOSO, M.; FRIAS, L. Maduracion. In: Barranco, D.; Fernandez-Escobar, R.; Rallo, L. (Eds.). **El cultivo del olivo**. 5 ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, p. 159 -184.

BELTRÁN, G.; AGUILERA, M. P.; DEL RIO, C.; SANCHES, S.; MARTINES, L. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidante contenido f Hojiblanca virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 89, p. 207 -215, 2005.

BELTRÁN, G.; AGUILERA, M.P.; DEL RIO, C., SANCHES, S.; MARTINES, L. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 633-639, 2010.

BOSELLI, E.; DI LECCE, G.; STRABBIOLI, R.; PIERALISI, G.; FREGA, N. G. Are virgin olive oils obtained below 27 °C better than those produced at higher temperatures? **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 748–757, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Métodos Físico-químicos para a Análise de alimentos, **Normas analíticas do IAL**, 4 ed., MS:Brasília, 2005.

BRASIL.Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, 30 de janeiro de 2012. Regulamento técnico dos azeites de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 23, p. 5-8, 01 fev. 2012. Seção 1.

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, n. 1, p. 127-136, 2010.

CHEN, H.; ANGIULI, M.; FERRARI, C.; TOMBARI, E.; SALVETTI, G.; BRAMANTI, E. Tocopherol speciation as first screening for the assessment of extra virgin olive oil quality by reversed-phase high-performance liquid chromatography/fluorescence detector. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1423–1429, 2011.

COUTINHO, E. F.; WREGE, M. S.; JÚNIOR, C. R.; ALMEIDA, I. R.; STEINMETZ, S. Clima. In COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. (Eds.), **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009, p. 21 – 28.

COVAS, M. I. Olive oil and the cardiovascular system. **Pharmacological Research**, v. 55, p. 175–186, 2007.

CRIADO, M. N.; ROMERO, M. P.; CASANOVAS, M.; MOTILVA, M. J. Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. **Food Chemistry**, v. 110, p. 873–880, 2008.

European Economic Community (EEC). Characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. EEC Regulation 1989/2003. **Official Journal European Community**, v. 295, p. 57-66, 2003.

GOMEZ-RICO, A.; SALVADOR, M.D.; MORIANA, A.; PEREZ, D.; OLMEDILLA, N.; RIBAS, F. Influence of different irrigation strategies in a traditional Cornicabra cv. Olive orchard on virgin olive oil composition and quality. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 568-578, 2007.

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.

GUINAZI, M. (2004). **Tocoferóis e tocotrienóis em hortaliças, ovos e óleos vegetais utilizados em restaurantes comerciais**. Viçosa: UFV, Postgraduate Program in nutrition science (Master's in Science).

HERMOSO, M. et al. **Elaboración de aceite de oliva de calidad**. Apuntes, Sevilla, 5, 1991.

IOOC. (2010). International Olive Council. **Method of Analysis: Spectrophotometric investigation in the ultraviolet**. COI/T20/Doc n.º. 19/Rev. 3. Madrid. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/224-testing-methods>. Acesso em 22 de janeiro de 2011.

IOOC. (2013). **International Olive Council**. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>. Acesso em 06 de fevereiro de 2013.

IOOC. (2011). **International Olive Council. Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils**. COI/T.15/NC No 3/Rev. 6. Madrid. Disponível em <http://www.internationaloliveoil.org>. Acesso em 06 de fevereiro de 2012.

ISSAOUI, M.; DABBOU, S.; BRAHMI, F.; HASSINE, K. B.; ELLOUZE, M. H.; HAMMAMI, M. Effect of extraction systems and cultivar on the quality of virgin olive oils. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 44, p. 1713-1720, 2009.

KANAVOURAS, A.; CERT, A.; HERNANDEZ, R. J. Oxidation of Olive Oil under Still Air. **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 3, p. 183-189, 2005.

KIRITSAKIS, A. K.; NAUOS, G. D.; POLYMENOUPOULOS, Z.; THOMAI, T.; SFAKIOTAKIS, E. Y. Effect of fruit storage conditions on olive oil quality. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 75, p. 721 - 724, 1998.

LONGOBARDI, F.; VENTRELLA, A.; CASIELLO, G.; SACCO, D.; TASIOULA-MARGARI, M.; KIRITSAKIS, A. K.; KONTOMINAS, M. G. Characterization of the geographical origin of Western Greek virgin olive oils based on instrumental and multivariate statistical analysis. **Food Chemistry**, v. 133, p. 169–175, 2012.

MANAI-DJEBALI, H.; KRICHE`NE, 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.

MATOS, L. C.; CUNHA, S. C.; AMARAL, J. S.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, B. P. P. Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. **Food Chemistry**, v. 102, p. 406 – 414, 2007.

OCAKOGLU, D.; TOKATLI, F.; OZEN, B.; KOREL, F. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years, **Food Chemistry**, v. 113, p. 401 - 410, 2009.

OLIVAS DO SUL. Disponível em <http://www.olivasdosul.com.br/flos-olei-2011/>. Acesso em 12 de setembro de 2011.

OLIVEIRA, A. F.; NETO, J. V.; GONÇALVES, E. D.; VILLA, F.; SILVA, L. F. O. Parâmetros físico-químicos dos primeiros azeites de olivabrasileiros extraídos em Maria da Fé, Minas Gerais. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 3, p. 255-261, 2010.

PARCERISA, J.; CASALS, I.; BOATELLA, J.; CODONY, R.; RAFECAS, M. Analysis of olive and hazelnut oil mixtures by high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry of triacylglycerols and gas–liquid chromatography of non-saponifiable compounds (tocopherols and sterols). **Journal of Chromatography A**, v. 881, n. 1–2, p. 149–158, 2000.

PARDO, J.E.; CUESTA, M.A.; ALVARRUIZ, A. Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin “Aceite Campo de Montiel” (Ciudad Real, Spain). **Food Chemistry**, v. 100, p. 977–984, 2007.

PESTANA, V. R., ZAMBAZI, R. C., MENDONÇA, C. R. B., BRUSCATTO, M. H. Quality changes and tocopherols and  $\gamma$ -orizanol concentrations. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 85, p. 1013-1019, 2008.

POULIAREKOU, E.; BADEKA, A.; TASIOULA-MARGARI, M.; KONTAKOS, S.; LONGOBARDI, F.; KONTOMINAS, M.G. Characterization and classification of Western Greek olive oils according to cultivar and geographical origin based on volatile compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 7534 – 7542, 2011.

PSOMIADOIU, E.; TSIMIDOU, M. Pigments in Greek virgin olive oils: occurrence and levels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 81, p. 640 – 647, 2001.

RUIZ-CANELA, M. R.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A. Olive oil in the primary prevention of cardiovascular disease. **Maturitas**, v. 68, p. 245-250, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B., KIMURA, M. **HarvestPlus handbook for carotenoids analysis** (first ed.). Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT), 2004, 58 p.

STATISTIX. (2003). **Statistix for Windows**: Analytical Software, Tallahassee, EUA.

TRAPERO, A.; BLANCO, M.A. Enfermedades. In: Barranco, D., Fernandez-Escobar, R., & Rallo, L. (Eds.), **El cultivo del olivo**. 5 ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, p. 557 – 614.

TURA, D.; GIGLIOTTI, C.; PEDO, S.; FAILLA, O.; BASSI, D.; SERRAIOCCO, A. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea L.*) and correlations with oxidative stability. **Scientia Horticulturae**, v. 12, p.108–119, 2007.

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

ZAMBIAZI, R. C. **The role of endogenous lipid componentes on vegetable oil stability**.1997. 304f. Tese Doutorado. Winnipeg: University of Manitoba.

ZAMBIAZI, R. C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M. W.; MENDONC, C. B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **Boletim CEPPA**, v. 25(1), p. 111–120, 2007.

## **CAPÍTULO III. CARACTERÍSTICAS DE AZEITES DE OLIVA PRODUZIDOS EM DIFERENTES SAFRAS NA REGIÃO DA CAMPANHA/RS/BRASIL**

### **CHARACTERISTICS OF OLIVE OIL PRODUCED IN DIFFERENT CROPS IN THE REGION OF THE CAMPAIGN RS / BRAZIL**

GOULARTE-DUTRA, F. L.<sup>1</sup>; ZAMBIAZI, R. C.<sup>2</sup>; CRIZEL-CARDOSO, M. M.<sup>3</sup>; COUTINHO, E. F.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial / Universidade Federal de Pelotas –

[fgoularte@hotmail.com](mailto:fgoularte@hotmail.com)

<sup>2</sup>Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos / Universidade Federal de Pelotas

<sup>3</sup>Curso de Química de Alimentos / Universidade Federal de Pelotas

<sup>4</sup>Embrapa Clima Temperado

#### **Resumo**

A cultura da oliveira está em expansão no Brasil, entretanto, ainda considera-se que o país importa 100% do azeite de oliva que consome. O sul do Brasil apresenta regiões com clima adequado para o cultivo de oliveiras, mas pouco se conhece sobre a influência do clima sobre as características físico-químicas dos óleos produzidos nesta região. O objetivo deste estudo foi avaliar as características químicas e conteúdo de compostos bioativos, em azeites de oliva monovarietais produzidos em três safras consecutivas na região da Campanha, Rio Grande do Sul/Brasil. As amostras constituíram-se de azeites de oliva oriundos das cultivares Arbequina e Koroneiki, localizadas no município de Dom Pedrito/RS, nas safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. As amostras foram avaliadas quanto aos parâmetros de qualidade, teores de compostos bioativos (tocoferóis, compostos fenólicos, carotenóides e clorofilas) e perfil de ácidos graxos. Com exceção do azeite da cultivar Arbequina na safra 2011/12, todas as outras amostras apresentaram índices compatíveis com azeite de oliva extra-virgem. Houve diferença nos teores dos compostos bioativos tanto entre as cultivares quanto entre as safras. Assim, observou-se influência dos fatores genéticos e ambientais nos parâmetros analisados nos azeites de oliva.

**Palavras-Chave:** Arbequina. Koroneiki. Caracterização. Antioxidante.

## Abstract

The olive cultivation is expanding in Brazil, however, so far the country imports almost 100% of its consumption. The south of Brazil has regions with suitable climate for growing olives, but it is not known the climate influence on the olive oil characteristics produced. The objective of the study was to evaluate the chemical and bioactive compounds in monovarietal olive oils produced in three consecutive years in south of Rio Grande do Sul / Brazil. The samples consisted of olive oils from Arbequina and Koroneiki cultivars located in Dom Pedrito/RS, from 2009/10, 2010/11 and 2011/12 crops. The samples were evaluated for quality parameters, bioactive compounds (tocopherols individual, total phenolics compounds, total carotenoids and chlorophylls) content and fatty acid profile. Exceptto Arbequina olive oil harvest in 2011/12, all other samples showed levels consistent with olive oil extra virgin. There were differences in the bioactive compounds content both between cultivars and crops. Therefore, it was observed an influence of genetic and environmental factors in the olive oils parameters analyzed.

Keywords: Arbequina. Koroneiki. Characterization. Antioxidant.

## 1. Introdução

Em função do crescente consumo de azeite de oliva pela população brasileira, o país tornou-se um dos principais importadores de azeite de oliva, constituindo praticamente 100 % de seu consumo (IOOC, 2013). No Brasil, apenas em 1948 foram iniciadas pesquisas em olivicultura, e a partir de 2006 foram retomados o estudos na região sul para acompanhar a adaptação e produtividade dos olivais, além de avaliar as características dos azeites de oliva produzidos.

A oliveira é uma espécie de clima temperado, se desenvolve bem em regiões com verões longos, quentes e secos, e com baixos índices pluviométricos. A metade Sul do Rio Grande do Sul possui microrregiões propícias para o plantio de oliveiras, onde verifica-se índices pluviométricos no verão um pouco diferente do que ocorre nos países de clima mediterrâneo, mas apresenta temperatura adequada no período de maturação dos frutos (25-35 °C) e baixa umidade relativa do ar, o que favorece o florescimento (WREGGE et al., 2009; COUTINHO et al., 2009).

Dentre as cultivares introduzidas no sul do Brasil, a Arbequina, de origem espanhola, é considerada resistente ao frio, apreciada pela sua produção precoce, além de apresentar bom rendimento em lagar. A cultivar Koroneiki, de origem Grega, é mais susceptível ao frio, mas apresenta maior resistência à seca, além de produzir frutos com elevado conteúdo em azeite, sendo muito apreciado por suas propriedades sensoriais (BARRANCO, 2004; GRANADOS, 2000; KANDYLIS et al., 2011).

A característica do azeite, bem como o teor dos componentes químicos, são influenciados principalmente pela cultivar, condições de solo e clima de cultivos, além de práticas culturais, índice de maturação das olivas (IM), e pelos cuidados nos processos de colheita e extração do azeite (BACCOURI et al., 2008; BELTRÁN et al., 2005; MORELLO et al., 2004).

No Brasil, praticamente inexitem resultados sobre a caracterização dos componentes nos azeites obtidos das cultivares introduzidas no sul do Brasil, considerando-se as condições peculiares de clima, solo e da resposta da interação cultivar e ambiente com o passar dos anos. Em função destes fatores, verifica-se a necessidade de estudar o comportamento dessas variedades e, principalmente, a influência na composição do azeite das condições edafoclimáticas brasileiras.

Este trabalho teve por objetivo avaliar as características químicas, incluindo o teor de compostos bioativos, nos azeites de oliva monovarietais produzidos em três safras consecutivas no município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul/Brasil.

## **2. Metodologia**

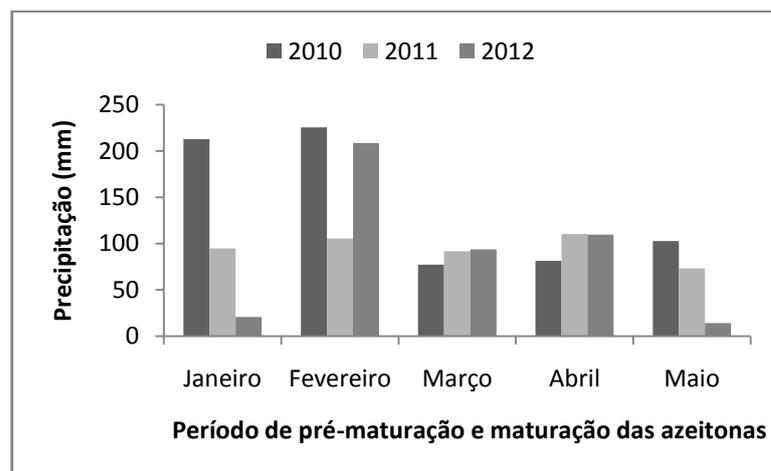
### **2.1 Padrões Cromatográficos**

Os padrões  $\delta$  e  $\gamma$  - Tocoferol (pureza de 90% e  $\geq$  96%, respectivamente) foram adquiridos da Sigma Co. (St. Louis, EUA) e o  $\alpha$  - Tocoferol (99% de pureza) da Merk (Darmstadt, Alemanha). Uma mistura de ésteres metílicos dos ácidos graxos capríco, caprílico, cáprico, caproléico, láurico, dodecenóico, mirístico, miristoléico, palmítico, palmitoléico, margárico, heptadecenóico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico, araquídico, gadoléico, eicosadienóico, eicosatrienóico, eicosatetraenóico, behênico, erúcido, docosadienóico, docosatrienóico, tetraenóico, lignocérico e nervônico, foi adquirida da Sigma Co. (St. Louis, EUA).

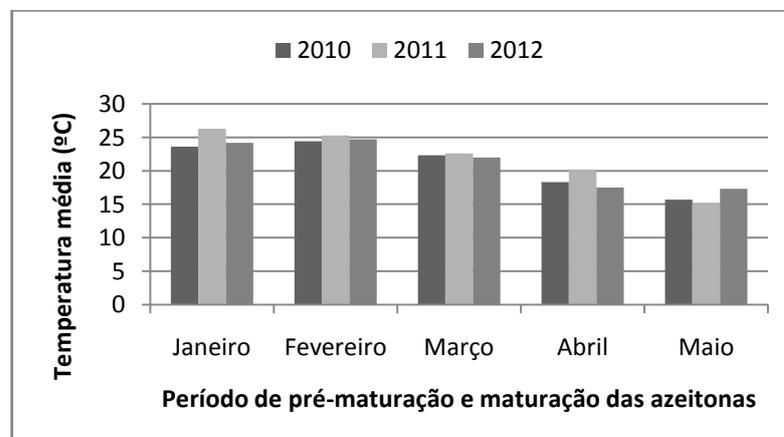
## 2.2 Caracterização das amostras

As azeitonas utilizadas foram coletadas de plantas adultas (6 anos) de *Olea europaea* L., cultivares Koroneiki e Arbequina provenientes da unidade de observação experimental da Embrapa Clima Temperado, próxima a fronteira com o Uruguai, no município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul/Brasil ( $-31^{\circ}19' 53''\text{S}$ ,  $-54^{\circ}06' 25''\text{O}$  e altitude média de 212 m). O solo da região é classificado como Luvisso Háplicos Órtico típico, pertencente à unidade de mapeamento Pirai (Embrapa-CNPS, 2006). O clima caracteriza-se como subtropical úmido, segundo a classificação climática de Köppen-Geiger, do tipo "Cfa". O estudo foi realizado durante três safras: 2009/10, 2010/11 e 2011/12. A precipitação, temperatura e umidade relativa média mensal registrada para cada safra, no período da maturação do fruto, são apresentadas na Figura 1.

A)



B)



C)

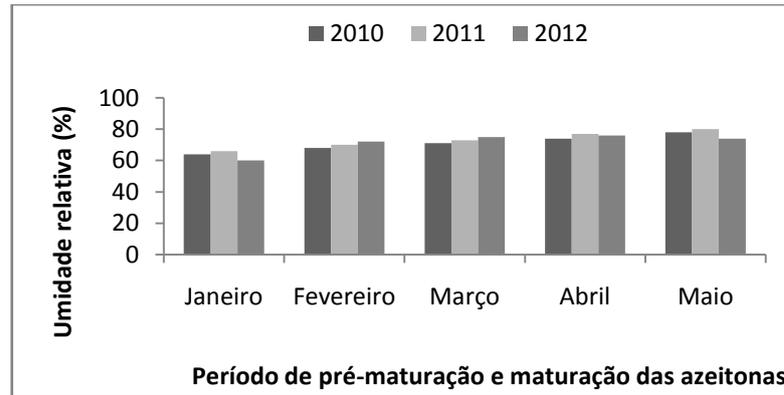


Figura 1- Informações meteorológicas registradas em Dom Pedrito (Rio Grande do Sul/Brasil) no período de pré-maturação e maturação dos frutos de azeitona nos anos 2009/10, 2010/11 e 2011/12. A) Precipitação média mensal; B) Temperatura média mensal; C) Umidade Relativa média mensal.

Fonte: Estação meteorológica Vantage Pro2 Wireless K6162

As práticas de manejo foram realizadas na mesma data em todos os tratamentos, seguindo as indicações técnicas à cultura. O pomar de ambas cultivares foi instalado em espaçamento de 7 x 3 m, com plantas oriundas de propagação vegetativa por estacas, conduzidas em sistema de vaso policônico. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado, com três repetições, em esquema bifatorial. O fator A testou cultivares de oliveira (Koroneiki e Arbequina) e o fator B comparou as safras (2009/10, 2010/11 e 2011/12).

A colheita foi realizada de forma a eliminar os frutos que apresentavam sintomas de doenças ou lesões. Nos frutos selecionados foi determinado o índice de maturação, sendo de 2,3; 3,1; e 3,1 para frutos da cv. Arbequina e de 2,6; 2,8; e 2,2 para frutos da cv. Koroneiki, nas safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12, respectivamente.

### 2.3 Extração do azeite

Após a colheita e seleção, os frutos (cerca de 40 kg de cada cultivar) foram transportados até o município de Cachoeira do Sul, onde os frutos foram submetidos ao processamento no mesmo dia da colheita, com exceção dos frutos da cv. Arbequina safra 2011/12, os quais foram processados no dia posterior a colheita. Antes da obtenção dos azeites, as folhas e os frutos que apresentavam sintomas de

doenças ou lesões foram separados e as azeitonas foram lavadas em água corrente. Seguiu-se a extração em moinho "Spremoliva 10", realizada a frio pelo princípio de extração por duas fases. Após a extração, o azeite foi filtrado para eliminar as sedimentações (impurezas) e armazenados a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  em recipientes de polietileno com capacidade de 30 mL.

#### 2.4 Determinações

Acidez livre (Ca a-40) - Determinada pela titulação com álcali, segundo metodologia da AOCS (1992), sendo os resultados da acidez livre expressos em percentual de ácido oléico ( $\text{g ácido oléico } 100\text{g}^{-1}$ ).

Índice de Peróxidos (Cd 8-53) - Determinado pela reação com iodeto de potássio e titulação com tiosulfato de sódio, segundo metodologia da AOCS (1992), expressando os resultados em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de óleo ( $\text{meq.O}_2\text{ kg}^{-1}$ ).

Absorção específica a 232 e 270 nm - Realizada pela leitura em espectrofotômetro, de acordo com o método COI/T20/Doc. n.º. 19/Rev. 3 (IOOC, 2010).

Conteúdo de tocoferóis - Pesou-se 150 mg de azeite de oliva em balão volumétrico de 5 mL e completou-se o volume com isopropanol. O extrato foi transferido para tubos "ependorf", centrifugou-se nas condições de 9.000 g por 6 minutos, utilizando-se do sobrenadante para a avaliação dos tocoferóis por cromatografia líquida, realizada segundo descrito por Pestana et al. (2008). Foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE (SHIMADZU), constituído por um módulo de mistura dos solventes LC-10ATVP, degaseificador FCV-10ALVP, bomba reodine DGU-14A, sistema de controle SCL-10AVP, forno da coluna CTO-10-ASVP e amostrador automático SIL-10AF. A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa, Synergi Fusion RP-80A (Phenomenex®) (4,6 cm x 150 mm x 4  $\mu\text{m}$ ), tendo-se injetado 10  $\mu\text{L}$  de amostra. Utilizou-se o detector de fluorescência com excitação de 290 nm e emissão a 330 nm. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software Class-VP. Foi utilizado como fase móvel inicial acetoneitrila:metanol:isopropanol nas proporções 50:40:10 (v/v/v) por 10

minutos; alterando-se linearmente para acetonitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v) até atingir 12 minutos; e retornando linearmente para a fase móvel inicial até 15 minutos de análise. Utilizou-se fluxo constante de 1 mL min<sup>-1</sup>. Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curva de calibração com os padrões de  $\delta$ ,  $\gamma$  e  $\alpha$ -tocoferóis. Os resultados foram expressos em mg de tocoferóis por kg de amostra.

Conteúdo total de compostos fenólicos - A extração da fração fenólica foi realizada conforme metodologia descrita por Baccouri et al. (2008), com poucas modificações. Consistiu em adicionar 4 mL de solução alcoólica (metanol:água, 60:40, v/v) em 4 g de amostra dissolvida em 2 mL de hexano. Posteriormente as amostras foram centrifugadas por 3 minutos à 1490g. A fase hidroalcoólica foi transferida para um funil de separação, e a fase oleosa (hexânica) foi re-extraída mais duas vezes com 4 mL da solução alcoólica em cada etapa. Finalmente, a fração hidroalcoólica total obtida foi lavada com 4 mL de n-hexano para remover o óleo residual e concentrada a vácuo em rotaevaporador (Laborota 4000, Heidolph®) a 40 °C. Ressuspendeu-se o extrato em 5 mL de metanol. A reação colorimétrica para a determinação do teor total de compostos fenólicos foi por meio da adição do reagente Folin-Ciocalteu em 1 mL do extrato. A leitura da absorbância da amostra foi realizada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000) a 765 nm. Para a quantificação, procedeu-se a elaboração da curva padrão de ácido gálico sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico kg<sup>-1</sup> azeite (VÁZQUEZ RONCERO; JANER DEL VALLE; JANER DEL VALLE, 1973).

Conteúdo total de carotenóides- Para a determinação de carotenóides foram utilizadas 2,5 g de azeite de oliva, que foram dissolvidas com solução de iso-octano:etanol (3:1, v/v) em balão volumétrico de 10mL. A absorção da amostra foi determinada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000) a 450nm, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). O conteúdo total de carotenóides foi determinado pela equação 1 (Rodriguez-Amaya, Kimura, 2004).

$$C = ABS \times V \times 10^4 / A_{1cm}^{1\%} \times P \text{ (eq. 1)}$$

sendo, C= concentração de carotenóides totais, expressos em mg de  $\beta$ -caroteno  $\text{kg}^{-1}$  amostra; ABS= absorvância; V = volume do extrato (mL);  $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2500$  (coeficiente de absorção do solvente) e P = peso da amostra (g).

Conteúdo de clorofilas - Para a análise de clorofilas utilizou-se a metodologia da AOCS – Tentative Method Cc 13d-55 (1992), empregando solução de iso-octano:etanol (3:1). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000) a 630, 670 e 710 nm. O teor total de clorofilas foi expresso em mg clorofila  $\text{kg}^{-1}$  amostra.

Perfil de ácidos graxos - A composição em ácidos graxos dos azeites foi determinada por cromatografia em fase gasosa, na forma de ésteres de ácidos graxos, previamente preparados através da técnica de derivatização descrita por Zambiasi et al. (2007), com pequena modificação. Aproximadamente 45 mg de azeite foi dissolvido em 1 mL de éter de petróleo, seguindo-se com adição de 12 mL de solução metanólica de ácido clorídrico 0,5 N. As amostras foram colocadas em estufa a 65 °C por 1 hora, e agitadas periodicamente. Após resfriamento, 6 mL de água e 5 mL de isooctano foram adicionados às amostras. As amostras foram agitadas, e a parte da camada orgânica foi retirada para determinar a composição de ácidos graxos. As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso-CG (Perkin Elmer Clarus500), provido com detector FID, coluna capilar (Phenomenex) com fase líquida constituída de 5% de fenil e 95% de dimetilpolisiloxano e com dimensões 15 m x 0,32 mm x 0,1  $\mu\text{m}$ , e de injetor automático com capacidade de 5  $\mu\text{L}$ . Os dados foram adquiridos e processados com auxílio do software Clarus 500. Utilizou-se gradiente de temperatura, com temperatura inicial da coluna de 90 °C, mantida por 1 min; após, passou para 160 °C com incremento linear de 12 °C  $\text{min}^{-1}$ , mantida por 3,5 min; seguindo a 190 °C com incremento linear de 1,2 °C  $\text{min}^{-1}$ ; e finalmente a 230 °C com incremento linear de 15 °C  $\text{min}^{-1}$ , mantida por 15 min. O injetor e o detector foram mantidos na temperatura de 230 °C e 240 °C, respectivamente. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste a 1,5  $\text{mL m}^{-1}$ . Os ácidos graxos foram identificados por meio da comparação com os tempos de retenção dos padrões e o teor de cada ácido graxo nas amostras de azeite foi calculado de acordo com a área de cada um dos picos obtidos nos cromatogramas, multiplicadas por 100 e dividido pela área

total de ácidos graxos da amostra, sendo os resultados expressos em porcentagem relativa.

#### Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto a normalidade (teste de Shapiro Wilk), a homocedasticidade (teste de Hartley) e a independência dos resíduos foi verificada graficamente. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ). Em caso de significância estatística, compararam-se os efeitos das cultivares pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) e das safras pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Adotou-se o modelo linear de efeitos fixos para cultivares e os anos de avaliação (safras) (SAS INSTITUTE, 2002).

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Determinações analíticas

Houve interação entre os fatores de tratamento testados para todas as variáveis avaliadas (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Quanto ao parâmetro acidez livre, na cultivar Koroneiki a safra 2009/10 apresentou comportamento diferenciado em relação as demais. Já, para 'Arbequina', todas as safras diferiram entre si. Ao realizar a comparação entre as cultivares observou-se que ambas diferiram, para todas as safras. Esse mesmo comportamento foi observado para o índice de peróxidos (Tabela 1).

Com relação a absorção no ultravioleta a 232 nm para cv. Koroneiki, todas as safras diferiram entre si, enquanto que na cv. Arbequina a safra 2011/12 apresentou comportamento diferenciado, apresentando valor superior as demais. Ao realizar a comparação entre as cultivares observou-se que ambas diferiram, para todas as safras (Tabela 1).

Foi observado no azeite da cv. Arbequina maiores valores de índice de peróxidos e absorção no ultravioleta a 232 nm em todas as safras, os quais denotam maior grau de oxidação desse azeite de oliva, quando comparado ao da cv. Koroneiki. Esse resultado pode ser parcialmente explicado em função dos menores teores de antioxidantes verificados no azeite da cv. Arbequina (Tabela 3), os quais estão correlacionados positivamente com a estabilidade oxidativa do azeite de oliva (PARDO, CUESTA, ALVARRUIZ, 2007).

Tabela 1 - Características analíticas de azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito/ RS/ Brasil

Cultivares	Safras		
	2009/10	2010/11	2011/12
Acidez livre (g ácido oléico 100g <sup>-1</sup> )			
Koroneiki	0,333 b*	0,537 a*	0,470 a*
Arbequina	0,197 c <sup>1/</sup>	0,290 b	1,400 a
Índice de peróxidos (meq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )			
Koroneiki	6,520 b*	10,943 a*	11,267 a*
Arbequina	9,897 c	14,943 b	26,500 a
K 232 nm			
Koroneiki	1,290 b*	0,478 c*	1,663 a*
Arbequina	1,687 b	2,124 b	3,130 a
K 270 nm			
Koroneiki	0,141 a <sup>ns</sup>	0,030 b*	0,102 a*
Arbequina	0,108 c	0,147 b	0,287 a

ns e \*, Não-significativo e significativo, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando as cultivares, dentro de cada safra. <sup>1/</sup> Médias acompanhadas por mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as safras, em cada cultivar.

Com exceção do azeite da cultivar Arbequina na safra 2011/12, todas as outras amostras apresentaram índice de acidez livre, peróxidos e absorvância nos comprimentos de onda a 232 e 270 nm compatíveis com azeite de oliva extra-virgem (BRASIL, 2012). Considerando-se os limites estabelecidos pela legislação brasileira e internacional (BRASIL, 2012; IOOC, 2011), o azeite 'Arbequina', na safra 2011/12, pode ser enquadrado na categoria do azeite de oliva virgem em relação ao índice de acidez livre ( $\leq 0,8\%$  e  $\geq 2,0\%$ ). As alterações observadas neste azeite possivelmente ocorreram em função do intervalo de tempo entre a colheita e a extração, o qual excedeu as 24 horas, ficando as azeitonas suscetíveis a hidrólise e oxidação (ALBA, 2004).

Estes parâmetros de qualidade estão relacionados com as características do fruto, que podem ser influenciadas por fatores exógenos como enfermidades e insetos, além da manipulação antes, durante e após o processamento do azeite (MÉNDEZ, FALQUÉ, 2007; ISSAOUI et al., 2009; KANDYLIS et al., 2011; POULIAREKOU et al., 2011).

### 3.2 Compostos bioativos

O conteúdo dos tocoferóis individuais para os azeites de oliva monovarietais, cvs. Koroneiki e Arbequina, das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12 estão demonstrados na Tabela 2. Nas condições deste estudo, o  $\gamma$ - tocoferol elui conjuntamente com o  $\beta$ -tocopherol, o que é suportado pela literatura (CHEN et al., 2011; PESTANA et al., 2008), onde é relatado que a coluna de fase reversa (RP-HPLC) não permite a separação desses isômeros.

Tabela 2 -Tocoferóis individuais em azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito-RS/Brasil

Cultivares	Safras		
	2009/10	2010/11	2011/12
$\gamma + \beta$ -T: gama+beta-tocoferol (mg kg <sup>-1</sup> )			
Koroneiki	3,618 b <sup>ns</sup>	10,900 a*	11,367 a*
Arbequina	3,379 b	3,367 b	7,437 a
$\alpha$ -T: alfa-tocoferol (mg kg <sup>-1</sup> )			
Koroneiki	304,300 b <sup>ns</sup>	292,300 b*	396,730 a*
Arbequina	287,147 b <sup>1/</sup>	356,167 a	287,040 b
$\delta$ -T: delta-tocoferol (mg kg <sup>-1</sup> )			
Koroneiki	nd a*	nd a*	Nd a*
Arbequina	2,497 b	3,117 a	2,360 b
Tocoferóis Totais(mg kg <sup>-1</sup> )			
Koroneiki	307,920	303,200	408,100
Arbequina	293,023	362,650	297,503

<sup>ns</sup> e \*, Não-significativo e significativo, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando as cultivares, dentro de cada safra.<sup>1/</sup> Médias acompanhadas por mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as safras, em cada cultivar.

Os teores de  $\alpha$ -tocopherol e ( $\gamma + \beta$ )-tocopherol diferiram significativamente entre os azeites das cvs. Arbequina e Koroneiki nas safras 2010/11 e 2011/12. Para o  $\alpha$ -tocopherol, ao realizar a comparação entre as safras, na cultivar Koroneiki a safra 2011/12 apresentou comportamento diferenciado, sendo o conteúdo superior em relação as demais, e para 'Arbequina', a safra 2010/11 foi distinta, com maior teor de  $\alpha$ -tocopherol. Tal composto variou entre 287,04 mg kg<sup>-1</sup> (2011/12) e 356,00 mg kg<sup>-1</sup> (2010/11) no azeite da cv. Arbequina, e entre 292,30 mg kg<sup>-1</sup> (2010/11) e 396,73 mg kg<sup>-1</sup> (2011/12) na cv. Koroneiki. O  $\delta$ -tocopherol não foi detectado no azeite da cv. Koroneiki em qualquer das safras. Seu conteúdo no azeite da cv. Arbequina não

diferiu significativamente entre as safras 2009/10 e 2011/12, sendo inferiores ao da safra 2010/11.

O comportamento observado no presente trabalho é suportado por Tura et al. (2007), os quais afirmam que o conteúdo de tocoferóis são variáveis em função da cultivar, e por Beltran et al. (2005), os quais também sugerem haver efeito de diferentes safras sobre o conteúdo de tocoferóis. Considerando o comportamento observado no presente trabalho, houve interação significativa entre os fatores cultivar e safra, concordando com o descrito por Beltran et al. (2010).

O conteúdo total de compostos fenólicos, carotenóides e clorofilas, dos azeites de oliva 'Koroneiki' e 'Arbequina', das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12 estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Teor de compostos bioativos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) em azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito-RS/Brasil

Cultivares	Safras		
	2009/10	2010/11	2011/12
Fenóis totais (ácido gálico)			
Koroneiki	140,867 b*	119,567 c <sup>ns</sup>	224,500 a*
Arbequina	62,250 c <sup>1/</sup>	107,100 a	79,167 B
Carotenoides totais ( $\beta$ -caroteno)			
Koroneiki	6,455 b*	7,247 a*	6,537 b*
Arbequina	5,436 b	6,323 a	4,140 C
Clorofilas totais			
Koroneiki	1,880 a*	1,120 b*	1,880 a*
Arbequina	1,420 b	2,877 a	1,420 B

<sup>ns</sup> e \*, Não-significativo e significativo, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando as cultivares, dentro de cada safra.<sup>1/</sup> Médias acompanhadas por mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as safras, em cada cultivar.

Quanto ao parâmetro compostos fenólicos, ao realizar a comparação entre as cultivares observou-se que ambas não diferiram na safra 2010/11. O conteúdo de compostos fenólicos foi superior no azeite da cultivar koroneiki nas safras 2009/10 e 2011/12. Em relação as safras, houve variação significativa nos teores dos compostos fenólicos, para ambas as amostras de azeite de oliva. O teor de compostos fenólicos variou entre  $62,25 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $107,10 \text{ mg kg}^{-1}$  no azeite da cv. Arbequina e entre  $119,57 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $224,50 \text{ mg kg}^{-1}$  no da 'Koroneiki'. Observou-se

variação de 72,05 e 87,76%, respectivamente, no conteúdo destes compostos, considerando as três safras consecutivas.

Entretanto, os teores de compostos fenólicos variaram de forma distinta e inversa em relação as safras nas cvs. Arbequina e Koroneiki. O teor destes fitoquímicos foi superior na safra 2010/11 no azeite cv. Arbequina, ano em que ocorreu menor precipitação no período da pré-maturação e maturação dos frutos. Este resultado está de acordo com outros autores, os quais relacionam o aumento do conteúdo de compostos fenólicos em anos de menor precipitação pluviométrica (BELTRÁN, 2000; TOVAR et al., 2003). No entanto, no azeite cv. Koroneiki observou-se comportamento distinto na mesma safra, podendo ser explicado pela resistência desta cultivar a seca (BARRANCO, 2004).

O conteúdo médio determinado nas amostras de azeite para as cvs. Arbequina ( $82,84 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e Koroneiki ( $161,65 \text{ mg kg}^{-1}$ ) são inferiores ao encontrado por Allalout *et al.* (2009) para os azeites de oliva produzidos a partir das mesmas cultivares no norte da Tunísia, com teores médios para três safras, de 108,3 e 236,5  $\text{mg ácido gálico kg}^{-1}$ , respectivamente.

Os resultados obtidos corroboram com trabalhos que demonstram que a cultivar (OCAKOGLU et al., 2009) e a safra (OUESLATI et al., 2009), são fatores determinantes para o conteúdo dos compostos fenólicos em azeite de oliva. Além disso, as condições de processamento e armazenamento também influenciam, devido a ação das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas (GARCÍA-RODRÍGUEZ et al., 2011).

Considerando o conteúdo de compostos fenólicos encontrados no presente trabalho, o azeite da cv. Koroneiki demonstra maior potencial para estabilidade oxidativa, pois esses compostos correlacionam-se positivamente com a resistência a oxidação (TURA et al., 2007). Alto conteúdo destes compostos contribuem para maior vida de prateleira dos azeites de oliva extra-virgem, além de contribuírem para o sabor amargo característico do azeite (BENDINI et al., 2007).

Quanto aos pigmentos, os teores de carotenoides variaram entre  $4,14 \text{ mg kg}^{-1}$  (cv. Arbequina, safra 2011/12) a  $7,25 \text{ mg kg}^{-1}$  (cv. Koroneiki, safra 2010/11). Entre as cultivares, o azeite da cv. Koroneiki apresentou maior teor desse pigmento nas três safras analisadas, demonstrando influência do fator genético nos carotenoides totais. Esta observação concorda com Allalout et al. (2009) e Giuffrida et al. (2001),

os quais descreveram que o teor desse pigmento é determinado, principalmente, pela cultivar.

Em relação a variabilidade deste pigmento entre as safras, no azeite da cv. Arbequina houve diferença significativa no conteúdo de carotenoides nas três safras, enquanto que no da cv. Koroneiki não foi observado diferença no conteúdo entre as safras 2009/10 e 2011/12. Adicionalmente, o teor de carotenoides foi superior em ambas as amostras de azeite de oliva na safra 2010/11, na qual foi registrada menor precipitação no período de pré-maturação e maturação das azeitonas (Figura 1), verificando-se, possivelmente, efeito em função desta condição ambiental.

Em relação ao teor de clorofilas, o azeite da cv. Koroneiki apresentou valores significativamente superiores nas safras 2009/10 (1,88 mg kg<sup>-1</sup>) e 2011/12 (1,88 mg kg<sup>-1</sup>) e inferior na safra 2010/11 (1,12 mg kg<sup>-1</sup>). O azeite da cv. Arbequina, demonstrou comportamento inverso, com teores inferiores nas safras 2009/10 (1,42 mg kg<sup>-1</sup>) e 2011/12 (1,42 mg kg<sup>-1</sup>) e superior na safra 2010/11 (2,88 mg kg<sup>-1</sup>). Pode-se observar que o teor de clorofila foi superior no azeite da cv. Koroneiki quando comparado ao da 'Arbequina' nas safras 2009/10 e 2011/12, as mesmas em que o teor de clorofila foi superior quando comparado a variabilidade entre as safras para essa cultivar.

Foi encontrado neste estudo que a presença deste pigmento no azeite das cultivares analisadas é resultado da interação da cultivar com o meio ambiente, pois cada uma respondeu de maneira inversa nas safras avaliadas. Isto é suportado pela literatura, pois segundo Beltrán et al. (2005), o teor das clorofilas é influenciado pela cultivar e condições ambientais, o que pode explicar a variação nas diferentes safras.

### 3.3 Perfil de ácidos graxos

Os principais ácidos graxos identificados nas amostras de azeite de oliva foram palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico (Tabela 4). O ácido oléico foi o majoritário em todas as amostras de azeite de oliva analisadas, variando entre 62,69 (cv. Arbequina) e 76,30 (cv. Koroneiki). Os percentuais relativos para os ácidos graxos encontram-se dentro dos limites preconizados para azeite de oliva, tanto pela legislação brasileira (BRASIL, 2012) quanto pela regulamentação internacional (EEC, 2003; IOOC 2011).

Tabela 4 -Ácidos graxos (%) em azeites de oliva monovarietais das safras 2009/10, 2010/11 e 2011/12. Dom Pedrito-RS/Brasil

Cultivares	Safras			BRASIL (2012)
	2009/10	2010/11	2011/12	
<b>C16<sup>2/</sup></b>				
Koroneiki	13,477 a*	13,003 a*	11,860 b*	7,5 a 20,0
Arbequina	16,633 a <sup>1/</sup>	17,403 a	17,100 a	
<b>C16:1</b>				
Koroneiki	1,533 a*	0,923 b*	0,860 b*	0,3 a 3,5
Arbequina	3,127 a	3,070 a	2,387 b	
<b>C18</b>				
Koroneiki	1,767 a*	2,100 a*	1,920 a*	0,5 a 5,0
Arbequina	1,387 a	1,363 a	1,363 a	
<b>C18:1</b>				
Koroneiki	75,657 a*	76,297 a*	75,750 a*	55,0 a 83,0
Arbequina	67,643 a	62,693 c	64,410 b	
<b>C18:2</b>				
Koroneiki	5,923 b*	6,330 a*	5,343 c*	3,5 a 21,0
Arbequina	10,077 b	13,997 a	13,287 A	
<b>C18:3</b>				
Koroneiki	0,857 a*	0,803 a <sup>ns</sup>	0,807 a*	≤ 1,0
Arbequina	0,673 b	0,783 a	0,763 A	
<b>Total</b>				
Koroneiki	99,214	99,456	96,540	
Arbequina	99,540	99,309	99,310	
<b>∑ AGM</b>				
Koroneiki	77,19	77,22	76,75	
Arbequina	70,53	65,76	66,80	
<b>∑ AGP</b>				
Koroneiki	6,78	7,13	6,00	
Arbequina	10,75	14,77	14,05	
<b>AGM/AGP</b>				
Koroneiki	11,38	10,8	12,46	
Arbequina	6,56	4,45	4,75	

<sup>ns</sup> e \*, Não-significativo e significativo, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) comparando as cultivares, dentro de cada safra.<sup>1/</sup> Médias acompanhadas por mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) comparando as safras, em cada cultivar.<sup>2/</sup> Ácidos graxos - C16:0: palmítico, C16:1: palmitoleico, C18:0: esteárico, C18:1: oléico, C18:2: linoléico, C18:3: linolênico. ∑AGS: somatório dos ácidos graxos saturados; ∑AGM: somatório dos ácidos graxos monoinsaturados; ∑AGP: somatório dos ácidos graxos poliinsaturados; AGM/AGP: relação dos ácidos graxos monoinsaturados com os poliinsaturados.

Com exceção do ácido graxo linolênico, safra 2010/11, os azeites das cvs. Arbequina e Koroneiki apresentaram diferença significativa em relação ao teor dos ácidos graxos, nas três safras (Tabela 4). O teor dos ácidos graxos esteárico, oléico e linolênico foram superiores nos azeites da cv. Koroneiki quando comparado com o azeite de cultivar Arbequina, nas três safras avaliadas. Em contrapartida, o conteúdo dos ácidos graxos linoléico e palmitoleico foram superiores no azeite da cv. Arbequina. Pode-se inferir que a composição em ácidos graxos nos azeites das cultivares avaliadas é influenciada pelo fator genético. Esses dados são suportados por Tura et al. (2007), os quais concluíram que a cultivar influencia na proporção dos ácidos graxos.

Adicionalmente, os teores dos ácidos graxos palmítico e esteárico na cv. Arbequina, e esteárico, oléico e linolênico na cv. Koroneiki, não variaram entre as safras. Em função da interação entre os fatores genético e ambiental, não foi percebido um padrão de comportamento para os ácidos graxos em relação as safras. Essas informações corroboram com relatos de Matos (2007) e Allalout et al. (2009), os quais descrevem que a composição em ácidos graxos do azeite de oliva é influenciada pelo índice de maturação, cultivar e diferentes locais de cultivo.

Por apresentar teor superior de ácidos graxos monoinsaturados e inferior de poli-insaturados, a maior relação entre esses compostos foi encontrada no azeite da cv. Koroneiki (10,80 % – 12,46 %), o que contribui para maior estabilidade oxidativa quando comparado ao azeite da cv. Arbequina (4,45 % – 6,56 %). A maior estabilidade também é confirmada pelas determinações de IP e absorção no (K232nm) que demonstram menor oxidação no azeite da 'Koroneiki'. Segundo Aguilera et al. (2005) e Baccouri et al. (2008), além dos antioxidantes presentes no azeite de oliva, a razão entre os ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados apresentam correlação positiva com a estabilidade oxidativa do azeite.

#### **4. Conclusões**

O azeite de oliva da cv. Koroneiki apresentou valores compatíveis, nos parâmetros de qualidade, com azeite de oliva extra-virgem nas três safras consecutivas. Enquanto que no azeite da cv. Arbequina este comportamento foi mantido nas safras 2009/10 e 2010/11, pois na safra 2011/12 os parâmetros de qualidade o classificaram como azeite de oliva virgem.

Existe variabilidade dos teores dos compostos bioativos nos azeites das cultivares Arbequina e Koroneiki em função da interação entre os fatores cultivar e safra.

O azeite da cv. Koroneiki apresentou maiores conteúdos de compostos fenólicos e decolorofilas nas safras 2009/10 e 2011/12, de carotenóides nas três safras avaliadas e de tocoferóis na safra 2011/12.

A composição em ácidos graxos situou-se dentro dos limites preconizados para azeite de oliva, tanto pela legislação brasileira quanto pela regulamentação internacional para os azeites de oliva das cvs. Arbequina e Koroneiki, em todas as safras consideradas. O teor de ácido oléico foi superior no azeite da cv. Koroneiki nas três safras avaliadas.

### Referências

AGUILERA, M.P.; BELTRÁN, G.; ORTEGA, D.; FERNÁNDEZ, A.; JIMÉNEZ, A. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 387-391, 2005.

ALBA, J. Elaboracion del aceite de oliva virgen. In: Barranco, D., Fernandez-Escobar, R., & Rallo, L. (Eds.). **El cultivo del olivo**. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, p. 615 – 656.

ALLALOUT, A.; KRICHÈNE, D.; METHENNI, K.; TAAMALLI, A.; OUESLATI, 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.

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

BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; DAOUD 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.

BARRANCO, D. Variedades y patrones. In: BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. (Eds.). **El cultivo del olivo**. 5. ed. Córdoba: Mundi-prensa, 2004, p. 63 -92.

BELTRÁN, G. **Influencia del proceso de maduración del fruto de *Olea europaea* L. sobre las características físico-químicas de los aceites**. 2000. PhD Thesis. Facultad de CC. Experimentales, Universidad de Jaén.

BELTRÁN, G.; AGUILERA, M. P.; DEL RIO, C.; SANCHES, S.; MARTINES, L. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 89, p. 207 -215, 2005.

BELTRÁN, G.; AGUILERA, M.P.; DEL RIO, C., SANCHES, S.; MARTINES, L. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 633-639, 2010.

BENDINI, A.; CERRETANI, L.; CARRASCO-PANCORBO, A.; GOMEZ-CARAVACA, A. M.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNANDEZ-GUTIERREZ, A.; LERCKER, G. Phenolic molecules in virgin olive oils: A survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. **Molecules**, v. 12, p. 1679–1719, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, 30 de janeiro de 2012. Regulamento técnico dos azeites de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 23, p. 5-8, 01 fev. 2012. Seção 1.

CHEN, H.; ANGIULI, M.; FERRARI, C.; TOMBARI, E.; SALVETTI, G.; BRAMANTI, E. Tocopherol speciation as first screening for the assessment of extra virgin olive oil quality by reversed-phase high-performance liquid chromatography/fluorescence detector. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1423–1429, 2011.

COUTINHO, E.F.; WREGE, M.S.; JÚNIOR, C.R.; ALMEIDA, I.R.; STEINMETZ, S. *Clima*. In: COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. Eds. **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 125p. Coutinho,

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2ª ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 2006, 412p.

EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY (EEC). (2003). Characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. EEC Regulation 1989/2003. **Official Journal European Community**, 295, p. 57-66.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, R.; ROMERO-SEGURA, C.; SANZ, C.; SÁNCHEZ-ORTIZ, A.; PÉREZ, A. G. Role of polyphenol oxidase and peroxidase in shaping the phenolic profile of virgin olive oil. **Food Research International**, v. 44, p. 629–635, 2011.

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.

GRANADOS, J. A. **Enciclopèdia del aceite de oliva**. Editorial Planeta S. A., Barcelona, 2000.

ISSAOUI, M.; DABBOU, S.; BRAHMI, F.; HASSINE, K. B.; ELLOUZE, M. H.; HAMMAMI, M. Effect of extraction systems and cultivar on the quality of virgin olive

oils. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 44, p. 1713-1720, 2009.

IOOC. (2010). International Olive Council. **Method of Analysis: Spectrophotometric investigation in the ultraviolet**. COI/T20/Doc n<sup>o</sup>. 19/Rev. 3. Madrid. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/224-testing-methods>. Acesso em 22 de janeiro de 2011.

IOOC. (2011). International Olive Council. **Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils**. COI/T.15/NC No 3/Rev. 6. Madrid. Disponível em <http://www.internationaloliveoil.gov> . Acesso em 06 de fevereiro de 2012.

IOOC. (2013). **International Olive Council**. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>. Acesso em 06 de fevereiro de 2013.

KANDYLIS, P.; VEKIARI, A.S.; KANELLAKI, M.; GRATI KAMOUN, N.; MSALLEM, M.; KOURKOUTAS, Y. Comparative study of extra virgin olive oil flavor profile of Koroneiki variety (*Olea europaea* var. *Microcarpa alba*) cultivated in Greece and Tunisia during one period of harvesting. **LWT - Food Science and Technology**. v. 44, p. 1333 – 1341, 2011.

MATOS, L.C.; CUNHA, S.C.; AMARAL, J.S.; PEREIRA, J.A.; ANDRADE, P.B.; SEABRA, R.M.; OLIVEIRA, B.P.P. Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. **Food Chemistry**, v. 102, p. 406 – 414, 2007.

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

MORELLÓ, J. R.; ROMERO, M. P.; MOTILVA, M. J. Effect of the Maturation Process of the Olive Fruit on the Phenolic Fraction of Drupes and Oils from Arbequina, Farga, and Morrut Cultivars **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6002-6009, 2004.

OCAKOGLU, D.; TOKATLI, F.; OZEN, B.; KOREL, F. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years, **Food Chemistry**, v. 113, p. 401 - 410, 2009.

OUESLATI, I.; ANNIVA, C.; DAOUD, D.; TSIMIDOU, M. Z.; ZARROUK, M. Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. **Food Chemistry**, v. 112, p. 733–741, 2009.

PARDO, J. E.; CUESTA, M. A.; ALVARRUIZ, A. Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin “Aceite Campo de Montiel” (Ciudad Real, Spain). **Food Chemistry**, v. 100, p. 977-984, 2007.

PESTANA, V. R.; ZAMBAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B.; BRUSCATTO, M. H. Quality changes and tocopherols and  $\gamma$ -orizanol concentrations. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 85, p. 1013-1019, 2008.

POULIAREKOU, E.; BADEKA, A.; TASIOULA-MARGARI, M.; KONTAKOS, S.; LONGOBARDI, F.; KONTOMINAS, M.G. Characterization and classification of Western Greek olive oils according to cultivar and geographical origin based on volatile compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 7534 – 7542, 2011.

Rodriguez-Amaya, D. B., Kimura, M. **HarvestPlus handbook for carotenoids analysis** (first ed.). Washington, DC and Cali: International Food Policy Research Institute (IFPRI) and International Center for Tropical Agriculture (CIAT), 2004, 58 p.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

TOVAR, M. J, ROMERO, M. P., ALEGRE, S., GIRONA, J., MOTILVA, M.J. Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Olea europaea* L.) trees under deficit irrigation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p.1755-1763, 2003.

TURA, D.; GIGLIOTTI, C.; PEDO, S.; FAILLA, O.; BASSI, D.; SERRAIOCCO, A. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea* L.) and correlations with oxidative stability. **Scientia Horticulturae**, v. 12, p. 108–119, 2007.

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

ZAMBIAZI, R. C. **The role of endogenous lipid componentes on vegetable oil stability**.1997. 304f. Tese Doutorado. Winnipeg: University of Manitoba.

ZAMBIAZI, R. C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M. W.; MENDONC, C. B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **Boletim CEPPA**, v. 25(1), p. 111–120, 2007.

WREGGE, M. S.; COUTINHO, E. F.; STEINMETZ, S.; JÚNIOR, C. R.; ALMEIDA, I. R.; MATZENAUER, R.; RADIN, B. Zoneamento Agroclimático para Oliveira no Estado do Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 24 p. (Embrapa Clima Temperado. **Documentos**, 259).

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os resultados obtidos no presente trabalho são incipientes, contudo, pode-se observar que os azeites produzidos apresentaram índices compatíveis com azeite de oliva virgem e extra virgem, considerando a legislação brasileira e internacional. Além disso, os azeites produzidos na região da campanha do Rio Grande do Sul possuem fonte de compostos com atividade antioxidante, destacando-se os tocoferóis e os compostos fenólicos. Assim, de modo geral, os azeites de oliva, independentemente da cultivar, tem condições de atender o mercado brasileiro, contribuindo, no futuro, para redução das importações. Portanto, sugere-se que as pesquisas na área de olivicultura, em especial nas avaliações químicas, físicas e sensoriais dos azeites produzidos na região sul do Brasil, tenham continuidade, pois acreditamos que desta forma a cultura da oliveira poderá consolidar-se como uma alternativa viável para o agronegócio do país.