

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

**Dissertação**



**Composição química e estabilidade térmica de azeite de oliva (*Olea europaea* L.)  
produzido em Canguçu-RS**

**Alexia Almeida Da Rosa**

**Pelotas, 2021**

**Alexia Almeida Da Rosa**

**Composição química e estabilidade térmica de azeite de oliva (*Olea europaea L.*)  
produzido em Canguçu-RS**

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

Orientador: Rui Carlos Zambiasi

Coorientador (a): Deborah Murowaniecki Otero

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

R788c Rosa, Alexia Almeida Da

Composição química e estabilidade térmica de azeite de oliva (*Olea europea* L.) produzido em Canguçu-RS / Alexia Almeida Da Rosa ; Rui Carlos Zambiasi, orientador ; Deborah Murowaniecki Otero, coorientadora. — Pelotas, 2021.

59 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Azeite. 2. Compostos bioativos. 3. Índice de acidez. I. Zambiasi, Rui Carlos, orient. II. Otero, Deborah Murowaniecki, coorient. III. Título.

CDD : 664

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

**Alexia Almeida Da Rosa**

**Composição química e estabilidade térmica de azeite de oliva (*Olea europaea L.*)  
produzido em Canguçu-RS**

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

**Data da Defesa:** 24 de setembro de 2021

**Banca examinadora:**

Prof. Dr. Rui Carlos Zambiasi (Orientador). Doutor em Alimentos e Ciência Nutricional pela University of Manitoba – Canadá.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Quites Larrosa. Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gabriela da Rocha Lemos Mendes. Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Pelotas.

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Doring Krumreich. Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Dedico este trabalho a minha mãe.

## **Agradecimentos**

À Deus, pela vida e oportunidades concedidas.

À minha mãe, Inês, por toda a dedicação, incentivo e motivação para a realização e conclusão deste trabalho. Obrigada por tudo!

À minha família e amigos que estiveram presentes me incentivando na concretização dessa dissertação.

As minhas colegas e amigas do laboratório de Cromatografia, Tailise Zimmer, Bruna Böhmer, Fernanda Oliveira e Raquel Oliveira pelos momentos de grandes dificuldades e alegrias que compartilhamos.

Ao Alexandre Lorini, por toda sua dedicação e paciência na finalização deste trabalho, muita obrigada!

À minha coorientadora Deborah Otero, por sempre me orientar, incentivar e mesmo que às vezes eu estivesse relutante, nunca desistiu da concretização deste resultado. Você é incrível, obrigada!

À professora Elessandra Zaverze pelo incentivo e por toda paciência em meio a uma pandemia de COVID-19.

Ao meu orientador, Rui Carlos Zambiasi, por seu conhecimento, apoio na aquisição do material de estudo e orientação concedida.

A todos (as) colegas, amigos, professores e funcionários do DCTA que de alguma forma fizeram parte desta trajetória, contribuindo para meu crescimento.

À UFPel e ao Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela oportunidade de realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

À FAPERGS pelo apoio financeiro.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)*

## Resumo

ROSA, Alexia Almeida da. **Composição química e estabilidade térmica de azeite de oliva (*Olea europaea L.*) produzido em Canguçu-RS**. 2021, 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2021

O objetivo deste estudo foi avaliar a composição química de três amostras de azeites (Arbequina, Arbosana e Koroneiki) produzidas em Canguçu (RS), e avaliar a estabilidade térmica de um dos azeites (Koroneiki) submetido ao aquecimento (60, 100, 120, 150 e 180°C) pelo período de 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 minutos. As amostras do azeite foram colocadas em recipientes de vidro, os quais foram levados para estufa sem circulação de ar, e nos períodos pré determinados (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 120 minutos) foram removidos e analisados quanto ao índice de peróxido e teores de acidez, carotenoides, clorofilas, compostos fenólicos e de tocoferóis. Observou-se que o acréscimo de temperatura e tempo de aquecimento afetou consideravelmente os parâmetros de qualidade da amostra do azeite submetida ao aquecimento, havendo acréscimo nos teores de acidez, decréscimo no índice de peróxido, e perdas consideráveis foram evidenciadas no teor de carotenoides, clorofilas, compostos fenólicos e de tocoferóis. Os resultados indicam que ao expor as amostras ao aquecimento, acelera o processo de hidrólise e oxidação, produzindo perdas na qualidade do azeite de oliva. Estes dados contribuem com informações sobre os azeites oriundos do cultivo do Sul do Brasil, enfatizando que o aquecimento altera a estabilidade térmica do azeite e que ao utilizá-lo para fins culinários para o aquecimento de alimentos por longos períodos de tempo, ocorre uma degradação significativa de compostos bioativos, como dos carotenoides, compostos fenólicos e tocoferóis.

**Palavras-chave:** azeite; compostos bioativos; índice de acidez.

## Abstract

ROSA, Alexia Almeida da. **Chemical composition and thermal stability of olive oil (*Olea europaea* L.) produced in Canguçu-RS**. 2021, 59 f. Dissertation (Masters in Food Science and Technology) - Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas. 2021

The aim of this study was to evaluate the chemical composition of three olive oil samples (Arbequina, Arbosana and Koroneiki) produced in Canguçu (RS), and to evaluate the chemical stability of one of the olive oils (Koroneiki) submitted to heating (60, 100, 120, 150 and 180°C) for a period of two hours (0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 and 120 minutes). The samples of cultivar Koroneiki were placed in glass containers, which were taken to an oven without air circulation, and at predetermined periods (0, 10, 20, 40, 60, 80 and 120 minutes) samples were removed and analyzed for peroxide value and acidity, carotenoids, chlorophylls, phenolic compounds and tocopherols. It was observed that the increase in temperature and heating time considerably affected the quality parameters of the oil sample subjected to heating, with increases in acidity, decrease in the peroxide value, and considerable losses were evidenced in the content of carotenoids, chlorophylls, phenolic compounds and tocopherols. The results indicate that exposing the samples to heating accelerates the hydrolysis and oxidation process, producing losses in the quality of the olive oil. These data contribute information on oils from the cultivation of southern Brazil, emphasizing that heating changes the thermal stability of the oil and that when using it for culinary purposes for heating food and being exposed to long periods of time, it occurs a significant degradation of bioactive compounds, such as carotenoids, phenolic compounds and tocopherols.

**Keywords:** acidity index; bioactive compounds; olive oil.

## Lista de Figuras

Figura 1	Pomar de oliveiras ( <i>Olea europaea</i> L.).....	4
Figura 2	Frutos da cultivar Arbequina.....	5
Figura 3	Frutos da cultivar Arbosana.....	6
Figura 4	Frutos da cultivar Coratina.....	6
Figura 5	Frutos da cultivar Frontoio.....	7
Figura 6	Frutos da cultivar Koroneiki.....	7
Figura 7	Frutos da cultivar Picual.....	8
Figura 8	Fluxograma do processo de extração de azeite de oliva.....	10

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Índices de qualidade de amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS).....	20
Tabela 2	Conteúdo de tocoferóis (mg. kg <sup>-1</sup> ) em amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS).....	21
Tabela 3	Conteúdo de compostos fenólicos (mg. kg <sup>-1</sup> ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS).....	24
Tabela 4	Conteúdo de pigmentos (mg. kg <sup>-1</sup> ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS).....	25
Tabela 5	Dados dos índices de qualidade das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.....	27
Tabela 6	Dados dos índices de qualidade das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), durante o período de aquecimento.....	28
Tabela 7	Dados do conteúdo de tocoferóis (mg. kg <sup>-1</sup> ) das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.....	29
Tabela 8	Dados do conteúdo de tocoferóis (mg. kg <sup>-1</sup> ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), durante o período de aquecimento.	30

Tabela 9	Dados do conteúdo decompostos fenólicos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.....	32
Tabela 10	Dados do conteúdo dos compostos fenólicos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes períodos de tempo de aquecimento.....	33
Tabela 11	Dados do conteúdo de pigmentos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.....	35
Tabela 12	Dados do conteúdo de pigmentos ( $\text{mg. Kg}^{-1}$ ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes tempos de aquecimento.....	36

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Objetivos</b> .....	3
2.1 Objetivo geral .....	3
2.2 Objetivos específicos .....	3
<b>3. Revisão bibliográfica</b> .....	4
3.1 A oliveira .....	4
3.1.2 Cultivares de importância nacional .....	5
3.2 Azeite de oliva .....	8
3.2.1 Extração de azeite de oliva.....	9
3.2.2 Consumo de azeite e importância econômica .....	11
3.2.3 Tipos de azeite .....	12
3.2.4 Composição e estabilidade do azeite de oliva.....	13
3.2.5 Fatores que alteram a qualidade .....	14
<b>4. Materiais e Métodos</b> .....	16
4.1 Amostras de azeites .....	16
4.2 Aquecimento do azeite .....	16
4.3 Análises .....	16
4.4 Análise Estatística .....	18
<b>5. Resultados e discussão</b> .....	19
5.1 Composição química das amostras de azeites de oliva .....	19
5.1.1 Índices de qualidade.....	19
5.1.2 Compostos bioativos .....	20
5.2 Avaliação do azeite de oliva submetido ao aquecimento .....	26
5.2.1 Índices de qualidade.....	26
5.2.2 Compostos bioativos .....	29
<b>6. Conclusões</b> .....	38
<b>Referências</b> .....	39

## 1. Introdução

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta frutífera, sendo uma das mais antigas cultivadas pelo homem, juntamente com o trigo e a videira, onde seu cultivo remonta a mais de 6.000 anos. Atualmente é cultivada em várias regiões do mundo, com produção concentrada em países da União Europeia. Esta planta apresenta grande importância econômica por produzir azeitonas, que constituem a matéria-prima para a produção de conservas e de azeite (COUTINHO et al., 2009).

O azeite é o produto de maior valor e significância da oliveira, o qual pode receber diversas classificações, dependendo da origem, da variedade do fruto e do grau de prensagem. O azeite de oliva apresenta maior valor no seu estado bruto, devido às suas características físico químicas, cor, sabor e aroma (ANTONIASSI et al., 1998). Os azeites de oliva classificados como virgem e extra virgem são obtidos por prensagem a frio do fruto da oliveira, o que permite um melhor aproveitamento de sua composição nutricional (MÉNDEZ; FALQUÉ, 2007).

O azeite de oliva é muito utilizado desde as populações mediterrâneas, e seu consumo, devido à presença de compostos bioativos, tem sido associado com a prevenção de várias doenças (SÁNCHEZ-MUNIZ; BASTIDA, 2006). É um alimento considerado funcional por conter alto conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados, predominando o ácido oleico (C18:1;  $\omega$ 9), e quantidades apreciáveis de ácidos graxos essenciais, como do ácido linoleico (C18:2;  $\omega$ 6), sendo ambos associados com o equilíbrio das frações do colesterol LDL e HDL (ALLOUCHE et al., 2007).

Entre os compostos antioxidantes naturais, os tocoferóis, o  $\beta$ -caroteno e os compostos fenólicos têm um papel chave na prevenção da oxidação. A presença e manutenção de compostos de ação antioxidante nos azeites de oliva é de suma importância, tanto do ponto de vista da ciência e tecnologia de alimentos quanto da área da saúde (CICERALE et al., 2013). Além destes, os fitosteróis e as clorofilas também exercem efeito sobre a qualidade e estabilidade dos azeites de oliva (PENS, 2010).

A qualidade do azeite está relacionada com fatores genéticos e ambientais. Variações na temperatura e disponibilidade de água durante o cultivo, principalmente durante o crescimento e maturação, exercem forte influência sobre o tamanho dos frutos, taxa de

acúmulo de óleo e na composição do azeite que afeta a relação de ácidos graxos insaturados/saturados (INGLESE et al., 2011).

As propriedades nutricionais do azeite de oliva, além das sensoriais (aroma, sabor e cor característicos) são capazes de distingui-lo de outros óleos vegetais comestíveis. Portanto, a manutenção dessas propriedades é de fundamental preocupação para a indústria e consumidores de azeite (MORELLO et al., 2004).

Considerando a importância do cultivo de oliveiras, este trabalho visa obter dados sobre a composição química e de azeites de oliva, cultivares Arbequina, Arbosana, Koroneiki, cultivadas na região oleícola de Canguçu-RS, e avaliar a estabilidade térmica do azeite da cultivar Koroneiki, quando submetido a diferentes condições de temperaturas.

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

Verificar a composição química de três variedades de azeite de oliva extra virgem produzido em Canguçu-RS e avaliar a estabilidade térmica de um dos azeites de oliva (cultivar Koroneiki) quando submetido ao aquecimento em diferentes temperaturas e tempos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar os índices de qualidade, acidez e índice de peróxidos, de azeites de oliva oriundos das cultivares Arbequina, Arbosana e Koroneiki, produzidos em Canguçu (RS).
- Avaliar a composição química de azeites de oliva oriundos das cultivares Arbequina, Arbosana e Koroneiki, produzidos em Canguçu (RS), em relação ao conteúdo de clorofilas, carotenoides, compostos fenólicos e tocoferóis.
- Avaliar os índices de qualidade (acidez e índice de peróxido) na amostragem de azeite de oliva da cultivar Koroneiki, produzido em Canguçu (RS), submetida às diferentes condições de temperatura (60, 100, 120, 150 e 180°C) e tempo (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 120 minutos).
- Avaliar a estabilidade de pigmentos (clorofilas e carotenoides) e de tocoferóis e compostos fenólicos na amostra de azeite de oliva da cultivar Koroneiki, produzido em Canguçu (RS), submetida às diferentes condições de temperatura (60, 100, 120, 150 e 180°C) e tempo (0, 10, 20, 40, 60, 80 e 120 minutos).

### 3. Revisão bibliográfica

#### 3.1 A oliveira

Pertencente à família botânica Oleaceae, a oliveira (*Olea europaea* L.) é uma das espécies frutíferas mais antigas cultivadas pelo homem, apresentando importância através de seus frutos que originam seu principal produto, o azeite de oliva (COUTINHO et al., 2009).

É uma planta, dicotiledônea de porte mediano onde raras vezes pode atingir 10 metros de altura (Figura 1). Seu tronco apresenta forma curva, por vezes tortuosa e uma copa esférica com folhas lanceoladas de coloração verde-acinzentadas (JESUS, 2013). O fruto, denominado azeitona, é uma drupa ovoide ou sub-ovoide com endocarpo (caroço), mesocarpo carnudo e suculento e com coloração variável de acordo com o grau de maturação.



Figura 1: Pomar de oliveiras (*Olea europaea* L.)  
Fonte: Globo Rural

A oliveira tem sua origem no Mediterrâneo, e no século XV com as viagens oceânicas estendeu-se seu cultivo ao Sul da África, Japão, China, Austrália e outros países onde o clima é favorável. Na América seu cultivo está presente no México, Estados Unidos, Peru, Chile, Argentina e Brasil (COUTINHO, 2009).

No Brasil, a introdução da cultura deu-se através de imigrantes europeus e atualmente está presente nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Neste último estado o cultivo tem sido expressivo, produzindo azeitonas de mesa e azeites de excelente qualidade reconhecidos por prêmios internacionais (COUTINHO et al., 2009, EPAMIG, 2006).

### 3.1.2 Cultivares de importância nacional

Existem diversas cultivares de oliveiras que produzem azeitonas com diferentes características de tamanhos, formas, firmeza e relação polpa/caroço. Algumas cultivares são indicadas para a produção de azeite e outras para a produção de azeitonas de mesa, podendo ainda apresentarem dupla aptidão. As cultivares que apresentam importância nacional, principalmente para a produção de azeite de oliva são: Coratina, Frontoio, Koroneiki e Picual (COUTINHO et al., 2009). No Rio Grande do Sul, incluindo Canguçu, se destacam as cultivares Arbequina, Arbosana e Koroneiki.

#### **Arbequina**

É uma cultivar originária da Espanha que apresenta considerável resistência ao frio e suscetibilidade à clorose férrica em terrenos alcalinos. O fruto tem baixo peso, apresentando forma ovoide e simétrico (Figura 2). É muito apreciada pela produção precoce, elevada produtividade, bom rendimento de extração e excelente qualidade do azeite produzido, porém com menor estabilidade (EMBRAPA, 2012).



Figura 2: Frutos da cultivar Arbequina.

Fonte: Coutinho (2009)

### **Arbosana**

Cultivar com características agronômicas similares a cultivar Arbequina, sendo a colheita realizada, nas condições do Rio Grande do Sul, cerca de 21 dias após à Arbequina. Apresenta produtividade elevada e pouco alternante sendo susceptível à tuberculose e repilo, e tolerante à verticilose. Os frutos são de pequeno tamanho (Figura 3), obtendo-se rendimento extrativo de aproximadamente 20%, sendo que o azeite possui baixo conteúdo de ácido linoleico(EMBRAPA, 2016).



Figura 3: Frutos da cultivar Arbosana.

Fonte: Coutinho (2009)

### **Coratina**

Cultivar mais precoce que se adapta bem a climas frios e quentes, suportando geada e condições de salinidade alta, como nos litorais, porém sensível a fuligem e a cárie. Seus frutos variam de tamanho, mas em geral são grandes e quase simétricos (Figura 4). O azeite produzido tem baixa acidez e alto rendimento em óleo, principalmente em estágios mais avançados de maturação, com alto teor de ácido oleico (OLIVEPÉDIA, 2018; COUTINHO, 2009).



Figura 4: Frutos da cultivar Coratina.

Fonte: Olivepédia(2018)

### Frontoio

Com origem italiana, essa cultivar tem elevada produtividade, sendo também apreciada pela sua capacidade de adaptação a diferentes condições de clima e solo. Os frutos (Figura 5) são de tamanho médio (2,5g) e o conteúdo de ácidos graxos é de médio a elevado. O azeite obtido é muito apreciado pelas suas características sensoriais e estabilidade (COUTINHO, 2009).



Figura 5:Frutos da cultivar Frontoio.

Fonte: Coutinho (2009)

### Koroneiki

Originária da Grécia é uma cultivar resistente à seca, mas susceptível ao frio, com produtividade elevada e constante. Os frutos (Figura 6) são de tamanho pequeno (1,1g em média) com elevado conteúdo de azeite, o qual é muito apreciado por suas características sensoriais, estabilidade química e alto conteúdo de ácido oleico (EMBRAPA, 2016).



Figura 6: Frutos da cultivar Koroneiki.

Fonte: Coutinho (2009)

## Picual

A cultivar Picual é também conhecida como: Andaluza, Lopereño, Marteño, Nevadillo e Picuá. Sendo considerada rústica por sua adaptação a diversas condições de clima e solo, com particular tolerância ao frio, salinidade e excesso de umidade do solo. No entanto, é sensível à seca e a solos alcalinos. É muito apreciada pela constante e elevada produtividade e rendimento em óleo elevado. Apresenta um fruto de peso médio (2 a 4g) e sua maturação ocorre desde março até o início de abril. O azeite é de qualidade mediana, porém destaca-se pela alta estabilidade e elevado conteúdo de ácido oleico (EMBRAPA, 2016).



Figura 7: Frutos da cultivar Picual.

Fonte: Coutinho (2009)

### 3.2 Azeite de oliva

Sendo obtido através do fruto da oliveira, o azeite passa por processos de extração específicos objetivando a qualidade final, com características sensoriais e nutricionais próprias. Esses processos conferem classificações diferentes aos produtos (como virgem e extra virgem), sendo regulamentados por legislação específica (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020).

O azeite de oliva é um dos óleos vegetais comestíveis mais comercializados mundialmente, sendo seu consumo um dos mais antigos e estando relacionado à Dieta do Mediterrâneo, onde a população, além do consumo desse óleo, acrescenta hábitos saudáveis de vida (FOSCOLOU et al., 2018; GARCIA-OLIVEIRA et al., 2021)

Em sua composição encontram-se ácidos graxos monoinsaturados e compostos fenólicos, os quais possuem a capacidade de prevenir e/ou retardar várias patologias,

incluindo o câncer, doenças cardíacas, envelhecimento, estresse oxidativo e Alzheimer (FOSCOLOU et al., 2018; ROMÁN, et al., 2019; SÁNCHEZ-VILLEGAS et al., 2013; PÉREZ-RODRIGO et al., 2015; URPI-SARDA et al., 2012).

### **3.2.1 Extração de azeite de oliva**

A produção do azeite envolve várias etapas objetivando sempre a qualidade do produto final, as quais vão desde a colheita dos frutos, passando pela extração até o envase. Estima-se que a qualidade de um azeite depende em 30% do sistema de extração, 30% da época da colheita, 20% do cultivar, 10% do tempo de estocagem, 5% do sistema de transporte e 5% do método de colheita (BERTONCINI, 2012).

Os frutos destinados à extração devem ser colhidos pouco antes da completa maturação, para que se possa atingir os índices físico-químicos e as características sensoriais desejadas, sendo observadas as condições dos frutos, pois estes se estiverem sido atacados por fungos e/ou doenças, produzirão um azeite com sabor e odor mais acentuados, que dificilmente será possível modificar nos demais processos (JORGE, 2010).

Segundo Méndez (2007), o melhor método de extração do azeite de oliva para a manutenção das propriedades nutricionais, seria a prensagem a frio, porém este é um método que apresenta baixo rendimento. Para otimizar o processo, a prensagem a frio vem sendo substituída por métodos mais modernos que utilizam variações de temperaturas moderadas e de pressão, ou de moagem com posterior centrifugação, garantindo qualidade química, sensorial e de rendimento (MÁXIMO, 2013).

O processo básico de extração do azeite de oliva é apresentado no fluxograma a seguir (Figura 8):

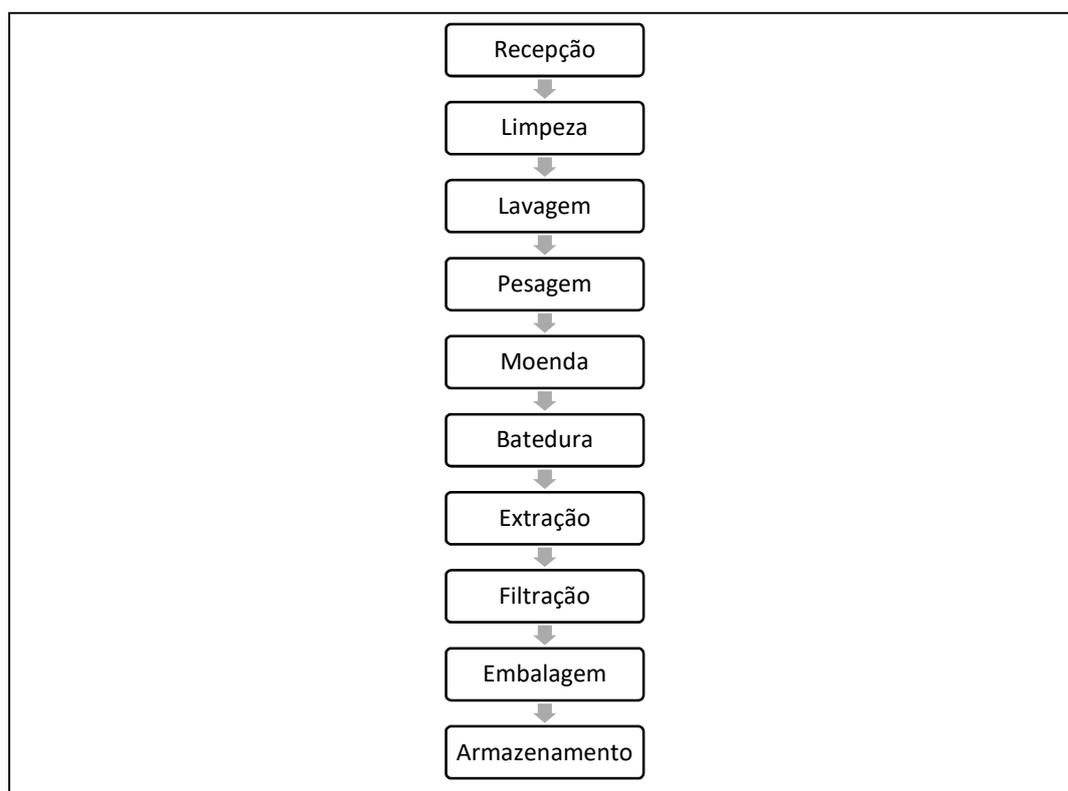


Figura 8: Fluxograma do processo de extração de azeite de oliva.

A colheita é feita de forma gradual de acordo com o grau de maturação das azeitonas, podendo ser realizada de forma manual ou mecânica, sendo esta última a mais rentável e vantajosa. Os frutos colhidos são transportados rapidamente até o local de processamento (lagar), não podendo exceder 24 horas neste local, afim de que os frutos não sejam danificados ou fermentados (ALVES, 2013).

No lagar ocorre a seleção dos frutos, visando verificar a sanidade, a cultivar e o estado de maturação para assegurar a qualidade do azeite. Aqueles frutos que não apresentam danos físicos e estão firmes seguem para a etapa de limpeza, onde as impurezas, como folhas e ramos são retiradas. Posteriormente estes frutos são lavados em água potável, submetidos à pesagem e encaminhados ao moinho (CAMPOS, 2013).

No moinho os frutos passam pela trituração utilizando martelos mecânicos, para haver a destruição dos tecidos da azeitona promovendo a liberação das partículas de óleo, formando uma massa única (VOSSEM, 2007).

A massa formada passa por um batimento contínuo e lento, com suave aquecimento (25 a 30°C), sendo que temperaturas superiores durante o processo de extração podem

interferir na qualidade final. Este processo de batidura é importante para haver a uniformização de toda a massa e promover a junção de gotículas menores de azeite em gotas maiores, favorecendo a etapa posterior, que é a separação do azeite e da água que foi utilizada na lavagem (JULIO, 2015).

Para a extração do azeite propriamente dita, é necessário realizar o processo de centrifugação. Nesta etapa sujeita-se a massa a um movimento de rotação em alta velocidade, provocando a separação entre o azeite, a água e o bagaço de azeitona, sendo posteriormente o azeite filtrado para retirada de partículas que restaram no processamento (MÁXIMO, 2013).

O azeite pronto deve ser envasado e armazenado, após passar por um processo de pré armazenamento em temperatura em torno de 15°C para haver a decantação completa de sólidos restantes da extração (CAMPOS, 2013).

### **3.2.2 Consumo de azeite e importância econômica**

A cada safra o consumo de azeite vem aumentando significativamente no mundo. Com as pesquisas recentes e acesso da população à informações, mais se conhece sobre a importância do aumento de um óleo comestível rico em ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados, e alta concentração de compostos fenólicos na alimentação diária, como o azeite de oliva (BECCARIA et al., 2016).

Segundo estudos ao longo dos anos, a incorporação do azeite de oliva à dieta, seguindo hábitos saudáveis de vida, está correlacionado a um menor risco de doenças, principalmente as cardiovasculares e outras doenças crônicas, aumentando a expectativa de vida da população (CICERALE et al., 2013).

As importações de azeites de oliva virgem e extra virgem no Brasil atingiram o número mais alto da história. Segundo o IOC (2020), comparado a última safra houve um aumento de 12% nas importações, atingindo cerca de 86.000 toneladas.

O Brasil ocupa a terceira posição mundial na importação, com 8%, estando atrás dos Estados Unidos, com 36% e da União Europeia, com 15%, e estes três representando 59% das importações mundiais (IOC, 2020).

### 3.2.3 Tipos de azeite

Os azeites de oliva são classificados por padrões oficiais definidos pela Instrução Normativa Nº 1, de 30 de janeiro de 2012 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Os parâmetros de classificação levam em conta a matéria-prima, processos de obtenção, percentual de acidez e tecnologia aplicada para extração, e enquadram estes em diferentes grupos (BRASIL, 2012):

- **Azeite virgem de oliva:** Extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto; o azeite assim obtido pode ainda, ser submetido aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração; o produto deve apresentar acidez livre de no máximo 2,0%, expressa em ácido oleico.
- **Azeite virgem de oliva extra:** Extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto; o azeite assim obtido pode ainda, ser submetido aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração, porém o produto deve apresentar acidez livre de no máximo 0,8%, expressa em ácido oleico.
- **Azeite virgem de oliva lampante:** Extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto; o azeite assim obtido pode ainda, ser submetido aos tratamentos de lavagem, decantação, centrifugação e filtração; porém quando o produto apresentar acidez maior que 2,0%, expressa em ácido oleico. Este azeite não pode ser destinado diretamente à alimentação humana, mas poderá ser refinado para seu enquadramento no grupo azeite de oliva ou no grupo azeite de oliva refinado, ou, ainda, destinado a outros fins que não seja para alimentação humana.

- Azeite de oliva refinado: produto proveniente de azeite de oliva do grupo azeite de oliva virgem mediante técnicas de refino que não provoquem alteração na estrutura glicéridica inicial, com acidez livre de no máximo 0,3%, expressa em ácido oleico.
- Azeite de oliva: produto constituído pela mistura de óleo de bagaço de oliva refinado com azeite de oliva virgem ou com azeite de oliva extra virgem, com acidez livre de no máximo 1,0%, expressa em ácido oleico.

### 3.2.4 Composição e estabilidade do azeite de oliva

O azeite de oliva é um óleo vegetal composto majoritariamente (até 99 % do peso total) por triacilgliceróis, que são ésteres resultantes da união de uma molécula de glicerol e três ácidos graxos livres; por ácidos graxos livres; além de uma fração minoritária formada por hidrocarbonetos, álcoois alifáticos, ceras, esteróis, compostos fenólicos, tocoferóis, pigmentos e compostos voláteis, os quais desempenham um importante papel na qualidade, autenticidade e na rastreabilidade do azeite de oliva (GARCÍA-GONZALEZ, 2017).

O ácido oleico (C18:1) é o ácido graxo mais abundante no azeite, seguido pelo palmítico (C16:1), linoleico (C18:2) e esteárico (C18:0), os quais representam cerca de 88% da composição total de ácidos graxos (CHIANG et al., 2017).

Os hidrocarbonetos presentes em maior abundância são o esqualeno e  $\beta$ -caroteno, sendo o primeiro representando cerca de 40% da fração minoritária. O esqualeno é um hidrocarboneto insaturado enquanto o  $\beta$ -caroteno é um dos carotenoides, precursor da vitamina A, que correspondem a cor e a estabilidade do azeite de oliva (CAYUELA e GARCÍA, 2018).

A luteína, outro importante carotenoide, juntamente com o  $\beta$ -caroteno são os responsáveis pela cor amarelada dos azeites, estando também associados com a sua estabilidade. A cor verde-escura a verde escuro negro, são conferidas pelo pigmento clorofila, sendo os principais componentes a feofitina-a e feofitina-b, e são considerados componentes pró oxidantes dos azeites, principalmente da foto oxidação (ARRIZABALAGA-LARRAÑAGA et al., 2021).

As concentrações dos diferentes álcoois alifáticos são dependentes da cultivar da azeitonabem como da região de cultivo, podendo ser utilizados como critério de distinção dos tipos variados de azeite (CHIANG et al., 2017). As ceras são ligações de ésteres de ácidos graxos e álcoois de cadeia longa de elevado ponto de fusão, presentes na casca dos frutos, atuando como redutor da perda de água. A quantidade de ceras está diretamente relacionada à acidez do azeite, que quanto mais elevada maior é a quantidade de ceras, devido à esterificação de álcoois alifáticos com ácidos graxos (HADJ-TAIEB et al., 2012).

Os esteróis são os componentes que permitem identificar a origem e a pureza do azeite, podendo apresentar-se esterificados aos ácidos graxos ou na forma livre. Estão relacionados com a acidez livre presente no azeite, sendo altas porcentagens de acidez correspondentes a altos conteúdos de esteróis. O decréscimo no conteúdo de esteróis durante a armazenagem tem sido correlacionado ao aumento do índice de peróxido, importante indicador de qualidade do azeite (LUKIĆ et al., 2013).

Os tocoferóis são os precursores da vitamina E, sendo responsáveis por atuar na estabilidade do azeite devido as suas propriedades antioxidantes. (CAYUELA e GARCÍA, 2017). Os compostos fenólicos são considerados os principais antioxidantes do azeite, estão relacionados aos atributos sensoriais, sendo complexos e de concentração variável por fatores intrínsecos e extrínsecos (HADJ-TAIEB et al., 2012).

Os compostos voláteis do azeite de oliva são constituídos por aldeídos, ésteres, álcoois e cetonas que originam um aroma equilibrado com características sensoriais verdes e frutados, estando presentes nos azeites de qualidade superior. Em azeites de qualidade inferior, muitos desses compostos sofrem oxidação química podendo conferir odor desagradável ao produto final (LUKIĆ et al., 2013).

### **3.2.5 Fatores que alteram a qualidade do azeite de oliva**

Os componentes do azeite de oliva podem alterar-se de acordo com variáveis climáticas, agronômicas, tecnológicas e até mesmo com fatores genéticos de acordo com a cultivar (JORGE, 2010).

A qualidade do azeite diferencia-se geneticamente, pois as cultivares apresentam variações na época de cultivo, adaptabilidade climática, tamanho de frutos e padrão de amadurecimento. Genótipos diferentes resultam em taxas de acúmulo de óleo diferente, assim como alteram a composição de ácidos graxos, compostos fenólicos e coloração,

sendo componentes fontes para a diferenciação sensorial (VOSSEN, 2005; INGLESE et al.,2011).

Durante o processo de colheita e extração do azeite, principalmente na etapa de moagem e batadura, deve-se observar a temperatura, o tempo e a disponibilidade de oxigênio para que reações enzimáticas não alterem a composição de compostos fenólicos e voláteis (VOSSEN, 2005). Estas reações são realizadas por enzimas como polifenol oxidases, peroxidases e lipoxigenases, alterando as propriedades nutricionais e sensoriais do azeite.

Em relação aos fatores agronômicos, a oliveira é uma planta muito suscetível a pragas e doenças, alterando a qualidade final do produto. Segundo Ramalheiro (2009), doenças como a gafa (*Colletotrichum spp*) e olho de pavão (*Cycloconium oleaginum*), acarretam em uma alta acidez e sabor desagradável, assim como a moscada azeitona (*Bactrocera oleae*) que é a principal praga da cultura que origina elevados índices de peróxidos (MÁXIMO, 2013).

## **4. Materiais e Métodos**

### **4.1 Amostras de azeites**

Para a realização dos experimentos foram adquiridas 3 amostras de azeite de oliva extra virgem em comércio local, produzido em Canguçu-RS na safra 2019, oriundos das cultivares Arbequina, Arbosana e Koroneiki. Foram adquiridos duas embalagens de 500 mL, em vidro âmbar, total de 1 L, de cada um dos azeites.

Todas as amostras de azeite foram mantidas nas embalagens originais à temperatura ambiente até o momento das análises. Os azeites das três cultivares foram avaliadas em relação aos índices de qualidade (acidez e índice de peróxidos) e composição química (conteúdo de tocoferóis, carotenoides, clorofilas e compostos fenólicos).

O azeite da cultivar Koroneiki foi submetido ao aquecimento em diferentes temperaturas pelo período de duas horas. Foi escolhido este azeite para avaliar a estabilidade térmica por ser o azeite mais produzido em Canguçu (RS).

### **4.2 Aquecimento do azeite**

Amostras do azeite de oliva da cultivar Koroneiki foram utilizadas para realizar a avaliação de estabilidade quando submetido ao aquecimento. Para isto separou-se alíquotas de 50 mL de azeite, que foram colocadas em béqueres de 100 mL, os quais foram submetidos ao aquecimento em diferentes temperaturas (60, 100, 120, 150 e 180°C) em fogão. Ao atingirem as temperaturas determinadas, foram transferidos para estufa sem circulação de ar, mantendo as temperaturas constantes por períodos de tempo pré-estabelecidos (0, 10, 20, 40, 60 80, 100 e 120 minutos). Alíquotas foram removidas nos tempos pré-determinados e deixadas em repouso para que atingissem naturalmente a temperatura ambiente antes de realizar as análises.

### **4.3 Análises**

As análises foram realizadas em triplicata, com as três amostras de azeite de oliva extra virgens das cultivares Arbequina, Koroneiki e Arbosana, e com as amostras de azeite da cultivar Koroneiki submetidos ao aquecimento nas diferentes temperaturas e tempos.

- **Índice de Acidez**

Para determinar a acidez das amostras foi utilizado o método titulométrico AOCS Ca5a-40 (2017), e os resultados foram expressos em % de ácido oleico.

- **Índice de peróxidos**

Para avaliar o índice de peróxidos dos azeites, utilizou-se o método titulométrico AOCS Cd8-53 (2017), e os resultados foram expressos em meq.O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de amostra.

- **Teor de tocoferóis**

As análises dos tocoferóis foram realizadas de acordo com o método descrito por Pestana et al., (2008) com pequenas modificações.

Foram pesados aproximadamente 0,250 g de azeite e diluídos com isopropanol HPLC até completar o volume de 5 ml. Realizou-se a centrifugação por 6 minutos a 9000 g em micro centrífuga (NT800 Nova Técnica), transferindo-se a fase orgânica para frasco com capacidade de 1,5 mL. Foram injetados entre 5 µl e 10 µl de amostra no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC (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-10ASVP e amostrador automático SIL-10AF. A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa, Shim-Pak CLC-ODS (3,9 cm x 150 mm x 4 µm), tendo como fase estacionária grupamentos octadesil. O detector de fluorescência delimitado com excitação de 290 nm e emissão a 330 nm foi utilizado. Utilizou-se como fase móvel inicial metanol:acetronila na proporção (90:10) por 10 minutos; alterando-se linearmente para metanol: acetonitrila 30:70, (v/v) até atingir 12 minutos; e retornando linearmente para a fase móvel inicial até 14 minutos de análise, sendo o fluxo mantido constante em 0,8 mL min<sup>-1</sup>. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software Class-VP. Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curvas de calibração externa do α-, (β+γ) - e δ- tocoferol. Os resultados foram expressos em mg.kg<sup>-1</sup>.

- **Teor de compostos fenólicos**

Para a determinação dos compostos fenólicos nas amostras foi realizada a extração de acordo com o método descrito por Montedoro et al. (1992) com modificações.

Foram pesados 2,50 g de azeite e adicionados 2,0 ml de metanol: água (70:30) e 2,0 ml de hexano. A amostra foi agitada vigorosamente por 1,0 minuto e após mantida sob agitação constante por 20 minutos. Após este período realizou-se a centrifugação das amostras a 7000 g a 4,0 °C por 10 minutos em centrífuga Eppendorf 5430R. A fase hidroalcoólica foi coletada e novamente centrifugada a 7000 g a 4,0 °C por 4 minutos, após transferida para balão volumétrico de 2,0 ml e avolumada com metanol: água (70:30).

O total de compostos fenólicos foi determinado pela reação colorimétrica descrita por Gambacorta et al. (2010). A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, utilizando o comprimento de onda 750 nm. Para a quantificação, foi construída uma curva de concentração padrão de ácido gálico, sendo os resultados expressos em  $\text{mg.kg}^{-1}$  de ácido gálico.

- **Teor de Carotenoides e clorofilas**

Para a análise do total de carotenóides e clorofilas utilizou-se a metodologia descrita por Zambiasi (1997), a qual baseia-se na pesagem de 2,50 g de amostra, avolumada com solução de isooctano:etanol (3:1) em balão volumétrico de 10 ml. Realizou-se a leitura dos extratos em espectrofotômetro Jenway 6705 UV/VIS, utilizando-se os comprimentos de onda de 450 nm para carotenoides e 630 e 670 nm para clorofilas totais. Os resultados foram expressos em  $\text{mg. Kg}^{-1}$  de  $\beta$ -caroteno para carotenoides e  $\text{mg. kg}^{-1}$  para clorofilas.

#### **4.4 Análise Estatística**

Foi utilizado um delineamento em esquema fatorial 5x8, onde foram testadas 5 temperaturas de aquecimento e 8 tempos de exposição. Primeiramente foi realizado o teste de normalidade da amostra utilizando Shapiro-Wilk com 5% de significância, e comprovado a normalidade dos dados, passou-se para os testes de diferença de média. Para determinar se houve diferença estatística entre as amostras e interação entre os fatores foi realizada análise de variância com 5% de probabilidade. Para determinar as diferenças de médias foi utilizado o teste de Scott-Knott com 5% de significância.

## 5. Resultados e discussão

### 5.1 Composição química das amostras de azeites de oliva

#### 5.1.1 Índices de qualidade

O azeite de oliva passa por diversas análises químicas para a definição dos parâmetros de identidade e qualidade (SILVA, 2021). O índice de qualidade do azeite de oliva é composto por análises como de acidez (expressos em % ácido oleico) e índice de peróxidos (expressos em meq.O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>), ambos regulamentados por norma padrão de classificação (BRASIL, 2012).

A acidez é um dos fatores de maior influência na qualidade do azeite de oliva. Este indicador avalia o estado de conservação do azeite relativo ao grau de deterioração, principalmente pela hidrólise dos triacilgliceróis. Ao ser submetido à temperatura e/ou luz, os triacilgliceróis tem sua decomposição acelerada, o que ocasiona a formação de ácidos graxos livres, que no caso de azeite de oliva é expresso em ácido oleico (BRUSCATTO, et al. 2021).

O índice de peróxidos é um indicador do grau de oxidação do azeite de oliva. Os peróxidos orgânicos formados a partir da oxidação dos ácidos graxos insaturados, devido a ação do oxigênio, atuam sobre o iodeto de potássio, fornecendo a medida de conteúdo de oxigênio reativo (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020). Este índice é expresso em meq. O<sub>2</sub>. kg<sup>-1</sup>, sendo o limite considerado próprio para o consumo humano de 20 meq. De O<sub>2</sub> ativo. kg<sup>-1</sup> (MORETTO; FETT, 1998).

Tanto o teor de acidez quanto de peróxido podem sofrer variações, pois dependem de fatores como a região de cultivo, clima, processo de produção e armazenamento de azeite, dentre outros (JORGE, 2010).

De acordo com a tabela 1 todas as cultivares se enquadram na classificação como azeites extra virgem por apresentarem valores de acidez inferiores a 0,8% (BRASIL, 2012), sendo encontrados os maiores valores para os azeites oriundos da variedade Arbequina (0,491%) e os menores para as variedades Arbosana e Koroneiki (0,441%).

Ao comparar os índices de peróxidos, percebeu-se que não houve diferença significativa entre os diferentes azeites, porém, foi observado que todas as amostras se encontraram fora do limite de tolerância para a categoria azeite extra virgem, que é de 20

meq. O<sub>2</sub>. Kg<sup>-1</sup>. Alterações nos índices podem ser justificadas pelo maior tempo de exposição dos frutos antes da extração do azeite, por injúria causada aos frutos entre a colheita e o processamento ou pela oxidação na própria embalagem (CARDOSO et al., 2010).

Em estudo realizado por Bruscatto (2017) os índices de peróxidos relatados também foram superiores aos limites de tolerância, Arbequina apresentou 36,23 meq. O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup> e Koroneiki 21,60 meq. O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>, o que é semelhante a este estudo.

Borges et al.(2017), ao compararem o azeite de oliva extraído da cultivar Arbequina produzido em duas regiões geográficas, Brasil e Espanha, observaram diferença entre a acidez, contudo todas as amostras apresentaram boa qualidade atendendo ao padrão internacional.

Crizel et al.(2020), em estudo semelhante realizado na região de Pelotas-RS, ao investigarem seis diferentes cultivares de azeite de oliva, também identificaram variações nos índices de peróxido e acidez de acordo com a cultivar analisada.

**Tabela 1.** Índices de qualidade de amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS)

Cultivar	Acidez (% ácido Oleico)	Índice de Peróxido (meq. O <sub>2</sub> . kg <sup>-1</sup> )
Arbequina	0,491 <sup>a</sup>	28,250 <sup>a</sup>
Arbosana	0,441 <sup>b</sup>	29,125 <sup>a</sup>
Koroneiki	0,441 <sup>b</sup>	28,500 <sup>a</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott(p<0,05).

### 5.1.2 Compostos bioativos

#### Teor de tocoferóis

Os tocoferóis são antioxidantes naturais presentes em maior abundância em vegetais, contribuindo para a sua estabilidade oxidativa (JORGE, 2010). No azeite de oliva, são encontrados os quatro tipos de tocoferóis (α-, β-, γ- e δ-tocoferol), constituindo um grupo de substâncias, que junto aos toconietros são chamadas por vitamina E. O conteúdo de tocoferóis no azeite, dependente da variedade da azeitona e do grau de maturação do fruto (JORGE, 2010).

Em todas as amostras avaliadas, observou-se, através da separação cromatográfica, dois picos distintos, correspondentes aos diferentes tocoferóis. Estes compostos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os padrões, onde identificou-se o  $\beta$ + $\gamma$ - e  $\alpha$ -tocoferol, correspondentes aos picos 1 e 2 respectivamente.

O  $\alpha$ -tocoferol, é o componente mais abundante no azeite de oliva, constituindo cerca de 95% do total de tocoferóis, sendo a fração que apresenta maior atividade vitamínica (RODEGHIERO, 2016). No presente estudo também foi observado o  $\alpha$ -tocoferol como o tocoferol majoritário encontrado nas amostras de azeite de oliva, seguido por ( $\beta + \gamma$ )-tocoferol. O  $\delta$ -tocoferol por sua vez, não foi detectado neste estudo.

Na tabela 2, é possível identificar que o teor de  $\alpha$ -tocoferol foi mais expressivo para a cultivar Koroneiki (377,423 mg.kg<sup>-1</sup>), enquanto a cultivar Arbequina apresenta os menores teores (326,190 mg.kg<sup>-1</sup>). Quanto aos teores de ( $\beta + \gamma$ )-tocoferol, houve a mesma tendência, o azeite da cultivar Koroneiki apresentou o maior teor (9,977 mg.kg<sup>-1</sup>) e o azeite Arbequina (5,878 mg.kg<sup>-1</sup>) com valores menos expressivos. Conseqüentemente, a mesma tendência foi observada no conteúdo total de tocoferóis, os quais foram maiores na cultivar Koroneiki, seguido pela Arbosana e em menor quantidade na cultivar Arbequina.

**Tabela 2.** Conteúdo de tocoferóis (mg. kg<sup>-1</sup>) em amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS)

Cultivar	$\alpha$ -Tocoferol (mg. kg <sup>-1</sup> )	( $\beta$ + $\gamma$ ) –Tocoferol (mg. kg <sup>-1</sup> )	Total Tocoferol (mg. kg <sup>-1</sup> )
Arbequina	326,190 <sup>c</sup>	5,878 <sup>c</sup>	332,068 <sup>c</sup>
Arbosana	370,279 <sup>b</sup>	8,807 <sup>b</sup>	379,086 <sup>b</sup>
Koroneiki	377,423 <sup>a</sup>	9,977 <sup>a</sup>	387,400 <sup>a</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scoot-Knot ( $p < 0,05$ ).

As fontes mais ricas de tocoferóis naturais são os óleos vegetais extraídos de sementes oleaginosas e de nozes. O  $\alpha$ -Tocoferol é o principal tocoferol presente no azeite extra virgem, com concentração variada, e a grande variabilidade relatada na concentração de Vitamina E pode ser atribuída a diversos fatores como da cultivar, qualidade, região, clima, técnicas de produção, condições de armazenamento e grau de maturidade da azeitona (DUGO et al, 2020).

De acordo com alguns estudos observados, o óleo de milho é rico em tocoferóis (156,3 mg. kg<sup>-1</sup>), assim como o óleo de cacau (188,9 mg. kg<sup>-1</sup>), óleo de soja (121,4 mg. kg<sup>-1</sup>) e óleo de canola (183,9 mg Kg<sup>-1</sup>). As concentrações de  $\alpha$ -tocoferol fazem com que haja um apelo maior no consumo, pois estes compostos podem atuar no organismo prevenindo e combatendo doenças (AKSOZ et al., 2020; FOSCOLOU et al., 2018; JIMENEZ-LOPEZ, 2020; JORGE et al., 2016; GUINAZ et al., 2009).

A presença de  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -tocoferóis no azeite foi observada por Crizel et al. (2020). O isômero principal quantificado foi o  $\alpha$ -tocoferol, representando mais de 90% do total de tocoferóis, variando de 117 mg.kg<sup>-1</sup>(azeite da cultivar Frantoio) a 325 mg.kg<sup>-1</sup> (azeite da cultivar Arbosana), seguido por pequenas quantidades de  $\beta$  +  $\gamma$  (4,8 a 10,7 mg.kg<sup>-1</sup> em azeite das cultivares Arbequina e Coratina, respectivamente).

No presente estudo pode-se observar que o azeite que apresentou os maiores conteúdos de tocoferóis, tanto de  $\alpha$ -tocoferol quanto de ( $\beta$ +  $\gamma$ ) – tocoferol, foi da cultivar Koroneiki, sendo o total de tocoferóis 14,28 % superior do azeite da cultivar a Arbequina e 2,15% do azeite da cultivar Arbosana.

O presente estudo também está de acordo com os resultados encontrados por Bruscatto (2017), onde entre os azeites analisados, o azeite da cultivar Koroneiki apresentou valores mais elevados de  $\alpha$ -tocoferol e de ( $\beta$ +  $\gamma$ ) – tocoferol, e o azeite da cultivar Arbequina correspondeu aos menores teores.

O conteúdo de tocoferóis é dependente de características físico-químicas da cultivar, onde tem-se uma disponibilidade diferente de cada tipo de tocoferol, da adaptação a região de cultivo, das condições agrônômicas e do processamento dos frutos (LAZZERINI; CIFELLI; DOMENICI, 2016; CRIZEL-CARDOSO, 2014; PENZ, 2010).

Martakos et al. (2020) realizaram um estudo para verificar a influência dos parâmetros de cultivo sobre os compostos presentes no azeite de oliva e observaram que, a variedade de oliveira, origem geográfica, estágio de maturação dos frutos durante a colheita e adição de água durante a maxalação, influenciaram no teor de tocoferóis, enquanto outros parâmetros como altitude de cultivo, tipo de cultivo (orgânico ou convencional) e tipo de azeite de oliva não parecem afetar o nível destes compostos. Pérez et al. (2019) avaliaram a influência de diferentes cultivares no conteúdo de tocoferóis no azeite de oliva e os resultados indicaram que o conteúdo e a composição do tocoferol eram altamente

dependentes do cultivar. O mesmo foi observado no estudo de Mikrou et al. (2020), quando se estudou o teor de tocoferóis no azeite das cultivares Koroneiki e Kolovi.

Além dos compostos fenólicos, os tocoferóis são responsáveis por fornecer estabilidade oxidativa aos óleos, proporcionando proteção contra foto-oxidação e auto oxidação. Foi observado que a sinergia entre  $\alpha$ -tocoferol e alguns compostos fenólicos contribui para maior estabilização do óleo quando exposto a altas temperaturas (TSIMIDOU, 2010).

Dentre os tocoferóis, apenas o  $\alpha$ -tocoferol, e em menor extensão o  $\gamma$ -tocoferol, é ligado ativamente pelo transportador  $\alpha$ -TTP (proteína de transferência de tocoferol), sendo metabolizado de forma relativamente lenta. Portanto, está presente em mais quantidades no plasma do que outras formas. Também se acumula em áreas com produção máxima de radicais livres, principalmente nas membranas mitocondriais e no retículo endoplasmático dos pulmões e do coração. Por esses motivos, embora os estudos se concentrem no  $\alpha$ -tocoferol, estudos recentes demonstram que outras isoformas da vitamina E, como  $\gamma$ -T e  $\delta$ -T, possuem propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (AKSOZ et al., 2020).

### **Teor de compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são antioxidantes formados por substâncias hidrofílicas, sendo que em oliveiras se destacam o hidroxitirosol e a oleuropeína (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020).

Em geral, estes compostos são encontrados em teores que variam de 200 a 1500  $\text{mg.kg}^{-1}$  em azeites de oliva. A composição fenólica depende de diversos fatores como a cultivar, condições climática e agrônômicas, grau de maturação e processos de produção (ALLOUCHE, et al., 2007; GARCIA-OLIVEIRA et al., 2021).

Por se tratar de um antioxidante, é importante determinar a fração de compostos fenólicos, pois este é um fator que determina a estabilidade do azeite frente a processos de oxidação e também avalia a qualidade do produto quanto ao seu aspecto nutricional e sensorial. São os compostos fenólicos que contribuem nas características de aroma e sabor, como o amargor e a picância (MELLO; PINHEIRO, 2012; GARCIA-OLIVEIRA et al., 2021).

Ao avaliar a influência das cultivares sobre o conteúdo de compostos fenólicos (Tabela 3), pode-se observar diferença significativa. O azeite da cultivar Arbequina apresenta maior fração, sendo de 283,235  $\text{mg.kg}^{-1}$  de ácido gálico, enquanto o azeite Koroneiki possui

222,112 mg.kg<sup>-1</sup>, seguido pelo azeite Arbosana com 208,443 mg.kg<sup>-1</sup> de compostos fenólicos.

**Tabela 3.** Conteúdo decompostos fenólicos (mg. kg<sup>-1</sup> de ácido gálico) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS)

Cultivar	Compostos fenólicos (mg. kg <sup>-1</sup> de ácido gálico)
Arbequina	283,235 <sup>a</sup>
Arbosana	208,443 <sup>b</sup>
Koroneiki	222,112 <sup>b</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scoot-Knot(p<0,05).

Yu et al. (2020), ao avaliarem as características de oito cultivares de azeite de oliva, observaram que o fator cultivar influenciou no conteúdo de compostos fenólicos, sendo a cultivar Koroneiki a que possuía significativa diferença superior dentre as demais.

As mesmas diferenças significativas foram encontradas em estudo realizado por Miho et al. (2021), em que o teor de compostos fenólicos diferiu entre os azeites das cultivares estudadas. Ali et al. (2020), ao avaliarem azeites de diferentes cultivares, observaram que o azeite da cultivar Arbequina, assim como no presente estudo, apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos.

Os teores de compostos fenólicos, assim como o que ocorre com o teor de tocoferóis, pode apresentar variabilidade em função do grau de maturação, processo de extração e armazenamento dos azeites de oliva.

### Teor de carotenoides e clorofilas

Os carotenoides e as clorofilas são pigmentos presentes no azeite de oliva de suma importância, não só pelo fator aparência, mas também pelo papel na estabilidade oxidativa do azeite. A concentração final de cada pigmento depende das características físico-químicas do fruto, da origem geográfica, do clima e das condições de irrigação e do processamento(LAZZERINI; CIFELLI; DOMENICI, 2016; CRIZEL-CARDOSO, 2014; PENZ,2010).

A coloração final do azeite de oliva é resultado principalmente das proporções de carotenoides e clorofilas. Ao realizar o processamento, as azeitonas mais verdes, ou seja,

com maior teor de clorofilas, produzem azeites verdes ao passo que de frutos maduros se obtém azeite amarelado (LAZZERINI; CIFELLI; DOMENICI, 2016).

As clorofilas são pigmentos responsáveis pela coloração esverdeada nos azeites de oliva, sendo os tipos “a” e “b” os mais importantes e abundantes na natureza (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2020). A literatura reporta teores de clorofila em azeite de oliva de 1 a 33 mg.kg<sup>-1</sup> (ARSLAN et al., 2013; LAZZERINI; CIFELLI; DOMENICI, 2016).

Os carotenoides são pigmentos naturais, lipossolúveis, que proporcionam colorações que variam do amarelo ao vermelho. Os principais tipos presentes no azeite de oliva são a luteína e o β- caroteno. Segundo a literatura, o conteúdo de carotenoides do azeite pode variar de 1 a 20 mg.kg<sup>-1</sup>(GARCIA-OLIVEIRA et al., 2021; MONTEALEGRE; ALEGRE; GARCÍA-RUIZ, 2010).

Segundo Jimenez-Lopez et al.(2020) o β-caroteno pode exercer atividade antioxidante, pois este composto exibe um comportamento de captação de radicais livres, prevenindo formação de peróxidos, e como atenuador do oxigênio, evitando a reação oxidativa em cadeia.

Ao avaliar a influência das cultivares sobre o conteúdo de pigmentos nos azeites (Tabela 4), pode-se observar que o azeite da cultivar Koroneiki (11,729 mg.kg<sup>-1</sup>) foi a que apresentou maiores teores de carotenoides, seguido do azeite Arbequina com 10,443 mg.kg<sup>-1</sup>. O teor de clorofilas foi superior no azeite da cultivar Arbequina, o qual apresentou conteúdo de 5,038 mg.kg<sup>-1</sup>, e o azeite da cultivar Koroneiki apresentou um valor intermediário com 4,216 mg.kg<sup>-1</sup>. Para ambas as análises, o azeite da cultivar Arbosana apresentou os menores conteúdos, tanto de carotenoides quanto de clorofilas, 6,054 mg. kg<sup>-1</sup> e 2,388 mg. kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

**Tabela 4.** Conteúdo de pigmentos (mg. kg<sup>-1</sup>) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem produzidas em Canguçu (RS)

Cultivar	Carotenoides (mg. kg <sup>-1</sup> )	Clorofilas Totais (mg. kg <sup>-1</sup> )
Arbequina	10,443 <sup>b</sup>	5,038 <sup>a</sup>
Arbosana	6,054 <sup>c</sup>	2,338 <sup>c</sup>
Koroneiki	11,729 <sup>a</sup>	4,216 <sup>b</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knot(p<0,05).

A análise de pigmentos é um fator primordial para classificação geográfica e/ou varietal de azeites de oliva, visto que essas características não podem ser alteradas. A caracterização do perfil dos pigmentos em azeites de oliva é de grande interesse para detectar práticas fraudulentas, como a mistura de diferentes tipos de óleos comestíveis ou adição de pigmentos naturais ou mesmo dentro do campo de autenticação (ARRIZABALAGA-LARRAÑAGA et al., 2021;UNCU & OZEN, 2020).

Os teores de carotenoides e clorofilas em azeites monovarietais podem variar de acordo com a cultivar e até mesmo com o ano de colheita. São encontrados valores entre 0,1 e 7,2 mg. kg<sup>-1</sup> para clorofilas e entre 3,8 e 31,0 mg. kg<sup>-1</sup> de β-caroteno para carotenoides (CRIZEL et al., 2020).

Oliveira(2014) ao avaliar o conteúdo de pigmentos de azeite de oliva cultivadas em diferentes regiões relata teores máximos de 9,66 mg. kg<sup>-1</sup> e 4,51 mg. kg<sup>-1</sup> para clorofilas e carotenoides respectivamente, e mínimos de 1,54 mg. kg<sup>-1</sup> para clorofilas e 0,85 mg. kg<sup>-1</sup> de carotenoides.

Em estudo realizado por Rodeghiero (2016), foi observado diferenças nos teores de carotenoides e de clorofilas em treze cultivares de azeite de oliva. O maior conteúdo de carotenoides foi encontrado na cultivar Galega, com 7,88 mg. kg<sup>-1</sup> de β-caroteno, e o azeite obtido a partir da cultivar Ascolana foi o que apresentou o menor conteúdo, de 1,82 mg. kg<sup>-1</sup> de β-caroteno. Com relação ao teor de clorofilas, as cultivares Carboncella e Blanqueta apresentaram os maiores e menores valores de 0,98 e 0,13 mg.kg<sup>-1</sup> respectivamente.

## **5.2 Avaliação do azeite de oliva submetido ao aquecimento**

As condições ambientais, como temperatura, oxigênio e luz, propiciam o processo de hidrólise e oxidação. Dessa perspectiva, a estabilidade à degradação térmica é uma preocupação primordial em termos de qualidade e segurança de alimentos (ROTICH et al., 2020).

### **5.2.1 Índices de qualidade**

Na tabela 5 são apresentados dos dados referentes à influência de diferentes temperaturas sobre os índices de qualidade avaliados nos azeites de oliva. Todas as amostras estão fora do limite de tolerância para índice de peróxido, sendo os maiores valores

médios obtidos na temperatura de 60°C (30,0 meq. O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>) e os menores na temperatura de 180°C (26,25 meq. O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>). Quanto a acidez houve diferença significativa entre a acidez média das amostras, sendo a 60°C de 0,388%, havendo um aumento progressivo até a temperatura de 180°C, onde atingiu 0,511% em ácido oleico.

**Tabela 5.** Dados dos índices de qualidade das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Acidez (% ácido Oleico)	Índice de Peróxido (meq. O <sub>2</sub> . kg <sup>-1</sup> )
60	0,388 <sup>c</sup>	30,000 <sup>a</sup>
100	0,462 <sup>b</sup>	29,167 <sup>a</sup>
120	0,464 <sup>b</sup>	29,167 <sup>a</sup>
150	0,503 <sup>a</sup>	28,542 <sup>a</sup>
180	0,511 <sup>a</sup>	26,250 <sup>b</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% e significância pelo teste de Scoot-Knot ( $p < 0,05$ ).

Observou-se que a temperatura teve influência inversamente proporcional sobre as amostras em relação aos índices de qualidade avaliados, enquanto há um incremento de temperatura os índices de peróxido diminuem e a acidez aumenta. Ao submeter as amostras de azeite de oliva ao aquecimento, ocasionou um aumento na quantidade de ácidos graxos livres pelo favorecimento da hidrólise, elevando os teores de acidez. O índice de peróxido reduziu com o aumento da temperatura, o que era esperado porque os peróxidos são compostos instáveis que se decompõem com a elevação da temperatura, convertendo-se em produtos secundários da oxidação lipídica (CERRETANI et al., 2009).

Hassine et al.(2021), submeteram amostras de azeite nas temperaturas de armazenamento de 25, 30 e 35°C, para avaliar o efeito na qualidade e composição dos azeites. Os autores observaram que a temperatura de 35°C causou aumento nos valores de acidez livre e conteúdo de clorofila, além de uma diminuição no teor de compostos fenólicos e na estabilidade oxidativa.

A mesma tendência foi observada em estudo realizado por Bruscatto (2015), onde houve acréscimo nos teores de acidez e decréscimo nos índices de peróxido, ao submeter amostras de azeite de oliva ao aquecimento.

Na tabela 6estão os dados relativos a influência de diferentes tempos de exposição nas temperaturas determinadas, onde também os limites de tolerância para o índice de peróxidos foram ultrapassados, sendo em 0 minutos o maior valor (31,0 meq. O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>) e o menor valor foi observado no tempo de 120 minutos (26,0 meq. O<sub>2</sub>. kg<sup>-1</sup>), havendo portanto um decréscimo gradativo em relação ao aumento do tempo de aquecimento. Quanto a acidez, observou-se uma queda de médias, mas sem que houvesse diferença significativa durante o tempo de aquecimento.

**Tabela 6.**Dados dos índices de qualidade das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki, durante o período de aquecimento.

Tempo (min.)	Acidez (% ácido Oleico)	Índice de Peróxido (meq. O <sub>2</sub> . kg <sup>-1</sup> )
0	0,451 <sup>a</sup>	31,000 <sup>a</sup>
10	0,474 <sup>a</sup>	30,333 <sup>a</sup>
20	0,454 <sup>a</sup>	30,000 <sup>a</sup>
40	0,489 <sup>a</sup>	29,000 <sup>a</sup>
60	0,445 <sup>a</sup>	28,000 <sup>b</sup>
80	0,470 <sup>a</sup>	27,667 <sup>b</sup>
100	0,435 <sup>a</sup>	27,000 <sup>b</sup>
120	0,507 <sup>a</sup>	26,000 <sup>b</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knot ( $p < 0,05$ ).

Rios et. al., (2013), ao avaliarem a oxidação de óleos e azeites comestíveis em processo de fritura em tempos de 20 e 45 minutos à 180°C, identificaram uma diminuição no índice de peróxido em azeite de oliva extra virgem de 16,8 para 10,5 meq. O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>e aumento na acidez do óleo de soja (0,236 para 0,444 % ácido oleico), no óleo de girassol (0,092 para 0,231 % ácido oleico) e no azeite de oliva extra virgem (1,537 para 1,636 % ácido oleico).

Segundo o exposto, ao submeter às amostras de azeite de oliva ao aquecimento, são encontradas redução no índice de peróxido e aumento da acidez. Bruscatto (2015), em seu

estudo submeteu amostras a diferentes tempos em micro-ondas e obteve decréscimo nos valores de índice de peróxido e aumento da acidez, corroborando com os dados do presente estudo.

## 5.2.2 Compostos bioativos

### Tocoferóis

A influência de diferentes temperaturas sobre o conteúdo de tocoferóis está apresentado na Tabela 7. Ao aquecer o azeite a uma temperatura de 60° C o conteúdo total médio de tocoferóis foi de 405,261mg. kg<sup>-1</sup>, de 396,320 mg.kg<sup>-1</sup> para  $\alpha$ -tocoferol e de 8,941mg.kg<sup>-1</sup> para ( $\beta + \gamma$ ) –tocoferol, onde foi possível identificar que houve uma diminuição gradativa nos teores desses compostos à medida que a temperatura era elevada, demonstrando assim a sensibilidade destes compostos ao aquecimento.

No intervalo entre as temperaturas de 60°C a 100°C houve uma diminuição de 4,02 % nos conteúdos de  $\alpha$ -tocoferol, e de 5,21% entre as temperaturas de 100°C a 120°C, mas a partir da temperatura 150°C o decréscimo foi mais expressivo, sendo de 17,25% até atingir a temperatura final de 180°C.

Para conteúdo de ( $\beta + \gamma$ ) –tocoferol, ocorreu um decréscimo de 6,14 % no intervalo entre 60°C a 100°C, e novamente a maior redução foi observada no intervalo entre 150°C a 180°C, de 7,70%.

**Tabela 7.** Dados do conteúdo de tocoferóis (mg. kg<sup>-1</sup>) das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	$\alpha$ -Tocoferol (mg. kg <sup>-1</sup> )	( $\beta + \gamma$ ) -Tocoferol (mg. kg <sup>-1</sup> )	Total Tocoferol (mg. kg <sup>-1</sup> )
60	396,320 <sup>a</sup>	8,941 <sup>a</sup>	405,261 <sup>a</sup>
100	380,374 <sup>b</sup>	8,392 <sup>b</sup>	388,606 <sup>b</sup>
120	360,558 <sup>c</sup>	8,279 <sup>c</sup>	368,837 <sup>c</sup>
150	357,091 <sup>d</sup>	8,056 <sup>d</sup>	365,147 <sup>d</sup>
180	295,476 <sup>e</sup>	7,435 <sup>e</sup>	302,911 <sup>e</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scoot-Knot ( $p < 0,05$ ).

Ao verificar a influência da temperatura sobre os teores de tocoferóis presentes nas amostras de azeites, foi possível identificar uma diminuição significativa das frações, tanto para  $\alpha$ -tocoferol quanto para  $(\beta + \gamma)$  - tocoferol durante a elevação da temperatura.

Ao submeter ao aquecimento nas temperaturas iniciais até chegar à temperatura de 180°C, a perda foi de 17,3% e 7,7% de  $\alpha$ -tocoferol e  $(\beta + \gamma)$  - tocoferol, respectivamente. Gonçalves et al. (2015) relataram que ao submeter amostras de azeite de oliva, óleo de soja e azeite composto ao tratamento térmico (30°C a 170°C), ocorreu a perda de tocoferóis em todas as amostras a medida que a temperatura foi elevada, além de observarem a formação de produtos de oxidação.

Na tabela 8 estão apresentados dados médios referentes à influência do tempo de exposição das amostras nas condições de aquecimento, utilizou-se apenas os tempos de 0 e 120 minutos, diferente das demais análises. Pode-se observar que ocorreu um decréscimo no teor de tocoferóis com o passar do tempo de aquecimento, indicando uma redução de 25,6% do conteúdo inicial.

**Tabela 8.** Dados do conteúdo de tocoferóis ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), durante o período de aquecimento.

Tempo (min)	$\alpha$ -Tocoferol ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )	$(\beta + \gamma)$ -Tocoferol ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )	Total Tocoferol ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )
0	411,468 <sup>a</sup>	8,460 <sup>a</sup>	419,928 <sup>a</sup>
120	304,460 <sup>b</sup>	7,981 <sup>b</sup>	312,441 <sup>b</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scoot-Knot ( $p < 0,05$ ).

Com relação à influência do tempo de exposição das amostras nas temperaturas de 0 e 120 minutos, houve uma redução de 26% em relação aos teores de  $\alpha$ -tocoferol e de 5,7% para  $(\beta + \gamma)$  - tocoferol.

Com o aquecimento das amostras, foi possível verificar que a degradação dos tocoferóis ocorre desde o início da submissão ao calor e vai aumentando com o passar do tempo. Em estudo semelhante realizado por Bruscatto (2019), em azeite de oliva, também foi observado uma maior redução nos teores de  $\alpha$ -tocoferol e  $(\beta + \gamma)$  - tocoferol em virtude do aumento do tempo de exposição das amostras ao calor. O tocoferol majoritário,  $\alpha$ -tocoferol

tem sua redução mais elevada por possuir alta atividade antioxidante e com isso uma menor estabilidade a altas temperaturas de exposição.

Shendi et al. (2018) avaliaram as mudanças que ocorrem na composição química e estabilidade oxidativa do azeite virgem durante o armazenamento. Dentre os parâmetros avaliados, foi estudada a influência do tempo sobre o conteúdo de  $\alpha$ -tocoferóis, onde se observou que com o passar do tempo a concentração desse composto diminuiu.

Porto et al. (2016), ao avaliarem as condições de aquecimento domésticas em diferentes óleos (canola, milho, oliva, soja e girassol) também observaram que houve uma redução gradual dos tocoferóis, conforme as amostras foram submetidas a um maior tempo de exposição, portanto concordando com os resultados obtidos neste estudo.

Yalcin & Schreiner (2017) investigaram os efeitos do aquecimento a 60°C sobre os tocoferóis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) em azeite de oliva. O conteúdo de tocoferol diminuiu gradualmente durante o período de aquecimento. O  $\alpha$ -tocoferol e  $\beta$ -tocoferol foram decompostos após o aquecimento por 60 minutos enquanto parte do  $\gamma$ -tocoferol permaneceu no azeite. Esse resultado indicou que a estabilidade do  $\gamma$ -tocoferol à oxidação foi maior do que a do  $\alpha$ -tocoferol e do  $\beta$ -tocoferol. A quantidade de  $\beta$ -tocoferol no azeite era baixa, por isso caiu rapidamente abaixo do limite de detecção.

A quantidade inicial de tocoferol deve ser considerada um dos parâmetros que influenciam a estabilidade do azeite à oxidação, seu prazo de validade e, conseqüentemente, sua qualidade. No presente estudo, observou-se que quando as amostras foram submetidas ao calor, houve redução nos teores total e individual de tocoferóis, tanto em nível de cultivar, quanto em relação ao aumento de temperatura e de tempo de exposição, o que influenciou na estabilidade química do azeite.

### **Teor de compostos fenólicos**

Ao submeter as amostras a diferentes temperaturas, foi possível identificar que o teor dos compostos fenólicos foram reduzindo de forma gradual a medida que aumentou a temperatura. Ao aquecer o azeite de oliva a 60°C o conteúdo observado foi de 312,351 mg. kg<sup>-1</sup>, à medida que houve uma elevação de temperatura, chegando a 180°C, o total de compostos fenólicos reduziu a 185,426 mg. kg<sup>-1</sup>, havendo uma redução significativa, demonstrando que, assim como os tocoferóis, os compostos fenólicos são sensíveis ao calor.

Observando a alteração ocorrida no total de compostos fenólicos, verificou-se que entre as temperaturas de 60°C a 100°C houve uma diminuição de 16,4 %, sendo a mais expressiva. Ao elevar a temperatura de 100°C a 120°C, os compostos fenólicos foram reduzidos em 14,8%, enquanto que entre as temperaturas de 120°C a 150°C, a redução foi menos significativa, sendo de 6,5%. A partir da temperatura de 150°C o decréscimo voltou a ser maior, sendo de 10,9% até atingir a temperatura final de 180°C.

**Tabela 9.** Dados do conteúdo de compostos fenólicos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Compostos fenólicos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )
60	312,351 <sup>a</sup>
100	261,151 <sup>b</sup>
120	222,563 <sup>c</sup>
150	208,158 <sup>c</sup>
180	185,426 <sup>c</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knot ( $p < 0,05$ ).

Na tabela 10 são apresentados dados referentes a influência do tempo (minutos) de exposição das amostras ao aquecimento. Assim como ao elevar a temperatura ao qual as amostras foram submetidas, o tempo de exposição também influenciou diretamente no conteúdo de compostos fenólicos, havendo redução gradativa destes compostos com o tempo de exposição.

Não houve diferença estatística até o tempo 40 minutos, após este houve um decréscimo do conteúdo de compostos fenólicos sendo de 9,7 %. Ao elevar o tempo de exposição de 120 minutos a redução dos compostos fenólicos foi de 25, 8%, sendo a perda, comparada ao teor de tocoferóis totais, praticamente a mesma.

**Tabela 10.** Dados do conteúdo dos compostos fenólicos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes períodos de tempo de aquecimento.

Tempo (min.)	Compostos fenólicos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )
0	277,197 <sup>a</sup>
10	259,399 <sup>a</sup>
20	255,052 <sup>a</sup>
40	248,509 <sup>a</sup>
60	224,453 <sup>b</sup>
80	219,531 <sup>b</sup>
100	213,830 <sup>b</sup>
120	205,471 <sup>b</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knot ( $p < 0,05$ ).

O processo de aquecimento é um fator que acelera as reações nos compostos bioativos, conseqüentemente numa diminuição da atividade antioxidante dos azeites (JUHAIMI et al., 2018; BRUSCATTO, 2015).

Conforme o observado nas tabelas 9 e 10, os teores de compostos fenólicos são reduzidos à medida que há um acréscimo de temperatura e tempo na submissão das amostras.

Ali et al. (2020), ao submeterem amostras de azeite de oliva ao aquecimento (115, 150 e 170 ° C por 15 minutos) identificaram uma redução na estabilidade térmica, devido ao decréscimo em compostos bioativos, como de compostos fenólicos e clorofilas.

Ao investigarem os efeitos da oxidação térmica em azeite de oliva a 60°C, Yalcin & Schreiner (2017) observaram uma redução significativa nos compostos fenólicos, e com o aumento da temperatura houve uma diminuição de 91% sobre o conteúdo de hidroxitirosol, o principal composto fenólico presente nos azeites. Bruscatto (2015) ao avaliar a perda de compostos bioativos em azeites de oliva submetidos ao aquecimento em micro-ondas em 5 e 9 minutos, observou no azeite da cultivar Arbequina decréscimos de 36,3% e 65,4% no conteúdo de compostos fenólicos, e de 45,2% e 46%, em azeites das cultivares Koroneiki e Frontoio, respectivamente.

O conteúdo total de compostos fenóis presentes no azeite de oliva é um dos parâmetros na avaliação da estabilidade do azeite à oxidação, assim como acontece com o conteúdo de tocoferóis. No presente estudo, observou-se que ao submeter as amostras ao

aquecimento, o conteúdo total de compostos fenólicos sofreu redução pelo aquecimento e tempo de exposição, concordando com a literatura, onde é relatado que fatores como oxigênio, luz, calor e tempo são fatores prejudiciais à composição fenólica dos azeites.

Por se tratar de um antioxidante é importante avaliar todos os fatores que podem influenciar na quantidade de compostos fenólicos presentes no azeite de oliva. Neste estudo pode-se observar que os três fatores avaliados, cultivar, temperatura e tempo, influenciaram diretamente no conteúdo destes compostos.

### **Conteúdo de pigmentos**

Ao submeter as amostras de azeite de oliva ao aquecimento (Tabela 11), observou-se que o conteúdo de carotenoides e de clorofilas reduziram à medida que há um acréscimo de temperatura, assim como ocorreu com o teor de tocoferóis e de compostos fenólicos.

Na análise do conteúdo de carotenoides, entre as temperaturas 60 e 100°C houve um decréscimo de 15,7%, sendo elevado para 21,7% e 25,3% para as temperaturas entre 100 a 120°C e 120 a 150°C, respectivamente. Quando elevada a temperatura a 180° a redução foi menos significativa, sendo de 9,1%. No total teve uma redução de 55% (entre os tempos 0 e 120 minutos).

Avaliando o conteúdo de clorofilas ocorrem reduções sendo de 6,8% entre as temperaturas de 60 e 100°C, e de 0,6% entre 100 e 120°C, sendo esta menos significativa. À medida que as amostras foram submetidas a temperaturas mais elevadas, as reduções foram mais expressivas, sendo de 11,1% e 9,7% para as temperaturas entre 120 e 150°C e entre 150 e 180°C, respectivamente. No total teve uma redução de 25,5% (entre os tempos 0 e 120 minutos).

**Tabela 11.** Dados do conteúdo de pigmentos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) das amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes temperaturas.

Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	Carotenoides ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )	Clorofilas Totais ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )
60	5,610 <sup>a</sup>	10,622 <sup>a</sup>
100	4,730 <sup>b</sup>	9,905 <sup>b</sup>
120	3,703 <sup>c</sup>	9,850 <sup>b</sup>
150	2,765 <sup>d</sup>	8,756 <sup>c</sup>
180	2,513 <sup>d</sup>	7,909 <sup>d</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scoot-Knot ( $p < 0,05$ ).

São apresentados na tabela 12 a influência do tempo (minutos) sobre as amostras submetidas ao aquecimento, constatando-se que assim como nas avaliações anteriores, quanto maior o tempo de exposição, ocorreu uma redução nos conteúdos de pigmentos, tanto de carotenoides quanto de clorofilas.

Para os carotenoides, os valores de reduções foram mais expressivos inicialmente, havendo um decréscimo de 36,8% entre os tempos 0 e 10 minutos, 12,9% para os tempos 10 e 20 minutos e aumentando novamente para 40,9% entre os tempos 20 e 40 minutos. Após o tempo de 40 minutos a redução foi menos expressiva, ocorrendo de forma decrescente, sendo de 5,3% entre 40 e 60 minutos, 3,4% entre 60 e 80 minutos, 2,4% entre os tempos 80 e 100 minutos e finalizando em 0,5% nos tempos entre 100 e 120 minutos.

Para as clorofilas, a redução ocorreu praticamente de forma decrescente; entre os tempos 0 e 10 minutos foi de 12,5% e entre 10 e 20 minutos foi de 12,8%. O decréscimo entre 20 e 40 minutos foi de 8,1%, entre 40 a 60 minutos foi de 3,2%, entre 60 a 80 minutos foi de 3,0%, enquanto entre os tempos seguintes a redução foi de 4,6% e de 2,0% para os tempos entre 80 a 100 minutos e entre 100 a 120 minutos respectivamente.

**Tabela 12.** Dados do conteúdo de pigmentos ( $\text{mg. kg}^{-1}$ ) presentes nas amostras de azeite de oliva extra virgem cultivar Koroneiki produzidas em Canguçu (RS), submetidos a diferentes tempos de aquecimento.

Tempo (min)	Carotenoides ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )	Clorofilas Totais ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )
0	8,377 <sup>a</sup>	12,710 <sup>a</sup>
10	5,293 <sup>b</sup>	11,122 <sup>b</sup>
20	4,610 <sup>c</sup>	9,698 <sup>c</sup>
40	2,721 <sup>d</sup>	8,917 <sup>d</sup>
60	2,578 <sup>d</sup>	8,634 <sup>e</sup>
80	2,490 <sup>d</sup>	8,372 <sup>e</sup>
100	2,429 <sup>d</sup>	7,986 <sup>f</sup>
120	2,416 <sup>d</sup>	7,827 <sup>f</sup>

Valores seguidos por letra iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Scott-Knot ( $p < 0,05$ ).

Em estudo realizado por Malheiros et al. (2009), onde foi investigada a exposição de azeites de oliva ao aquecimento no micro-ondas, observaram que no tempo de 15 minutos houve uma redução tanto nos teores de clorofila quanto nos teores de carotenoides, indicando que com o aumento do tempo de exposição ocorreu um aumento na perda destes pigmentos.

Bruscatto (2015) ao avaliar a influência do aquecimento de azeite de oliva em micro-ondas, identificou que durante os primeiros minutos houve redução drástica no conteúdo de clorofilas, em média de 60%, entre as cultivares analisadas, e que esta redução foi mais intensa à medida que o tempo de exposição foi elevado. O mesmo ocorreu com os teores de carotenoides, que a partir do tempo 5 minutos demonstrou diferenças significativas, sendo o decréscimo superior a 50% em relação ao conteúdo inicial.

Dordevic et al. (2020), ao avaliarem o aquecimento de amostras de azeite de oliva nas temperaturas de 180°C e 220°C por um período de 10 minutos, identificaram uma redução significativa nos teores de clorofilas e de carotenoides em função do tempo e temperatura, sendo mais intensa à medida que estes parâmetros eram aumentados.

Penz (2010) em estudo semelhante, ao verificar a influência do tempo e temperatura de submissão ao calor sobre amostras de azeites de oliva, verificou que ao elevar a temperatura de 180°C por 30 minutos houve perda característica da cor do azeite, devido a

maior degradação dos compostos presentes, observando uma diminuição tanto dos teores de clorofila como de carotenoides.

Foi evidenciado neste estudo que os teores de clorofila e de carotenoides nos azeites de oliva são influenciados de acordo com a cultivar, temperatura e tempo de aquecimento. À medida que houve uma submissão ao calor e a tempos mais longos, os pigmentos sofreram redução gradual, perdendo características nutricionais e indicadoras de qualidade, levando a redução da estabilidade oxidativa do azeite de oliva.

Ao comparar os compostos analisados em relação às perdas totais, observou-se que o teor de carotenoides foi o que mais se degradou, apresentando 71,2% de redução, seguido pelo teor de clorofilas totais (38,4%) e com menores reduções foram os fenólicos totais (25,8%) e teor de tocoferóis totais (25,6%).

## 6. Conclusões

Todas as amostras de azeites extra virgens apresentaram índice de peróxido acima de 20 meq. O<sub>2</sub>. Kg<sup>-1</sup>, e portanto, fora do padrão de qualidade de azeite de oliva extra virgem. Porém ao avaliar a acidez, as cultivares se enquadrariam na classificação como azeites extra virgem por apresentarem valores de acidez inferiores a 0,8%. Análises como Coeficiente de extinção específico são necessárias a conclusão da classificação destes azeites.

O azeite da cultivar Arbequina apresentou os maiores teores em índice de acidez, compostos fenólicos e clorofilas totais e o azeite da cultivar Koroneiki foi o que apresentou os maiores teores de carotenoides e de tocoferóis.

Ao investigar os efeitos do aquecimento sobre o azeite de oliva e o tempo de exposição ao calor, foi verificado que à medida que houve um acréscimo de temperatura e tempo, o índice de peróxido e os teores de tocoferóis, compostos fenólicos, carotenoides e clorofila foram reduzidos, enquanto foi observado um aumento da acidez.

Em termos da qualidade do azeite de oliva, a maior temperatura, 180°C e o maior tempo de exposição, 120 minutos foram o que mais reduziram os índices de qualidade. Com relação aos compostos bioativos, alguns já no início do aquecimento entre 0 e 10 minutos houve degradação mais significativa.

O teor de tocoferóis foi o composto bioativo com menor sensibilidade em relação ao aumento da temperatura e ao tempo de exposição, enquanto o teor de carotenoides foi o que mais apresentou redução em seus valores.

## Referências

- AKSOZ, E., KORKUT, O., AKSIT, D., & GOKBULUT, C. Vitamin E ( $\alpha$ -,  $\beta$ +  $\gamma$ -and  $\delta$ -tocopherol) levels in plantoils. **Flavour and Fragrance Journal**, 35(5), 504-510, 2020
- AL JUHAIMI, F., ÖZCAN, M. M., USLU, N., &GHAFOOR, K. (2018). The effect of drying temperaturas on antioxidant activity, phenolic compounds, fatty acid composition and tocopherol contents in citrus seed and oils. **Journal of foods ciense and technology**, 55(1), 190-197, 2018
- ALI, H., IQBAL, M.A., ATTA, B.M. *et al.* Phenolic Profile and Thermal Stability of Monovarietal Extra Virgin Olive Oils Based on Synchronous Fluorescence Spectroscopy. **J Fluoresc** 30, 939–947, 2020
- ALLOUCHE, Y.; JIMÉNEZ, A.; GAFORIO, J.J.; UCEDA, M.; BELTRÁN, G.How heating affects extra virgin olive oil quality indexes and chemical composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.23, p. 9646-9654, 2007.
- ALVES, A. C. G. **Técnicas analíticas de controle de qualidade de azeites**. 151 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) - Instituto Politécnico de Tomar, Tomar. 2013.
- ANTONIASSI, R.; PEREIRA, D.A.; SZPIZ, R.R.; JABLONKA, F.H.; LAGO, R.C.A. Avaliação das características de identidade e qualidade de amostras de azeite de oliva. **Brazilian Journal Food Technology**v.1, n.(1,2), p.32-43, 1998.
- AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society**. 7. ed. Champaign:American Oil Chemists Society. 2017.
- ARRIZABALAGA-LARRAÑAGA A, SANTOS F. J AND MOYANO E. Liquid Chromatography Pigment Profile for Characterization and Fraud Detection in Olive Oils. **Chromatographic and Related Separation Techniques in Food Integrity and Authenticity**. 21-41, 2021.
- ARSLAN, D.; KARABEKIR, Y.; SCHREINER, M. Variations of phenolic compounds, fatty acids and some qualitative characteristics of Sariulak olive oil as induced by growing area. **Food Research International**, v.54, n.2, p. 1897–1907, 2013.
- BACCOURI O, GUERFEL M, BACCOURI B, CERRETANI L, BENDINI A, LERCKER G, ZARROUK M, BEN MILED DD. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. **Food Chem** 109:743–754, 2008.
- BCHIR BEN HASSINE K., MNIF W., SMAOUI S., DHAOUADI S., AICHI H., BEN CHIKHA M. & GRATI KAMMOUN N.Virgin olive oil quality in relation to olive ripening stage and malaxation temperature. **Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology**, 82 (6), 4781-4788 4786 Volume 82 (6), 2021.
- BECCARIA, M.; MORET, E.; PURCARO, G.; PIZZALE, L.; COTRONEO, A.; DUGO, P.; MONDELLO, L.; CONTE, L. S. Reliability of the  $\Delta$ ECN42 limit and global method for extra virgin olive oil purity assessment using different analytical approaches. **Food Chemistry**, v. 190, p. 216-225, 2016.

BERTONCINI, E. I. **Cultivo de oliveiras no estado de São Paulo**. Pesquisa & Tecnologia, v. 9, n. 2, p.10, 2012.

BORGES, T. H., PEREIRA, J. A., CABRERA-VIQUE, C., LARA, L., OLIVEIRA, A. F. & SEIQUER, I. Characterization of Arbequina virgin olive oils produced in different regions of Brazil and Spain: physicochemical properties, oxidative stability and fatty acid profile. **Food Chemistry**, 215, 545-462, 2017.

BOTTI, L. C. M. Propriedades de barreira em sistemas de embalagem para Azeite de Oliva. 2014. 96 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2014.

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

BRUSCATTO, M. H. Estabilidade química de azeites de oliva (*Olea europaea* L.) produzidos na região Sul do Brasil. 2015. 126 f. **Tese** (Doutorado) Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 2015.

BRUSCATTO, M. H.; PESTANA-BAUER, V. R.; OTERO, D. M.; ZAMBIAZI, R. C. Effects of heating temperatura on the tocopherol contents of chemically and physically refined rice bran oil. **Grasas y Aceites**, [S. l.], v. 70, n. 1, p. e294, 2019.

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

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**, Londrina, v.31, n.1, p.127-136, jan./mar. 2010.

CAYUELA, J. A.; GARCÍA, J. F. Sorting olive oil based on alpha-tocopherol and total tocopherol content using near-infra-red spectroscopy (NIRS) analysis. **Journal of Food Engineering**, 202, 79-88, 2017

CERRETANI, L.; BENDINI, A.; RODRIGUEZ-ESTRADA, M. T.; VITTADINI, E.; CHIAVARO, E. Microwave heating of different commercial categories of olive oil: part i. effect on chemical oxidative stability indices and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v.115, n.4, p. 1381-1388, 2009.

CHIANG, P. S.; LEE, D. J.; WHITELEY, C. G., HUANG, C. Y. Antioxidant phenolic compounds from *Pinus morrisconicola* using compressional-puffing pretreatment and water-ethanol extraction: Optimization of extraction parameters. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 70, p. 7-14, 2017.

CICERALE, S.; CONLAN, X. A.; BARNETT, N. W.; KEAST, R.S.J. Storage of extra virgin olive oil and its effect on the biological activity and concentration of oleo canthal. **Food Research International**, v.50, n.2, p. 597-602, 2013.

COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. (Ed.). **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.)** / Enilton Fick Coutinho, Fabrício Carlotto Ribeiro, Thaís Helena Cappellaro — Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009.

- CRIZEL-CARDOSO, M. M. Influência do grau de maturação da azeitona na qualidade do azeite de oliva. 2014. 136 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2014.
- CRIZEL, R. L., HOFFMANN, J. F., ZANDONÁ, G. P., LOBO, P. M. S., JORGE, R. O., & CHAVES, F. C. Characterization of extra virgin olive oil from southern Brazil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 122(4), 1900347, 2020.
- DE BRUNO, A., ROMEO, R., PISCOPO, A. AND POIANA, M. Antioxidant quantification in different portions obtained during olive oil extraction process in an olive oil press mill. **J Sci Food Agric**, 101: 1119-1126, 2021.
- DORDEVIC, D., KUSHKEVYCH I., JANCIKOVA S., ZELJKOVIC, S. C., ZDARSKY M. AND HODULOVA, L. Modeling the effect of heat treatment on fatty acid composition in home-made olive oil preparations. **Open Life Sciences**, vol. 15, no. 1, pp. 606-618, 2020.
- DUGO, L., RUSSO, M., CACCIOLA, F., MANDOLFINO, F., SALAFIA, F., VILMERCATI, A., ...& RIGANO, F. Determination of the phenol and tocopherol content in italian high-quality extra-virgin olive oils by using LC-MS and multivariate data analysis. **Food Analytical Methods**, 1-15, 2020.
- EMBRAPA. **Arbequina**: cultivar de oliveira de ciclo precoce destinada à produção de azeite, na região Sul do Brasil. *Folder*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012.
- EMBRAPA. **Arbosana**: Cultivar de oliveira ciclo médio destinada à produção de azeite. *Folder*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2016.
- EMBRAPA. **Picual**: Cultivar de oliveira ciclo precoce destinada à produção de azeite. *Folder*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2016.
- EPAMIG. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. **Azeitona e Azeite de Oliva: Tecnologias de Produção**. v. 27. 2006.
- FOSCOLOU, A.; CRITSELIS, E.; PANAGIOTAKOS, D. **Olive oil consumption and human health: A narrative review**. *Maturitas*. 118, 60–66, 2018
- GAMBACORTA, G.; FACCIA, M.; PREVITALI, M.A.; PATI, S.; NOTTE, E.LA; BAIANO, A. Effects of olive maturation and stoning on quality indices and antioxidante content of extra virgin oils (cv. Coratina) during storage. **Journal of Food Science**, v.75, n.3, p. 229-235, 2010.
- GARCIA-OLIVEIRA, P.; JIMENEZ-LOPEZ, C.; LOURENÇO-LOPES, C.; CHAMORRO, F.; PEREIRA, A.G.; CARRERA-CASAS, A.; FRAGA-CORRAL, M.; CARPENA, M.; SIMAL-GANDARA, J.; PRIETO, M.A. Evolution of Flavors in Extra Virgin Olive Oil Shelf-Life. **Antioxidants**, 10, 368, 2021.
- GHANBARI SHENDI, E., SIVRI OZAY, D., OZKAYA, M. T., & USTUNEL, N. F. Changes occurring in chemical composition and oxidative stability of virgin olive oil during storage. **OCL**, 25, 2018.
- GHANBARI SHENDI, E., SIVRI OZAY, D., OZKAYA, M. T., & USTUNEL, N. F. Determination of chemical parameters and storage stability of extra virgin olive oil extracted by Mobile Olive Oil Processing Unit. **OCL**, 27, 2020.

GUINAZ, MICHELE ET AL. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova** [online]. v. 32, n. 8, pp. 2098-210, 2009.

HADJ-TAIEB, N.; GRATI, N.; AYADI, M.; ATTIA, I.; BENSALÉM, H.; GARGOURI, A. Optimisation of olive oil extraction and minor compounds content of Tunisian olive oil using enzymatic formulations during malaxation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 62, p. 79-85, 2012.

HARTMAN, L.; LAGO, B.C. **A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids**. Laboratory Practice. v.22, n.8, p. 475 – 476, 1973.

HOFFMANN BRUSCATTO, M., MUROWANIECKI OTERO, D., RIBEIRO PESTANA-BAUER, V., LORINI, A., ROSANE BARBOZA MENDONÇA, C., & CARLOS ZAMBAZI, R. Study of the thermal stability of  $\gamma$ -oryzanol present in rice bran oil over time. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 2021

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

IOC, International Olive Council: **Newsletter Nº 150** – June, 2020. Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2020/06/IOC-NEWSLETTER-150-2020-ENGLISH-EDITION.pdf>>. Acesso em: 10 de jul. 2020.

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

JIMENEZ-LOPEZ, C., CARPENA, M., LOURENÇO-LOPES, C., GALLARDO-GOMEZ, M., LORENZO, J. M., BARBA, F. J., ... & SIMAL-GANDARA, J. Bioactive compounds and quality of extra virgin olive oil. **Foods**, 9(8), 1014, 2020.

JORGE N, DA SILVA AC, ARANHA COM. Antioxidant activity of oils extracted from orange (*Citrus sinensis*) seeds. **An Acad BrasCiênc** 88(2):951–958, 2016.

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

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

KRICHENE D, SALVADOR MD, FREGAPANE G. Stability of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds during Long-Term Storage (18 Months) at Temperatures of 5-50 °C. **J Agric Food Chem**. 2015

LAZZERINI, C.; CIFELLI, M.; DOMENICI, V. **Pigments in extra-virgin olive oil: Authenticity and quality**. In Products from Olive Tree; Books on Demand: McFarland, WI, USA, 2016.

- LUKIĆ, I.; ŽANETIĆ, M.; ŠPIKA, M. J.; LUKIĆ, M.; KOPRIVNJAK, O.; BUBOLA, K. B. Complex interactive effects of ripening degree, malaxation duration and temperature on Oblica cv. virgin olive oil phenols, volatiles and sensory quality. **Food Chemistry**, v. 232, p. 610-620, 2017.
- MALHEIROS, R.; OLIVEIRA, I.; VILAS-BOAS, M.; FALCÃO, S.; BENTO, A.; PEREIRA, J.A. Effect of microwave heating with different exposure times on physical and chemical parameters of olive oil. **Food and Chemical Toxicology**, v.47, n.1, p.92-97, 2009.
- MANSOURI, F.; BEN MOUMEN, A.; HOUMY, N.; RICHARD, G.; FAUCONNIER, M.L.; SINDI, M.; SERGHINI-CAID, H.; ELAMRANI, A. Evaluación de la estabilidad oxidativa de los aceites de olive obtenidos a partir de la mezcla de aceite "Arbequina" con otros aceites de olive monovarietales. **Revista Oficial Del Consejo Oleícola Internacional**, OLIVAE, n.120, p.23-30, 2014.
- MARTAKOS, I., KOSTAKIS, M., DASENAKI, M., PENTOGENNIS, M., & THOMAIDIS, N. Simultaneous determination of pigments, tocopherols, and squalene in Greek olive oils: a study of the influence of cultivation and oil-production parameters. **Foods**, 9(1), 31, 2020.
- MÁXIMO, T. C. B. Práticas agrícolas associadas à olivicultura em modo de produção biológico e efeito na qualidade da azeitona e azeite na região de Trás-os-Montes. 2013. 103 f. **Dissertação** (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança. 2013.
- MELLO, L.D.; PINHEIRO, M.F. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasília. **Alimentos & Nutrição**, v.23, n4, p.537-548, 2012
- MÉNDEZ, A.I. FALQUÉ, E. Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. **Food Control**, v.18, n.5, p.521-529, 2007.
- MIHO H., MORAL J., BARRANCO D., LEDESMA-ESCOBAR C.A., PRIEGO-CAPOTE F., DíEZ C.M. Influence of genetic and interannual factors on the phenolic profiles of virgin olive oils. **Food Chemistry**. Volume 342, 2021
- MIKROU, T., PANTELIDOU, E., PARASYRI, N., PAPAIOANNOU, A., KAPSOKEFALOU, M., GARDELI, C., & MALLOUCHOS, A. Varietal and geographical discrimination of Greek monovarietal extra virgin olive oils based on squalene, tocopherol, and fatty acid composition. **Molecules**, 25(17), 3818, 2020.
- MONTEALEGRE, C.; ALEGRE, M.L.M.; GARCÍA-RUIZ, C. Traceability markers to the botanical origin in olive oils. *J. Agric. Food Chem*, 58, 28–38, 2010
- MONTEDORO, G.; SERVILI, M.; BALDIOLI, M.; MINIATI, E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, n.9, p.1571-1576, 1992.
- MORELLO, J.R.; MOTILVA, M.J.; TOVAR, M. J.; ROMERO, M.P. Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. **Food Chemistry**, v.85, n.3, p. 357–364, 2004.
- MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais**: na indústria de alimentos. 1.ed. São Paulo: Editora Varela, 1998. 150p.

OLIVEIRA, Donivaldo António Lopes de. Análise físico-química de azeites produzidos em lagares da região do Algarve-Portugal. **Dissertação de Mestrado**, Tecnologia dos Alimentos, Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve, 2014

OLIVEPÉDIA. **Oliveiras do Brasil**. Disponível em: <<https://olivapedia.com/category/cultivar/>> Acesso em: 10.jul.2021

ÖZCAN MM, GHAFOOR K, AL JUHAIMI F, USLU N, BABIKER EE, MOHAMED AHMED IA, ALMUSALLAM IA. Influence of drying techniques on bioactive properties, phenolic compounds and fatty acid compositions of dried lemon and orange peel powders. **Jornal Food Science Technology**. 2021 Jan; 58(1):147-158

PENZ R.L. Estudo das alterações físico-químicas do azeite de oliva após tratamento térmico. Lajeado. **Univates**, 2010

PÉREZ, A. G., LEÓN, L., PASCUAL, M., DE LA ROSA, R., BELAJ, A., & SANZ, C. Analysis of olive (*Olea europaea* L.) genetic resources in relation to the content of vitamin E in virgin olive oil. **Antioxidants**, 8(8), 242, 2019.

PÉREZ-RODRIGO, C.; ARANCETA, J. **Olive oil: Its role in the diet**. In The Encyclopedia of Healing Foods; AtriaBooks: New York, NY, USA; pp. 158–166, 2015.

PESTANA-BAUER, V. R.; GOULARTE-DUTRA, F. L.; ZAMBIAZI R. C. Caracterização do fruto da Oliveira (variedade carolea) cultivada na região sul do Brasil. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 22, p. 79-87, 2011.

PESTANA, V.R.; ZAMBIAZI, R.C.; MENDONÇA, C.R.; BRUSCATTO, M.H.; LERMA-GARCIA, M.J. RAMIS-RAMOS, G. Quality Changes and Tocopherols and  $\gamma$ -Orizanol Concentrations. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.85, n.11, p.1013-1019, 2008.

PORTO, BRENDA & DE OLIVEIRA MENDES, THIAGO & FRANCO, DOUGLAS & MARTINI, WILLIAM & BELL, MARIA JOSÉ & OLIVEIRA, MARCONE. (2016). Chemical monitoring of canola, corn, olive, soybean and sunflower oils after thermal treatment at conventional temperatures in domestic stoves. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 75. 1964.

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

RIOS, H. C. S., PEREIRA, I. R. O. & ABREU, E. S. Avaliação da oxidação de óleos gorduras e azeites comestíveis em processo de fritura. **Revista Ciência e Saúde**, 6(2), 118-126, 2013.

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

ROMÁN, G.C.; JACKSON, R.E.; REIS, J.; ROMÁN, A.N.; TOLEDO, J.B.; TOLEDO, E. Extra-virgin olive oil for potential prevention of Alzheimer disease. **Rev. Neurol**. 2019, 175, 705–723.

ROTICH, V., AL RIZA, D. F., GIAMETTA, F., SUZUKI, T., OGAWA, Y. & KONDO, N. Thermal oxidation assessment of Italian extra virgin olive oil using an UltraViolet (UV) induced fluorescence

imaging system. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 237, 118373, 2020.

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

SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J.; BASTIDA, S. Effect of Frying and Thermal Oxidation on Olive Oil and Food Quality. In: Quiles, J. L.; Ramírez-Tortosa, M. C.; Yaqoob, P. (Eds). Olive oil and health. **Wallingford: CAB. International**, 2006.

SÁNCHEZ-VILLEGAS, A.; SÁNCHEZ-TAINTA, A. Virgin olive oil. In The Prevention of Cardiovascular Disease through the Mediterranean Diet; **Academic Press: Cambridge**, MA, USA, 2018; pp. 59–87, ISBN 9780128112595.

SILVA, B. S.; SCHMIELE, M. From olive to olive oil: a general approach. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e32210313408, 2021

SILVA, S. F. Estabilidade de azeite de oliva extra virgem (*Olea europaea* L.) em diferentes sistemas de embalagem. 2011. 140 f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - Sp, 2011.

STEEL, C. J.; BLOCK, J. M.; BARRERA-ARELLANO, D. **Oxidación de lípidos**. In: BLOCK, J. M.; BARRERA-ARELLANO, D. Temas selectos en aceites y grasas, v. 2, São Paulo: Blucher, 2013.

TOUHIDYAN, Z., & GHAVAMI, A. Tocopherols as a Quick Meanto Identify the Origin of Vegetable Oils. **Journal of Food Bioscience sand Technology**, 11(1), 55-58. 2021.

TSIMIDOU, M. Z. Squalene and tocopherols in olive oil: importance and methods of analysis. In *Olives and olive oil in heal than disease prevention* (pp. 561-567). **Academic Press**. 2010.

UNCU, O. & OZEN, B. (2020). Importance of some minor compounds in olive oil authenticity and quality. **Trends in Food Science and Technology**, 100, 164-176

URPI-SARDA, M.; CASAS, R.; CHIVA-BLANCH, G.; ROMERO-MAMANI, E.S.; VALDERAS-MARTÍNEZ, P.; ARRANZ, S.; ANDRES-LACUEVA, C.; LLORACH, R.; MEDINA-REMÓN, A.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M.; ET AL. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet\_ectson inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharm. Res.* **2012**, 65, 577–583.

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

VOSSEN, P. M. Olive oil: History, production, and characteristics of the world"s classic oils. **Hort Science**, v.42, p.1093-1100, 2007.

YALCIN, S., & SCHREINER, M. Stabilities of tocopherols and phenolic compounds in virgin olive oil during thermal oxidation. **Journal of food science and technology**, 55(1), 244-251, 2018.

YU, L., WANG, Y., WU, G., JIN, J., JIN, Q. AND WANG, X. (2020), Quality and Composition of Virgin Olive Oils from Indigenous and European Cultivars Grown in China. **Jornal American Oil Chemical Society**, 97: 341-353.

ZAMBIAZI, R.Z. The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability. Manitoba/Canadá,. **Tese** (Doutorado em Fisiologia), Food as end Nutritional Sciences Interdepartmental Program, University of Manitoba. 304p, 1997