



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária

Estudos de estabilidade oxidativa em azeites monovarietais

Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar

Fernando Manuel Gomes Maia

Orientadora
Maria de Fátima Pratas Peres

Agosto de 2014



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária

Estudos de estabilidade oxidativa em azeites monovarietais

Fernando Manuel Gomes Maia

Orientadora

Maria de Fátima Pratas Peres

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Adjunta Maria de Fátima Peres, do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

Agosto de 2014

Agradecimentos

Ao longo dos meses que levaram à conclusão deste trabalho, há que referir que a sua realização só foi possível, graças ao apoio de várias pessoas e entidades, que através do contributo pessoal ou profissional me acompanharam e guiaram ao longo do estágio.

À minha orientadora de estágio Eng.^a Maria de Fátima Peres, pelo empenho e atenção prestada na elaboração da tese, conhecimentos transmitidos, disponibilidade, amabilidade e simpatia.

À Eng.^a Conceição Vitorino, pelo tempo, apoio, assistência, cooperação na parte experimental e disponibilidade.

À Eng.^a Cecília Gouveia, pelo auxílio e ajuda nas determinações analíticas, disponibilidade e otimismo.

À Escola Superior Agrária de Castelo Branco, pela disponibilidade que me foi concedida para a realização deste estágio.

Aos meus pais e irmão, as pessoas mais importantes para mim, por todo o amor, carinho, paciência, compreensão, motivação, pelo acreditar e força dada, para a conclusão de mais uma etapa da minha vida académica.

Aos meus amigos, por todo o apoio e incentivo.

Agradeço a todos aqueles, que direta ou indiretamente, me ajudaram.

A todos, o meu simples mas sincero;

Obrigado!

Resumo

O presente trabalho teve como principal objetivo o estudo da estabilidade oxidativa em azeites monovarietais, provenientes das cultivares 'Galega Vulgar', 'Cobrançosa', 'Carrasquenha', 'Bical', 'Picual', 'Manzanilha de Almendralejo', 'Conserva de Elvas', 'Cordovil de Serpa', 'Arbequina' e 'Azeiteira'.

O estudo foi realizado na campanha de 2013 / 2014 e os azeites foram obtidos em sistema laboratorial Abencor e em lagar industrial de centrifugação de duas fases. Efetuaram-se as determinações de acidez, índice de peróxido, análise por espectrofotometria no ultravioleta, composição em ácidos gordos, fenóis totais, pigmentos clorofilinos, cor e características cromáticas, atividade antioxidante e estabilidade oxidativa.

No presente estudo os azeites obtidos em lagar industrial apresentam valores de estabilidade oxidativa mais baixos que os obtidos em sistema Abencor. Tal resulta das condições de extração controladas em sistema Abencor, sobretudo por serem processados apenas frutos escolhidos sãos, o que não é possível de concretizar em ambiente industrial.

Os azeites Picual, Cobrançosa e Manzanilha apresenta os teores mais elevados em fenóis totais e o azeite Cobrançosa foi o que revelou maior atividade antioxidante. O azeite Picual destacou-se pela sua elevada estabilidade oxidativa em resultado do seu baixo teor de ácidos gordos polinsaturados e elevado teor de fenóis totais. Dentro das cultivares portuguesas o azeite proveniente da 'Galega Vulgar' foi o que apresentou a estabilidade oxidativa mais alta.

O conhecimento desta informação, fundamenta a eleição de diferentes cultivares com vista à produção e ao loteamento de azeites, em função das características de estabilidade oxidativa.

Palavras-chave:

Atividade antioxidante; Azeites monovarietais; Composição em ácidos gordos; Estabilidade oxidativa; Fenóis totais.

Abstract

The present work aimed to study the oxidative stability of monovarietal olive oils from different cultivars namely 'Galega Vulgar', 'Cobrançosa', 'Carrasquenha', 'Bical', 'Picual', 'Manzanilha de Almendralejo', 'Conserva de Elvas', 'Cordovil de Serpa', 'Arbequina' and 'Azeiteira'.

The study was conducted in the harvest season of 2013 / 2014 and the olive oils were obtained from laboratory Abencor system and from an industrial mill of two phase centrifugation. Several determinations were carried out such as acidity, peroxide value, ultraviolet spectrophotometry analysis, fatty acid composition, total phenols content, chlorophyllin pigments, color and chromatic characteristics, antioxidant activity and oxidative stability.

In the present study the oils obtained by industrial mill showed lower oxidative stability than those obtained by Abencor system. This is mainly because in the Abencor system only healthy fruits were processed which is not possible to do in an industrial mill.

Picual, Cobrançosa and Manzanilha virgin olive oils showed the highest levels of total phenols and Cobrançosa virgin olive oil showed the highest antioxidant activity. Picual olive oil showed the highest oxidative stability because of their low content of polyunsaturated fatty acids and high total phenols. Within the Portuguese olive cultivars the 'Galega Vulgar' olive oil presented the highest oxidative stability.

Based on this information, it is possible to select different cultivars from a point of view of production and blending of oils, in order to obtain a characteristic oxidative stability.

Keywords:

Antioxidant activity; Fatty acid composition; Monovarietal olive oils; Oxidative stability; Total phenols.

Índice Geral

1.	Introdução.....	1
2.	Azeite em Portugal e no Mundo.....	2
3.	Cultivares de azeitona para azeite.....	5
3.1	Denominação de Origem Protegida (DOP).....	6
3.2	Cultivares mais utilizadas para a produção de azeite em Portugal.....	7
4.	Fatores que influenciam a estabilidade oxidativa do azeite.....	9
4.1	Composição química do azeite.....	9
4.1.1	Ácidos gordos.....	10
4.1.2	Antioxidantes.....	11
4.2	Processo de oxidação.....	13
4.2.1	Auto - Oxidação.....	13
4.2.2	Foto - Oxidação.....	14
4.2.3	Avaliação do grau de oxidação lipídica.....	14
4.3	CrITÉrios de qualidade.....	15
4.4	Processo de extração.....	18
4.4.1	Sistema de extração por prensas.....	19
4.4.2	Sistemas contínuos de extração por centrifugação.....	19
4.5	Armazenamento.....	21
5.	Material e métodos.....	21
5.1	CrITÉrios de qualidade.....	23
5.1.1	Acidez.....	23
5.1.2	Índice de peróxido.....	23
5.1.3	Análise por espectrofotometria no ultravioleta.....	24
5.2	Composição química.....	24
5.2.1	Ácidos gordos componentes.....	24
5.2.2	Fenóis totais.....	25
5.2.3	Pigmentos clorofilinos.....	26
5.2.4	Cor e características cromáticas.....	27
5.3	Determinação da atividade antioxidante.....	27
5.4	Estabilidade oxidativa.....	28
6.	Resultados e discussão.....	29
6.1	CrITÉrios de qualidade.....	29
6.2	Composição em ácidos gordos.....	31
6.3	Fenóis totais.....	33
6.4	Pigmentos clorofilinos, cor e características cromáticas.....	34

6.5	Atividade antioxidante	35
6.6	Estabilidade oxidativa.....	37
7.	Considerações finais	40
	Referências bibliográficas.....	41

Índice de Figuras

Figura 2.1 – Consumo de azeite per capita	4
Figura 2.2 – Diagrama de fluxo de azeite nos países da UE e bacia mediterrânea e no Mundo	4
Figura 3.1 – Distribuição geográfica dos diferentes azeites com DOP em Portugal	6
Figura 4.1 – Reação de esterificação que dá origem ao triacilglicerol.....	9
Figura 4.2 – Grau de insaturação dos ácidos gordos	10
Figura 4.3 – Estrutura química do tirosol e hidroxitirosol	12
Figura 4.4 – Estrutura química do tocoferol	12
Figura 4.5 – Diagrama do teste de estabilidade oxidativa	15
Figura 4.6 – Curva de indução	15
Figura 4.7 – Diagrama do processo de extração do azeite	18
Figura 4.8 – Capacho com massa colocada por distribuidor	19
Figura 4.9 – Prensagem dos capachos	19
Figura 4.10 – Centrifugadora horizontal de 3 fases.....	20
Figura 4.11 – Centrifugadora horizontal de 2 fases.....	20
Figura 5.1 - Curva de calibração para fenóis totais	26
Figura 5.2 - Esquema de equipamento Rancimat 679 de Metrohm	28
Figura 6.1 - Fenóis totais dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor	33
Figura 6.2 - Teor de pigmentos clorofilinos dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor.....	34
Figura 6.3 - Atividade antioxidante pelo método de redução de DPPH dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor	36
Figura 6.4 – Evolução da atividade antioxidante pelo método de redução de DPPH dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor	36
Figura 6.5 – Relação entre a redução de DPPH versus teor de fenóis totais.....	37
Figura 6.6 – Estabilidade oxidativa dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor	38
Figura 6.7 – Relação entre estabilidade oxidativa versus relação ácido oleico / linoleico	39
Figura 6.8 – Relação entre estabilidade oxidativa versus fenóis totais	39

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 – Área de olival para azeite, segundo o recenseamento agrícola 2009.....	2
Tabela 2.2 – Campanha 2013 / 2014	2
Tabela 2.3 – Principais países produtores de azeite, e respectiva produção (2008 – 2012).....	3
Tabela 2.4 – Quantidade de azeite produzido pelos países emergentes.....	3
Tabela 3.1 – Principais cultivares de Espanha, Itália, Grécia e Portugal	5
Tabela 3.2 – Especificação das variedades de azeitonas e características para os diferentes azeites DOP portugueses	7
Tabela 3.3 – Características das cultivares utilizadas para obtenção de azeites monovarietais em estudo.....	8
Tabela 4.1 – Ácidos gordos e respectivo teor para azeite virgem extra	11
Tabela 4.2 – Principais ácidos gordos presentes o azeite e sua estrutura química.....	11
Tabela 4.3 – Características do azeite virgem extra ao abrigo do Reg. (UE) nº 1348/2013	17
Tabela 5.1 – Amostras dos diferentes tipos de azeite em estudo.....	22
Tabela 5.2 – Programação de temperaturas do cromatógrafo de fase gasosa	25
Tabela 6.1 - Resultado dos critérios de qualidade dos azeites estudados provenientes de lagar industrial.....	29
Tabela 6.2 - Critérios de qualidade dos azeites estudados provenientes de equipamento laboratorial Abencor	30
Tabela 6.3 - Composição em ácidos gordos dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor.....	31
Tabela 6.4 AGM, AGPI, AGS e relação ácido oleico / linoleico dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor	32
Tabela 6.5 - Cor e características cromáticas dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor.....	35

Lista de abreviaturas

- ADN** - Ácido desoxirribonucleico
AGM - Ácidos gordos monoinsaturados
AGS - Ácidos gordos saturados
AGPI - Ácidos gordos polinsaturados
COI - Conselho oleícola internacional
DOP - Denominação de Origem Protegida
DPPH - 2,2-difenil.1-picril-hidrazil
ECN - Equivalent carbon number (Número de átomos de carbono equivalente)
E.O. - Estabilidade oxidativa
FAEE - Ésteres etílicos de ácidos gordos
FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)
GAE - Equivalentes de ácido gálico
GPP - Gabinete de Planeamento e Políticas
HDL - High Density Lipoproteins (lipoproteínas de alta densidade)
HPLC - High Pressure Liquid Chromatography (Cromatografia líquida de alta pressão)
IM - Índice de maturação
IP - Índice de peróxido
IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry (União Internacional de Química Pura e Aplicada)
LDL - Low Density Lipoproteins (lipoproteínas de baixa densidade)
LLME - Micro extração líquido - líquido
Md - Mediana dos defeitos
Mf - Mediana do frutado
NP - Norma Portuguesa
O/L - Oleico / Linoleico
POO - Palmitidoleína
SIAZ - Sistema de informação sobre o azeite e azeitona de mesa
Stat. - Statistics (estatísticas)
UE - União Europeia

1. Introdução

A produção do azeite é uma das atividades agrícolas mais característica da região mediterrânea e o setor oleícola apresenta um papel importante no crescimento e desenvolvimento económico, social e cultural de um país. A Indústria Agro - Alimentar, onde se encontra integrado este setor, tem vindo ao longo do tempo a trabalhar de forma a obter produtos que satisfaçam as exigências dos consumidores, do ponto de vista nutricional, ambiental e de segurança e qualidade alimentar.

Ao longo dos anos, têm-se aperfeiçoado as formas de produção de diferentes cultivares de azeitona, com o objetivo de satisfazer as necessidades e gostos dos diferentes consumidores, verificando-se atualmente que o azeite virgem extra, tem tido cada vez mais procura, não só pelas suas características do ponto de vista nutricional e sensorial, mas também pelas suas aplicações gastronómicas e pelas suas propriedades benéficas para a saúde (Romani et al., 2007).

A capacidade de obter um azeite virgem extra de qualidade depende de fatores como o estado sanitário, a maturação, o processo de extração e o armazenamento dos frutos. A avaliação das etapas anteriores vai ao encontro de preservar e manter as características únicas das cultivares utilizadas para a produção de azeite (Romani et al., 2007).

A estabilidade oxidativa dos azeites é um dos parâmetros que pode auxiliar o produtor sobre a possibilidade de uma comercialização imediata ou em alternativa possibilitar um armazenamento prolongado dos azeites. A existência de informação sobre a estabilidade oxidativa de azeites monovarietais é de grande importância para os produtores uma vez que ajuda a realizar os loteamentos mais adequados, não só em função das suas características organolépticas como do seu tempo de prateleira provável.

Com o presente trabalho, pretendeu-se caracterizar a estabilidade oxidativa de azeites monovarietais (Galega, Cobrançosa, Carrasquenha, Bical, Picual, Manzanilha, Conserva de Elvas, Cordovil de Serpa, Arbequina e Azeitona) obtidos de azeitonas em diferentes estados de maturação. Paralelamente efetuou-se a caracterização química dos azeites bem como a avaliação da sua capacidade antioxidante.

A disponibilidade desta informação pode permitir fundamentar a eleição de diferentes cultivares com vista à produção e ao loteamento de azeites.

2. Azeite em Portugal e no Mundo

O azeite tem a sua maior representatividade nos países mediterrâneos, sendo talvez a cultura da oliveira a que possui o registo mais antigo da história (Aparício e Hardwood, 2003). Estima-se que o património oleícola existente ocupe uma área de 10 milhões de hectares, onde 98 % do total situa-se em países da bacia mediterrânea, 1,2 % no continente americano, 0,4 % na Ásia Oriental e 0,4 % na Oceânia (Civantos, 2008).

Em Portugal a cultura da oliveira encontra-se distribuída por todo o território, sendo o Alentejo a principal região produtora (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Área de olival para produção de azeite, segundo o recenseamento agrícola 2009.

Regiões Agrárias	Área ha	Quota Regional %
Norte	73.405	22
Centro	61.422	19
Lisboa e Vale do Tejo	25.479	8
Alentejo	163.235	49
Algarve	8.210	2
Total	331.751	100,0

Fonte: Adaptado de SIAZ-GPP, 2009.

De acordo com o SIAZ-GPP (2014), estima-se que a campanha 2013 / 2014 (Tabela 2.2) tenha atingido a produção de 81,3 mil toneladas de azeite, excedendo a quantidade de azeite consumida (78 mil t/ano), garantindo assim a auto - suficiência deste produto em Portugal.

Tabela 2.2 - Campanha 2013 / 2014.

Mês	Azeite Kg	Extraído %	Azeitona Laborada kg	Rendimento Médio %
Outubro 2013	1.497.998	1,8	12.907.009	11,6
Novembro 2013	24.574.931	30,2	195.257.031	12,6
Dezembro 2013	41.722.595	51,3	264.813.137	15,8
Janeiro 2014	13.509.183	16,6	80.892.356	16,7
Total	81.304.707	100,0	553.869.533	14,7

Fonte: Adaptado de SIAZ-GPP, 2014.

De acordo com dados da FAO (2014) os países que lideram a produção mundial são Espanha, Itália e Grécia, enquanto Portugal é atualmente o oitavo maior produtor de azeite (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 - Principais países produtores de azeite e respectiva produção (2008 - 2012).

País	Toneladas de azeite				
	2008	2009	2010	2011	2012
Espanha	1.044.687,00	1.247.300,00	1.498.500,00	1.585.200,00	1.382.900,00
Itália	563.900,00	517.460,00	526.778,00	543.000,00	572.000,00
Grécia	328.273,00	305.000,00	341.200,00	331.200,00	350.200,00
Turquia	99.500,00	145.600,00	162.600,00	184.200,00	206.300,00
Síria	156.338,00	168.163,00	194.995,00	208.329,00	200.000,00
Tunísia	160.000,00	150.000,00	174.600,00	112.400,00	192.600,00
Marrocos	75.000,00	111.600,00	146.700,00	133.500,00	120.100,00
Portugal	58.742,00	68.185,00	68.683,00	83.191,00	79.600,00

Fonte: Adaptado de FAO, 2014

Na última década, países como a Argentina, Chile, Estados Unidos e Austrália, têm vindo a aumentar a sua produção de azeite (Tabela 2.4), de forma a diminuir as quantidades importadas dos países da UE e da bacia mediterrânea, de modo a satisfazer a procura dos seus mercados internos. Este grande aumento na produção tem sido acompanhado por um forte investimento no melhoramento genética das cultivares, nas técnicas agronómicas e processos de extração, de forma a obter azeites virgens de qualidade capazes de concorrer com os provenientes do mercado externo.

Tabela 2.4 - Quantidade de azeite produzido pelos países emergentes.

País	Toneladas de azeite				
	2008	2009	2010	2011	2012
Argentina	25.700,00	21.000,00	18.000,00	21.600,00	29.400,00
Chile	2,902.50	4,050.00	4,350.00	6,930.00	8,880.00
Estados Unidos	2,500.00	3,000.00	3,300.00	4,700.00	8,000.00
Austrália	5,400.00	5,638.00	7,200.00	8,196.03	6,750.00

Fonte: Adaptado de FAO, 2014

O aumento do consumo de azeite está relacionado com os benefícios para a saúde e as características organolépticas que advêm da sua composição, sendo estas as principais responsáveis pela qualidade (Gutierrez et al., 2009).

O Regulamento (CE) nº 182/2009 da Comissão de 6 de Março de 2009 prevê um conjunto de normas para a comercialização de azeite entre os Estados - Membros da UE e os países terceiros, de forma a uniformizar informação sobre denominações de venda, informação suplementar de rotulagem e indicações de origem dos loteamentos a comercializar.

De acordo com os dados apresentados na Figura 2.1 os países que apresentam um consumo per capita de azeite mais elevado, são os países produtores da União Europeia. Este fato deve-se em grande parte à sua disponibilidade no mercado e a uma forte ligação gastronómica. Contudo, tem-se vindo a verificar um forte aumento em países fora das principais zonas de produção, como Austrália, Estados Unidos, Japão, Canadá e Brasil.

Na Figura 2.2 podemos observar um diagrama de fluxo de azeite entre países da UE e bacia mediterrânea, bem como no Mundo.

O aumento do consumo de azeite em países fora das áreas de produção nos últimos anos deve-se em grande parte à forte divulgação dos efeitos benéficos da prática de uma dieta mediterrânea, assumindo um importante papel devido às suas características químicas, biológicas, organoléticas e terapêuticas (Rodrigues et al., 2012).

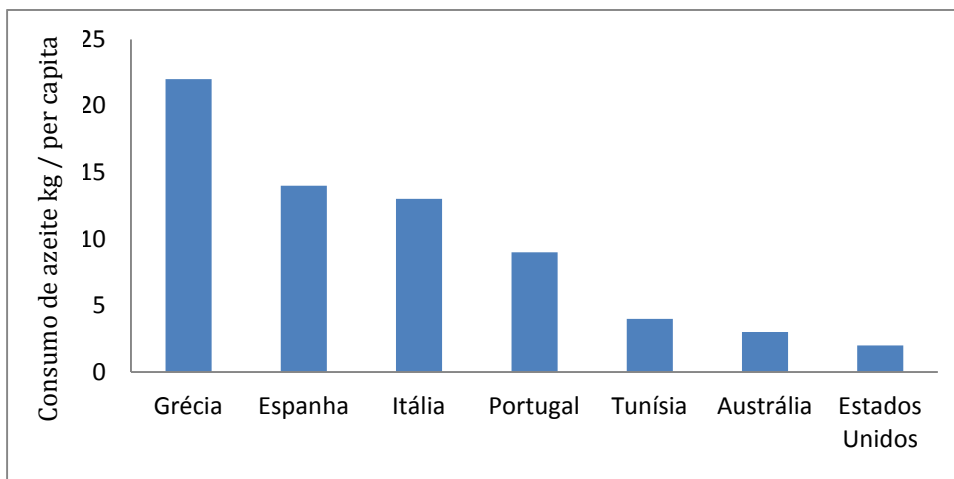


Figura 2.1 - Consumo de azeite per capita (adaptado de FAO, 2014).

De acordo com U.S. International Trade Commission, 2013, os países da UE e os países pertencentes à bacia mediterrânea, movimentaram no ano de 2012 um fluxo de azeite entre importação e exportação, de cerca de 243,3 mil toneladas, tendo como principal motivo a criação de loteamentos de azeites, para corresponder às necessidades de procura do mercado interno e externo.

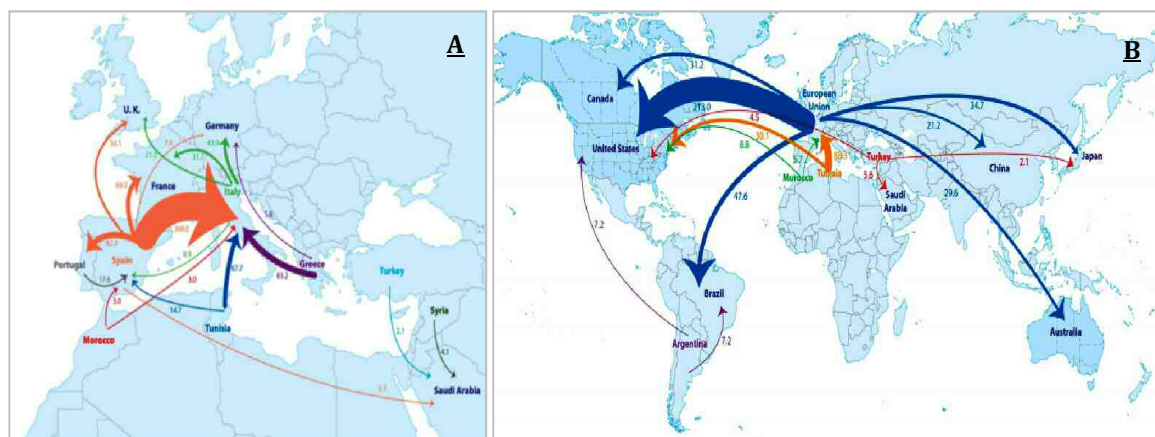


Figura 2.2 - Diagrama de fluxo de azeite nos países da UE e bacia mediterrânea (A) e no Mundo (B) (adaptado de U.S. International Trade Commission, 2013)

De acordo com U.S. International Trade Commission, 2013, os países da UE e os países pertencentes à bacia mediterrânea, movimentaram no ano de 2012 um fluxo de azeite exportado para países como Austrália, Estados Unidos, Japão, Canadá e Brasil no valor de 446,8 mil toneladas de azeite.

3. Cultivares de azeitona para azeite

Os principais países produtores da UE (Espanha, Itália, Grécia e Portugal) apresentam cultivares únicas, muitas delas apenas num meio geográfico específico, que produzem azeites com características químicas e organolépticas distintas.

De acordo com Barranco et al., (2000), as cultivares de oliveiras podem ser divididas em três categorias:

- **Cultivares principais:** correspondem a cultivares que apresentam a maior importância e área de difusão;
- **Cultivares secundárias:** correspondem a cultivares que apresentam uma área de cultivo com algum relevo;
- **Cultivares isoladas ou locais:** correspondem a cultivares que se apresentam sobretudo em determinadas áreas geográficas delimitadas.

Segundo Barranco et al., 2000, os países como Espanha, Itália, Grécia e Portugal apresentam como principais cultivares de azeitona para produção de azeite as que se encontram referidas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Principais cultivares de Espanha, Itália, Grécia e Portugal.

País	Cultivares
Espanha	Picual; Arbequina; Hojiblanca; Cornicabra.
Itália	Frantoio; Leccino; Moraiolo; Coratina; Carolea.
Grécia	Koroneiki; Kalamata; Tsounati.
Portugal	Galega; Cordovil; Madural; Cobrançosa; Verdeal Transmontana.

Fonte: Adaptado de Barranco et al., 2000.

Em Portugal, as principais cultivares de azeitona, apresentam uma grande importância no setor olivícola, pois todas elas encontram-se ligadas à produção de azeites DOP contribuindo assim para a criação de um produto com valor acrescentado.

3.1 Denominação de Origem Protegida (DOP)

Segundo o Regulamento (CE) n.º 510/2006 do Conselho de 20 de Março de 2006, entende-se por Denominação de Origem Protegida (DOP), “o nome de uma região, de um local determinado ou, em casos excepcionais, de um país, que serve para designar um produto agrícola ou género alimentício, cuja qualidade ou características se devem essencialmente ou exclusivamente a um meio geográfico específico, incluindo fatores naturais e humanos, cuja produção, transformação e elaboração ocorrem numa área geográfica delimitada”.

Em Portugal existem sete Denominações de Origem Protegidas para azeites, sendo que a DOP azeites da Beira Interior pode ser dividida em azeites da Beira Alta e azeites da Beira Baixa, como se pode verificar na Figura 3.1.



Figura 3.1 - Distribuição geográfica dos diferentes azeites DOP em Portugal (adaptado de Casa do Azeite, 2014).

As DOP têm origem numa área geográfica delimitada, com solos e clima característicos, elaborados com azeitonas de variedades de oliveiras em proporções específicas. Estes fatores, aliados às condições de colheita e transporte para o lagar e condições de laboração, dão origem a um azeite com características químicas e sensoriais únicas (Casa do Azeite, 2014).

Um azeite desta categoria tem que apresentar na sua embalagem a referência e o selo comunitário da Denominação de Origem Protegida, bem como a marca da entidade certificadora (Casa do Azeite, 2014).

Na Tabela 3.2 podemos observar os diferentes tipos de azeites DOP, bem como as suas características e variedades de azeitonas que entram na sua composição.

Tabela 3.2 - Especificação das variedades de azeitonas e características para os diferentes azeites DOP portugueses

Azeites DOP	Variedade	Características
Azeites de Trás-os-Montes	Verdeal; Madural; Cobrançosa; Negrinha do Freixo.	Azeite equilibrado, com cheiro e sabor a fresco, por vezes amendoado. Notável sensação verde, amargo e picante.
Azeites da Beira Interior (Azeite da Beira Alta e Azeite da Beira Baixa)	Galega; Cobrançosa; Carrasquenha.	Azeite de cor amarela clara a levemente esverdeada. Sabor a fruto fresco. Bastante suave.
Azeites do Ribatejo	Galega; Cobrançosa.	Azeite ligeiramente espesso, frutado, com cor amarela ouro, por vezes ligeiramente esverdeado. Sabor marcadamente doce e suave.
Azeites do Norte Alentejano	Galega; Blanqueta; Cobrançosa; Azeiteira; Carrasquenha; Redondil.	Azeite de baixa a muito baixa acidez, ligeiramente espesso, frutado, com cor amarelo ouro por vezes esverdeada, aroma e sabor suave.
Azeites do Alentejo Interior	Galega; Cordovil de Serpa; Cobrançosa.	Azeite com cor amarela dourada ou esverdeada, aroma frutado suave de azeitona madura e/ou verde e outros frutos, nomeadamente maçã e figo. Grande sensação de doce.
Azeites de Moura	Verdeal; Cordovil; Galega.	Azeite de baixa a muito baixa acidez, cor amarela esverdeada com aroma e sabor frutado. Amargo e picante.

Fonte: Adaptado das memórias descritivas entregues à CE. Denomination Information (2014).

3.2 Cultivares mais utilizadas para a produção de azeite em Portugal

Devido à sua proximidade geográfica com Espanha, o olival de Portugal apresenta características semelhantes, que possibilitam o cultivo de variedades comuns de ambos. Nestes últimos anos o território português aumentou a área de implantação de olival, com diferentes tipos de cultivares principalmente de origem espanhola, resultante de uma forte aposta dos olivicultores espanhóis na implementação de olivais com possibilidade de regadio em sistemas de produção intensivo (Bohm et al., 2013).

A olivicultura moderna tem especial cuidado com diversos fatores que influenciam a qualidade do azeite, nomeadamente o estado de maturação da azeitona no momento da colheita, o método utilizado para a colheita e o acondicionamento dos frutos antes da laboração. Estes fatores influenciam significativamente a qualidade do azeite (Lopes et al., 2009).

De acordo com Pastor et al. (2010) o olivicultor cada vez mais programa a plantação de um novo olival pensando no produto final, colocando percentagens distintas de diferentes cultivares, para obter o lote pretendido, ou seja, já procura obter um azeite com determinadas características específicas a nível químico e organolético. Assim, torna-se fundamental conhecer as características das cultivares a utilizar tendo em conta variáveis como o teor de gordura, a produtividade, a alternância e as características do azeite.

Na Tabela 3.3 encontra-se o exemplo de uma breve descrição das características das cultivares utilizadas para obtenção de azeites monovarietais em estudo neste trabalho.

Tabela 3.3 - Características das cultivares utilizadas para obtenção de azeites monovarietais em estudo.

Cultivar	Teor em gordura (%)	Produtividade	Alternância	Características do azeite	Imagem
Arbequina	> 22	Grande	Pequena	Boas características organoléticas, baixa estabilidade oxidativa	
Azeiteira	14 – 16	Grande	Pequena	Baixo teor em ácido linoleico	
Bical	> 22	Média	Grande	Boa qualidade	
Carrasquenha	22 – 24	Grande	Média	Riqueza mediana em ácido linoleico	
Cobrançosa	18 – 22	Média – Grande	Pequena	Riqueza mediana em ácido linoleico	
Conserva de Elvas	18 – 22	Pequena	Grande	Alto teor em ácido linoleico	
Cordovil de Serpa	22 – 25	Grande	Média - Grande	Boa qualidade, mas de baixo teor em ácido linoleico	
Galega	16 – 19	Grande	Média	Boa qualidade e boa estabilidade	
Manzanilha	18 – 22	Grande	Grande	Boa qualidade e boa estabilidade	
Picual	20 – 24	Grande	Pequena - Média	Boa qualidade e boa estabilidade	

Fonte: Adaptado de Leitão, 1988.

4. Fatores que influenciam a estabilidade oxidativa do azeite

Existem diversos fatores que têm um papel importante na estabilidade oxidativa de um azeite de uma forma direta ou indireta, nomeadamente, a composição química em ácidos gordos e a presença de antioxidantes, que por sua vez são influenciados pelos fatores agronómicos na produção de azeitona, pelo processo de extração e pelo seu armazenamento.

A estabilidade oxidativa é um parâmetro fundamental para a determinação da qualidade de um azeite virgem extra. Esta permite avaliar a suscetibilidade de apresentar maior ou menor alteração oxidativa o que representa um dos maiores problemas para o azeite (Bendini et al., 2005).

A melhor forma de preservar a estabilidade oxidativa de um azeite é tomando algumas precauções simples e lógicas, como a utilização de azeitonas em bom estado sanitário, manter limpas e higienizadas todas as superfícies e equipamentos. O azeite deve ser armazenado ao abrigo do oxigénio, luz e calor (COI, 1991).

4.1 Composição do azeite

Segundo Civantos (2008), a composição do azeite pode ser dividida em dois grupos de compostos químicos: fração saponificável e fração insaponificável.

A fração saponificável (insolúvel em água) representa mais de 98 % do peso total do azeite, esta é constituída essencialmente por triacilgliceróis, contudo apresenta ainda diacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos gordos livres (Harwood et al., 2003). Na Figura 4.1, encontra-se representada a reação de esterificação que dá origem ao triacilglicerol, resultante da combinação de uma molécula de glicerol com três moléculas de ácidos gordos. A sua formação ocorre quando os grupos hidroxilo (OH da molécula de glicerol) reagem com o ácido carboxílico (COOH das moléculas de ácidos gordos) (Civantos, 2008).

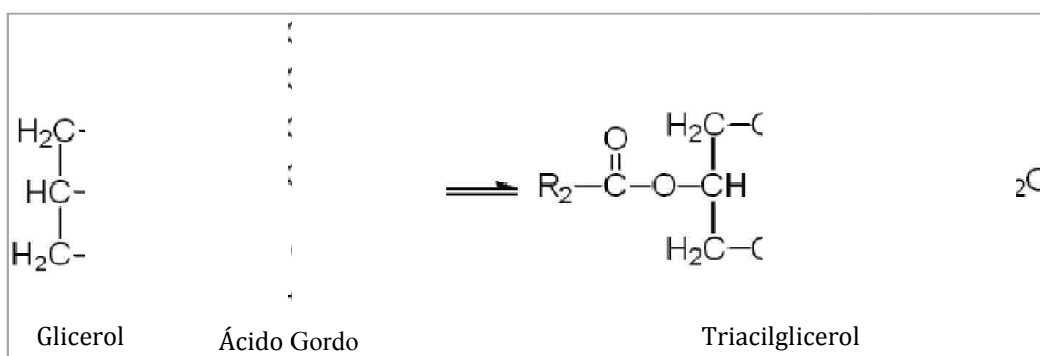


Figura 4.1 - Reação de esterificação que dá origem ao triacilglicerol (adaptado de Hamilton et al., 1999).

Segundo Gutierrez e Carretero (2009), o azeite virgem extra pode apresentar mais de 70 variações de triacilgliceróis, sendo os principais:

- Trioleína (OOO) – Constituindo 62 % do azeite.
- Palmitodioleína (POO) – Constituindo 30 % do azeite.
- Linoleioleína (OOL) – Constituindo 4 % do azeite.
- Outros – Constituindo 4 % do azeite.

De acordo com Harwood e Aparício (2003), os compostos menores representam menos de 2 % do peso total do azeite, apresentando muita importância no comportamento, mostrando-se relevantes para a sua qualidade e caracterização química. Neste grupo incluem-se diversos compostos nomeadamente tocoferóis, esteróis, fenóis, álcoois triterpênicos, hidrocarbonetos, pigmentos, fosfolípidos, ceras e substâncias voláteis.

Os efeitos benéficos do consumo de azeite eram atribuídos exclusivamente aos AGM, contudo a evidência científica aponta também para a importância dos componentes minoritários de que se destacam os compostos fenólicos (Dell'Agli et al., 2006).

Os compostos fenólicos, (fenóis hidrofílicos e tocoferóis) são constituintes muito importantes para a estabilidade do azeite, tendo também um papel benéfico para a saúde, funcionando como antioxidantes naturais (Romani et al., 2007). Relativamente aos fenóis lipofílicos, a molécula do composto α - tocoferol é tradicionalmente considerada como o antioxidante maioritário nos óleos vegetais, representando mais de 90 % dos tocoferóis totais presentes no azeite (Boskou et al., 1995).

4.1.1 Composição em ácidos gordos

A composição em ácidos gordos de um azeite pode apresentar inúmeras variações, dependendo de fatores como: a cultivar, a maturação do fruto, a altitude e o clima (Mendoza et al., 1997).

O conhecimento da composição quantitativa e qualitativa dos ácidos gordos tem vindo a ser de grande importância para a determinação de azeites adulterados (Harwood et al., 2003). Tal resulta sobretudo da determinação prevista na regulamentação comunitária relativamente à avaliação da variação do ECN 42. O azeite apresenta um elevado teor de ácidos gordos monoinsaturados, especialmente ácido oleico (55 - 83 %), que o torna num alimento funcional com benefícios para a saúde dos consumidores (Gutierrez et al., 2009).

Os ácidos gordos são classificados em função do grau de insaturação:

- **Ácidos gordos saturados (AGS):** apresentam cadeia hidrogenada sem ligações duplas.
- **Ácidos gordos monoinsaturados (AGM):** apresentam cadeia hidrocarbonada com uma ligação dupla.
- **Ácidos gordos poliinsaturados (AGPI):** apresentam cadeia hidrocarbonada com duas ou mais ligações duplas.

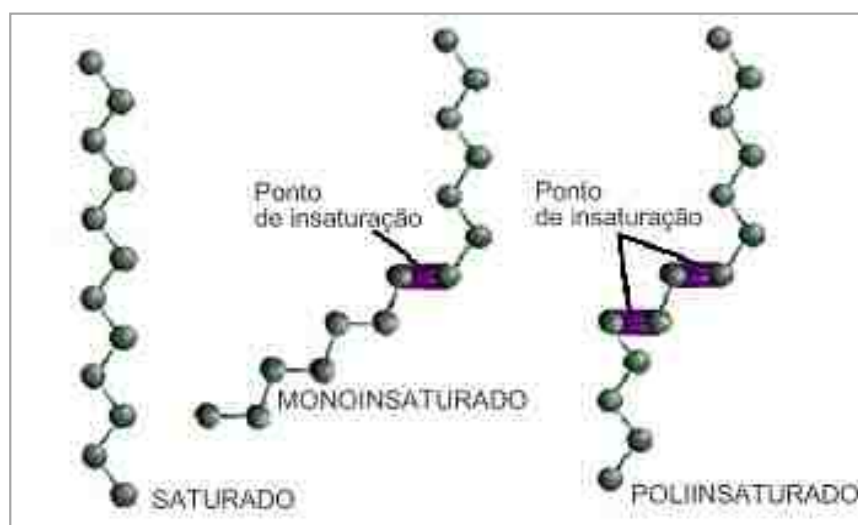


Figura 4.2 - Grau de insaturação dos ácidos gordos.

O Regulamento (UE) nº 1348/2013 de 16 de Dezembro determina o teor em percentagem dos ácidos gordos para os vários tipos de azeite. Na Tabela 4.1 encontra-se representado o teor em

percentagem de ácidos gordos correspondentes para o azeite virgem extra, bem como o grau de insaturação de cada um deles.

Tabela 4.1 - Ácidos gordos e seu teor para azeite virgem extra.

Ácidos Gordos	Grau de insaturação n ^o de C : ligações duplas	Teor de ácidos gordos (%) Azeite Virgem Extra
Mirístico	C 14:0	≤ 0,03
Palmítico	C 16:0	7,5 – 20,0
Palmitoleico	C 16:1	0,3 – 3,50
Heptadecanóico	C 17:0	≤ 0,30
Heptadecenóico	C 17:1	≤ 0,30
Esteárico	C 18:0	0,50 – 5,00
Oleico	C 18:1	55,00 – 83,00
Linoleico	C 18:2	3,50 – 21,00
Linolénico	C 18:3	≤ 1,00
Araquídico	C 20:0	≤ 0,60
Gadoleico	C 20:1	≤ 0,40
Beénico	C 22:0	≤ 0,20
Lignocérico	C 24:0	≤ 0,20

Fonte - Adaptado do Anexo I do Regulamento (UE) n^o 1348/2013

Os principais ácidos gordos presentes no azeite são o palmítico, esteárico, oleico e linoleico encontrando-se representados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 - Principais ácidos gordos presentes no azeite e sua estrutura química

Ácidos Gordos	Estrutura química
Palmítico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{OH} \end{array}$
Esteárico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{OH} \end{array}$
Oleico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{OH} \end{array}$
Linoleico	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_5 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{OH} \end{array}$

Fonte: Adaptado de Gutierrez et al., 2009.

4.1.2 Composição em antioxidantes

A azeitona e os seus derivados, nomeadamente o azeite, são produtos com grande importância na dieta mediterrânea sendo reconhecidos pelo seu valor como fonte de compostos antioxidantes (Bendini et al., 2005).

Segundo COI, 1991, os antioxidantes presentes no azeite, são geralmente de carácter fenólico, onde a sua concentração neste depende essencialmente de três fatores:

- Cultivar de azeitona;
- Maturação e estado sanitário;
- Processo de extração.

Os antioxidantes presentes no azeite podem definir-se como substâncias que, numa concentração consideravelmente menor do que a do substrato oxidável, retardam o ranço oxidativo, diminuindo a velocidade da reação ou prolongando o seu tempo de indução (Silva et al., 1999).

Dos antioxidantes naturais presentes no azeite virgem extra é importante referir os compostos fenólicos, tocoferóis, esqualeno, ácido cafeico, ácidos fenólicos e ésteres não identificados. Dentro dos antioxidantes mais importantes destacam-se os compostos fenólicos (tirosol (4-hidroxifeniletanol) e o hidroxitirosol (3,4-dihidroxifeniletanol)) (Figura 4.3) e os tocoferóis, pois revelam mais propriedades bioativas (Boskou et al., 1995).

Os componentes fenólicos são então capazes de desempenhar uma ação benéfica sobre a oxidação lipídica e sobre os danos oxidativos no ADN, assumindo um importante papel na saúde (Owen et al., 2000).

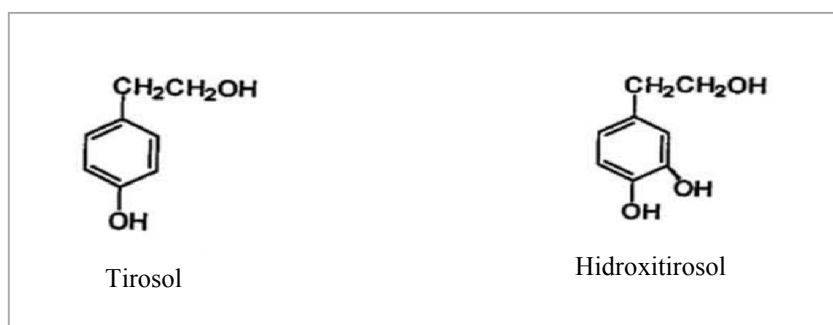


Figura 4.3 - Estrutura química do composto tirosol e hidroxitirosol (Boskou et al., 2006).

Segundo Owen et al. (2000), os compostos fenólicos (tirosol e hidroxitirosol), são considerados potentes agentes antioxidantes capazes de eliminar radicais livres e oxidantes, inibindo a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e promovendo as lipoproteínas de alta densidade (HDL). As LDL, responsáveis pelo “mau colesterol”, aumentam o risco de desenvolver numerosas doenças cardio – vasculares e oncológicas; por sua vez, a promoção das HDL responsáveis pelo “bom colesterol” diminuem o risco de desenvolvimento das patologias anteriores.

Os tocoferóis existentes no azeites são o α , β , γ e δ - tocoferol, sendo que o isómero δ possui a maior atividade antioxidante para gorduras, seguido pelo γ e β .

Na Figura 4.4 encontra-se esquematizada a molécula deste antioxidante.

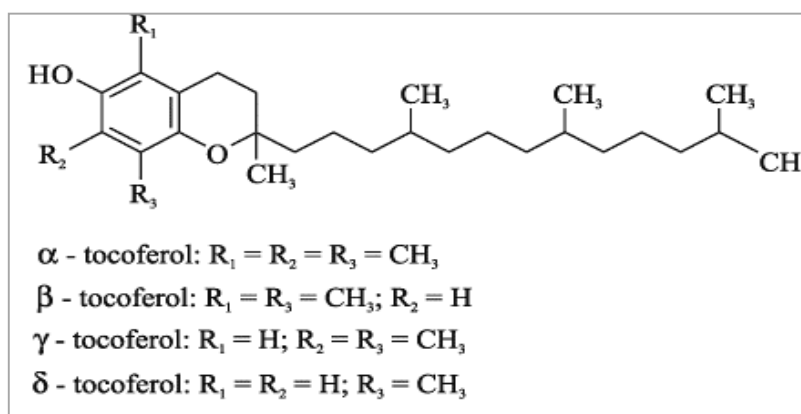


Figura 4.4 - Estrutura química do tocoferol (Hamilton et al., 1999).

4.2 Processo de oxidação

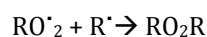
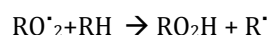
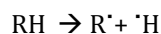
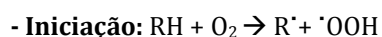
A oxidação lipídica é um processo de degradação natural e irreversível, pelo que se pretende obter sempre azeites com maior estabilidade, aumentando assim o tempo de prateleira, sem perda de qualidade e características nutricionais consideráveis, ou seja sem a produção de sabores e odores desagradáveis e até mesmo uma eventual formação de compostos tóxicos (Mateos et al., 2006).

Segundo Civantos (2008), os agentes potenciadores do processo de oxidação são:

- **Exposição ao oxigénio atmosférico** - O contacto com o oxigénio promove a oxidação. Quanto maior for esse contacto, maior será a velocidade de reação. As operações de transfega, limpeza e enchimento de depósitos, são aspetos a ter em consideração. No início do processo de oxidação, este é lento devido à existência de compostos antioxidantes, contudo quando é alcançado um determinado nível de peróxidos, a velocidade da reação aumenta, resultando na formação do defeito sensorial ranço.
- **Exposição ao calor** - O calor excessivo acelera o processo de auto - oxidação, favorecendo a formação de peróxidos e a sua transformação, originando aldeídos e cetonas responsáveis pelo sabor a ranço.
- **Exposição à luz** - A luz tal como o calor, favorece as reações entre o azeite e o oxigénio atmosférico.
- **Contacto com ligas metálicas não inertes** - A presença de metais não inertes (ligas metálicas de ferro ou cobre) mesmo que em pequenas quantidades, produz uma aceleração no processo oxidativo resultando na formação do defeito ranço, bem como o defeito metálico.
- **Enzimas** - A presença de enzimas promove a oxidação enzimática dos ácidos gordos insaturados, responsáveis por alterações sensoriais.

4.2.1 Auto - oxidação

O processo de auto - oxidação ocorre por ação de espécies reativas de oxigénio ou os chamados radicais livres. Este processo é temporariamente inibido pelos antioxidantes naturais do azeite que têm a capacidade de reagir com esses radicais livres (Kiritsakis, 1998). Os ácidos gordos insaturados são usualmente os ácidos afetados por este tipo de reações quando se apresentam como ácidos gordos livres ou triacilgliceróis (Shahidi, 2005). O processo ocorre através de uma reação em cadeia de radicais livres, que ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação, como se encontra apresentado de seguida (Frankel, 1998).



A etapa de iniciação surge quando os ácidos gordos insaturados (RH) perdem um átomo de hidrogénio instável (H^{\cdot}), originando radicais livres (R^{\cdot}). Esta etapa é catalisada pela presença do oxigénio atmosférico, mas também pelo calor e pela luz (Hamilton et al., 1999).

Na etapa de propagação, os radicais livres dos ácidos gordos (R^{\cdot}) reagem com o oxigénio formando radicais peróxido (ROO^{\cdot}). Estes, por sua vez, reagem com novos ácidos gordos insaturados para produzir hidroperóxidos (ROOH) de natureza instável e outros radicais livres, desencadeando o mecanismo de propagação. Esta cadeia de reações prossegue até se esgotarem os ácidos gordos insaturados ou até os radicais livres se inativarem uns aos outros (Hamilton et al., 1999).

Na etapa de terminação, formam-se produtos monoradicaais estáveis, nomeadamente os produtos de oxidação secundária, responsáveis pelo aparecimento de odores e sabores desagradáveis, ranço e cor amarelada (Hamilton et al., 1999).

4.2.2 Foto - oxidação

A foto-oxidação ocorre quando o azeite está exposto a fontes de luz natural e/ou artificial (incluindo lâmpadas halógenas e luzes das zonas comerciais). Esta provoca a deterioração do azeite, tornando-o mais amarelo, podendo ocorrer mais rápido do que a auto - oxidação (Kiritsakis, 1998).

O processo envolve reações radicalares, cujo resultado é a formação de hidroperóxidos diferentes dos que se observam na ausência da luz e de sensibilizadores, que por degradação posterior originam aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos (Civantos, 2008).

4.2.3 Avaliação do grau de oxidação lipídica

A estabilidade oxidativa é um parâmetro importante para a valorização da qualidade do azeite, proporcionando uma boa perspectiva da suscetibilidade de ocorrer uma degeneração oxidativa, que nos azeites virgens leva a rancificação (Rosales, 1989)

O teste de estabilidade pode ser efetuado de duas maneiras como indica a Figura 4.5. Este procura avaliar em condições padronizadas e selecionando um determinado padrão indicador, o período de indução da reação, ou seja, o tempo necessário para atingir o ponto crítico de oxidação. Contudo uma vez que os fenómenos naturais de oxidação são processos lentos, os testes de estabilidade em tempo real tornam-se por vezes incompatíveis com o controlo de qualidade a nível industrial, levando a que os testes de estabilidade acelerada assumam grande importância (Silva et al., 1999).

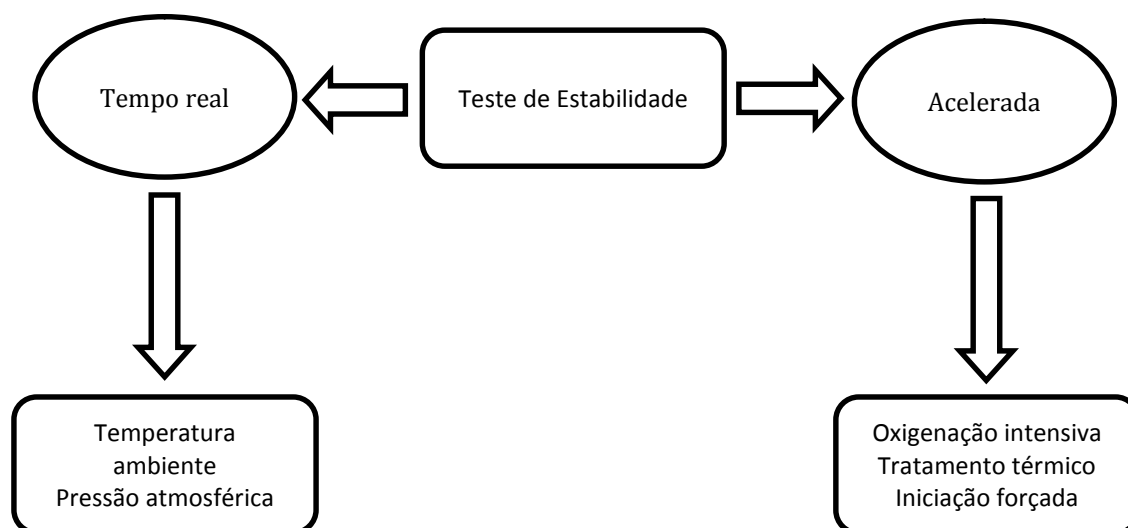


Figura 4.5 - Diagrama do teste de estabilidade oxidativa (adaptado de Silva et al., 1999)

Os equipamentos Rancimat, usados largamente na indústria, proporcionam a possibilidade de fazer testes de estabilidade acelerada, com diferentes combinações de temperatura e fluxo de ar. Este método condutimétrico regista as variações de condutividade da água desionizada ao longo do tempo, na qual se faz a recolha de ácidos carboxílicos de baixo peso molecular, resultantes da oxidação do azeite (Silva et al., 1999). O equipamento apresenta um componente amplificador e registador, onde vai sendo impresso ao longo do teste de estabilidade, a curva de indução (Figura 4.6) (Hamilton et al., 1999).

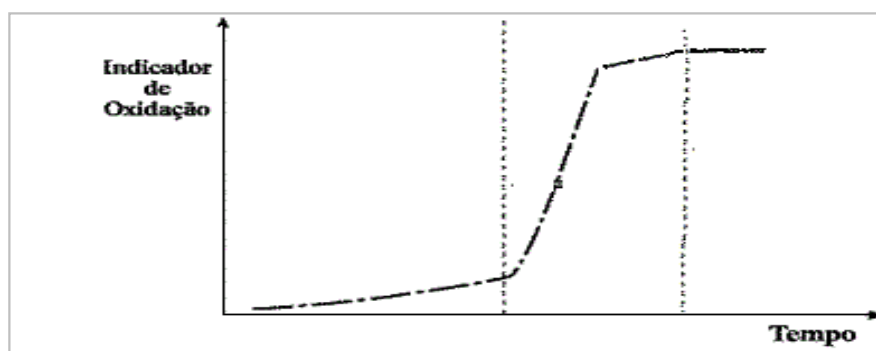


Figura 4.6 - Curva de indução (adaptado de Silva et al., 1999)

4.3 Critérios de qualidade

A qualidade de um azeite é afetada por uma série de fatores, como agronómicos, tecnológicos e armazenamento. A preservação desta, depende de condições adotadas antes e durante o armazenamento do produto (Ranalli, 1999).

A determinação da qualidade de um azeite encontra-se em legislação específica onde constam os parâmetros que devem ser analisados, como é o caso da acidez, índice de peróxido, análise espectrofotométrica no UV e exame organolético de forma a proteger o consumidor final contra a aquisição de produto não conforme, violando as características definidas. Esses parâmetros são definidos em regulamentos Europeus (Regulamento (CEE) nº 2568/91 e posteriores alterações, Regulamento (UE) nº 1348/2013) e ainda em indicações do Conselho Oleícola Internacional.

Na Tabela 4.3, encontram-se reunidas as características relativas aos critérios da qualidade para azeite virgem extra ao abrigo do Regulamento (UE) nº 1348/2013.

– **Acidez**

A acidez de um azeite é consequência da hidrólise dos triacilgliceróis, dando origem à formação de ácidos gordos livres. Existem fatores que levam a um aumento da acidez do azeite, como por exemplo a utilização de frutos deteriorados por pragas e doenças em resultado de ataques fitossanitários, o atraso na colheita do fruto e no processo de extração, o contacto prolongado entre a água e a gordura vegetal e a aplicação de métodos de extração defeituosos (Kiritsakis, 1998). A medição da acidez é efetuada segundo a avaliação dos ácidos gordos livres, sendo expressa em gramas de ácido oleico por 100 gramas de óleo, e apresenta como limite legal 2 %, para o azeite virgem (Reg. (UE) nº 1348/2013).

Quando um azeite ultrapassa o limite legal, este não pode ser utilizado para a alimentação humana, tendo como destino a refinação (Civantos, 2008).

– **Índice de Peróxido**

O índice de peróxido (IP) é expresso em miliequivalentes de oxigénio ativo por kg de azeite sendo utilizado como indicador da qualidade. Este permite avaliar a oxidação inicial e a formação de ranço (Civantos, 2008). O limite legal para este parâmetro é de 20 meqO₂ / kg de azeite para azeites virgem extra (Reg. (UE) nº 1348/2013).

– **Espectrofotometria no ultra violeta**

A análise espectrofotométrica no ultravioleta de um azeite fornece indicações sobre a qualidade e a pureza do mesmo (Civantos, 2008). A absorvância é medida a vários comprimentos de onda, a partir dos quais é possível determinar os coeficientes específicos. Os valores destes coeficientes (K_{270} (270 nm), K_{232} (232 nm) e ΔK) são utilizados para avaliar a autenticidade e a qualidade do azeite. Quando estes valores são baixos estamos perante azeites de boa qualidade (Kiritsakis, 1992; Bouskou, 1998).

Os hidroperóxidos conjugados absorvem a 232 nm, os produtos da oxidação secundária (aldeídos e cetonas) absorvem a comprimentos de onda de 262, 268, 270 e 274 nm. Os dienos e trienos conjugados (formados durante o processo de refinação) absorvem a 270 nm (Kiritsakis, 1992).

– **Exame organolético**

A qualidade sensorial de um alimento pode indicar o nível de aceitação, apreciação e nível de preferência do consumidor por um produto, sendo determinada por um conjunto de características que são avaliadas mediante os órgãos sensoriais quando expostos a estímulos físicos, químicos e físico-químicos (Gutierrez et al., 2009).

O Regulamento (UE) nº 1348/2013 estabelece o procedimento de avaliação das características organoléticas dos azeites virgem e a sua classificação com base nestas características, determinando ainda o vocabulário geral de base, a composição da sala de prova, o copo de prova e a folha de perfil do provador. A prova é realizada por um painel de provadores treinado onde estes escrevem em escalas de 10 cm da folha de perfil a intensidade que julgam corresponder a cada atributo negativo e positivo do azeite.

De acordo com o Regulamento (UE) nº 1348/2013, são considerados como atributos negativos:

- Tulha / Borra;
- Mofo - húmido / Terra;
- Avinhado - avinagrado;
- Metálico;
- Ranço;
- Outros.

De acordo com o Regulamento (UE) nº 1348/2013, são considerados como atributos positivos:

- Frutado;
- Amargo;
- Picante.

Na Tabela 4.3 apresenta-se um resumo das análises previstas nos atuais regulamentos comunitários envolvendo critérios de qualidade para azeite virgem extra.

Tabela 4.3 - Características do azeite virgem extra ao abrigo do Reg. (UE) nº 1348/2013.

Parâmetro	Azeite Virgem Extra
Ésteres etílicos de ácidos gordos (FAEE)	FAEE \leq 40 ⁽¹⁾
	FAEE \leq 35 ⁽²⁾
	FAEE \leq 30 ⁽³⁾
Acidez	\leq 0,8
Índice de peróxidos (mEq O ₂ / kg)	\leq 20
Ceras (mg / kg)	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ \leq 150
Monopalmitato de 2-glicerilo (%)	\leq 0,9 se % ácido palmítico total \leq 14 % \leq 1,0 se % ácido palmítico total $>$ 14 %
Estigmastadieno (mg / kg)	\leq 0,05
Diferença entre o ECN42 determinado por HPLC	\leq 0,2
K ₂₃₂	\leq 2,50
K ₂₇₀	\leq 0,22
Δ -K	\leq 0,01
Exame organoléptico	
Mediana dos defeitos (Md)	Md = 0
Exame organoléptico	
Mediana do frutado (Mf)	Mf $>$ 0

Nota:

- ⁽¹⁾- Limite aplicável à campanha de 2013 / 2014;
- ⁽²⁾- Limite aplicável à campanha de 2014 / 2015;
- ⁽³⁾- Limite aplicável a campanhas posteriores à de 2014 / 2015.

4.4 Processo de extração

Os sistemas de extração de azeite podem ser divididos em:

- Descontínuos (de prensas);
- Contínuos de três fases;
- Contínuos de duas fases.

Para os três tipos de extração as etapas preliminares são comuns (Figura 4.7) e podem ser divididas em:

- Receção;
- Pesagem;
- Lavagem;
- Armazenamento;
- Moenda.

Os moinhos utilizados nestes sistemas são de dois tipos: pedras ou metálicos. A utilização de moinhos metálicos nomeadamente de martelos em comparação com os moinhos de pedra apresentam maior extração de compostos fenólicos (Mendoza et al., 1997).

É importante que o processo de extração seja realizado a frio, uma vez que na etapa de batadura da massa, onde se pretende que haja um aumento da quantidade de azeite “livre”, devido à união de gotas de azeite em gotas maiores, esta não seja sujeita a temperaturas superiores a 32 °C. Esta etapa é de extrema importância, pois é dela que depende o rendimento e a qualidade do azeite (Civantos, 2008).

No caso de se utilizar temperaturas superiores a 32 °C, verifica-se a perda de compostos voláteis, aumentando paralelamente o índice de peróxido e provocando uma diminuição da estabilidade oxidativa (Harwood et al., 2003).

Durante as várias etapas do processo de extração é necessário evitar ao máximo a exposição à luz, ao ar, a temperaturas elevadas e a materiais pró - oxidantes, que acelerem processos os oxidativos no azeite (COI, 1991).

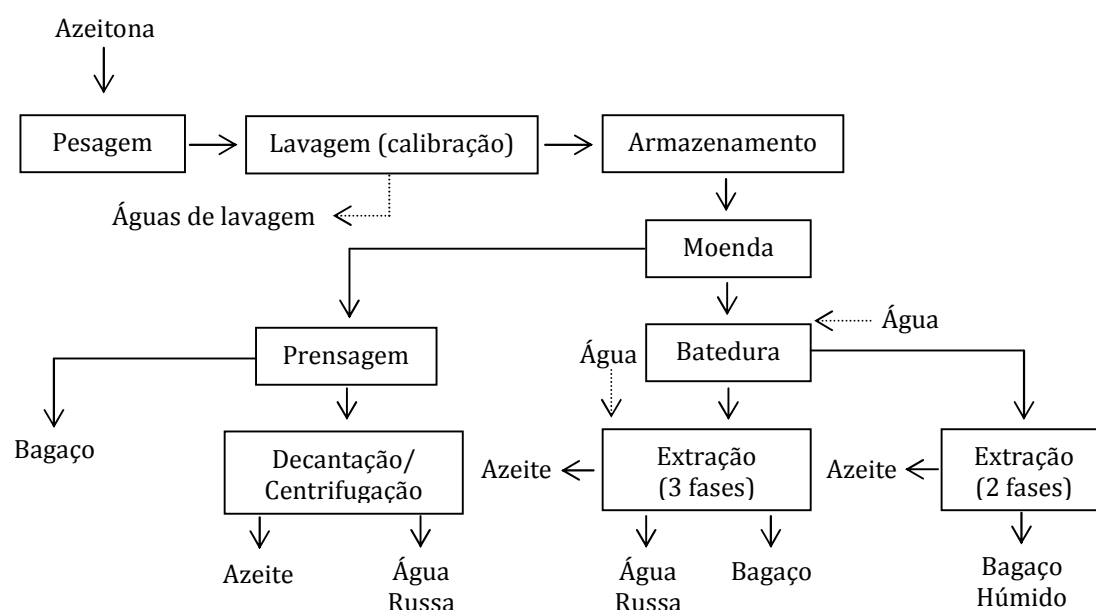


Figura 4.7 - Diagrama do processo de extração de azeite.

4.4.1 Sistema de extração por prensas

Neste sistema a massa preparada na moenda e batadura é colocada em camadas finas sobre discos de material filtrante denominados capachos ou ceiras, que se dispõem em pilhas, uns sobre os outros, dominando-se este conjunto como castelo (Figura 4.8). Consoante a sua dimensão e espessura a pasta depositada em cada capacho oscila entre os 5 a 9 kg de massa. O castelo é depois sujeito a pressão, por mecanismo hidráulico (COI, 1991; Peres, 2001; Civantos, 2008).

O tempo de prensagem oscila entre os 60 a 90 minutos de forma a obter um mosto oleoso (constituído por azeite e alguma água) que escorre pelos capachos (Figura 4.9) separando-se a fase sólida, sendo este mosto recolhido e enviada para a fase seguinte, que tem como objetivo retirar a água que ainda está presente em emulsão com a matéria gorda. De forma geral, a separação líquido / líquido é realizada em decantadores ou tarefas a partir das diferenças de densidade entre o azeite e a água (Peres, 2001; Civantos, 2008).

Durante os trabalhos para a execução da prensagem, a massa e o azeite dela extratado, encontram-se com maior possibilidade de desenvolver defeitos como o “metálico” e “avinhado”, e está mais propícia a reações de oxidação devido ao tempo de exposição ao ar (COI, 1991).



Figura 4.8 - Capacho com massa colocada por distribuidor (adaptado de Casa do Azeite, 2014)



Figura 4.9 - Prensagem dos capachos (adaptado de Casa do Azeite, 2014)

4.4.2 Sistemas contínuos de extração por centrifugação

O sistema de três fases têm como produtos finais azeite, bagaço e água russa enquanto o sistema de duas fases apresenta apenas azeite e bagaço húmido, este último é muitas vezes chamado como sistema de lagar ecológico (Sampedro et al., 2004).

De acordo com COI (1991), a utilização de sistema de extração de 3 e 2 fases, pode influenciar nas características químicas e organolépticas do azeite tendo em conta fatores do processo de extração tais como:

- Temperatura e caudal da água de fluidificação;
- Caudal de injeção de massa;
- Velocidade de rotação do decanter.

Os sistemas de extração contínuos não necessitam de paragens, uma vez que possuem bombas mono, a fornecer continuamente e com a possibilidade de variação do caudal, a massa proveniente da batadura para o decanter.

A massa da azeitona ao ser sujeita a uma força centrífuga horizontal onde os valores do fator G se situam entre 2500 e 4000 rpm, faz com que a diferença de densidades dos componentes da massa

forme anéis distintos. Os componentes sólidos, mais densos, ocupam a parte exterior. A água de vegetação, com densidade intermédia, colocar-se-á a seguir e o azeite com densidade mais baixa irá colocar-se na zona mais próxima do eixo (Harwood et al., 2003; Civantos, 2008).

De acordo com Harwood et al. (2003) e Civantos (2008) o sistema contínuo de 3 fases, que se encontra representado na Figura 4.10, apresenta as seguintes características:

- A massa é fluidificada com uma quantidade variável de água entre os 0,6 e 1 litro a uma temperatura inferior a 35 °C.
- A adição de água é necessária para criar anéis de separação das três fases;
- O bagaço apresenta 45 - 50 % de humidade.
- A água russa (água de vegetação e de diluição) apresenta um importante teor de gorduras e sólidos, por estar em contacto com estas duas fases. Deve ser controlado para se evitar perdas de azeite no processo.
- O azeite extratado sai com alto teor de águas russas.

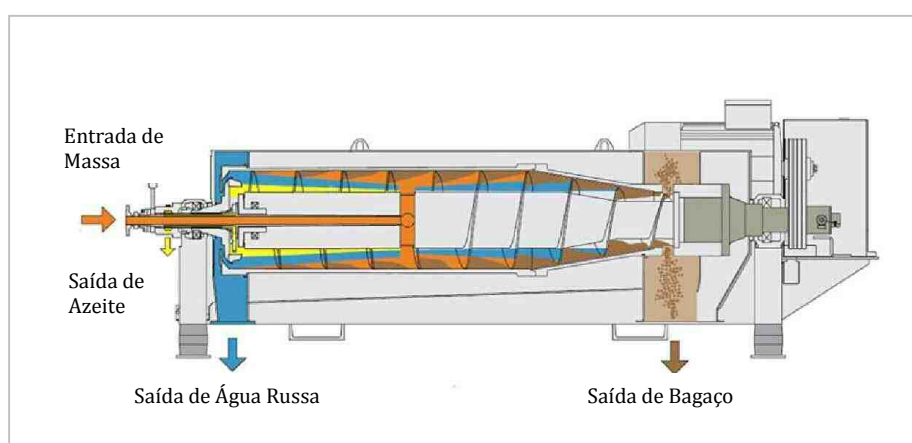


Figura 4.10 - Centrífuga horizontal de 3 fases (adaptado de Hiller - DecaOil, 2014)

O sistema contínuo de 2 fases, representado na Figura 4.11, segundo Harwood et al., 2003 e Civantos, 2008, apresenta as seguintes características:

- O bagaço apresenta 55 - 60 % de humidade, com uma consistência semelhante a lama.
- O azeite extratado sai com alto teor de humidade.

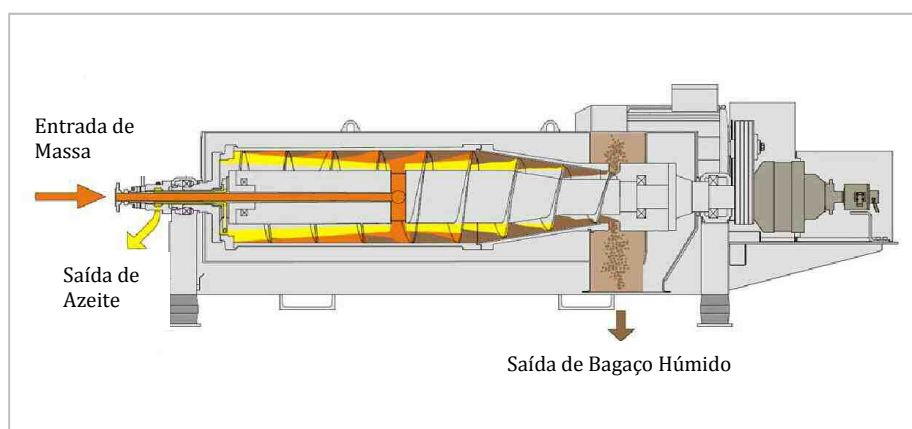


Figura 4.11 - Centrífuga horizontal de 2 fases (adaptado de Hiller - DecaOil, 2014)

4.5 Armazenamento

O azeite, como qualquer produto que seja produzido apenas numa determinada época do ano, tem a necessidade de ter condições de armazenamento que contribuam para o seu consumo durante todo ano sem que ocorram alterações das suas características químicas e sensoriais.

Os depósitos utilizados para o armazenamento do azeite são feitos na sua maioria de aço inoxidável com fundo cónico, de forma a ser possível efetuar periodicamente uma purga dos depósitos de modo a retirar qualquer tipo de impureza ou humidade, que durante o tempo de repouso do azeite tenha decantado. Deve-se evitar também transfegas desnecessárias que promovam o contacto do azeite com o ar favorecendo assim a possibilidade de iniciação de processos oxidativos (COI, 1991).

As instalações e as embalagens destinadas ao armazenamento de azeite devem seguir um conjunto de regras para favorecer a sua conservação e manuseamento, dentro das quais se destacam as seguintes:

- A sala dos depósitos e do produto final deve apresentar uma temperatura uniforme entre 15 – 18 °C, permitindo o repouso do azeite sem favorecer processos oxidativos;
- Os depósitos de armazenagem e as embalagens do azeite devem ficar afastados de fontes de luz e temperatura natural ou artificial de grande intensidade, bem como de qualquer foco capaz de transmitir odores desagradáveis;
- As embalagens destinadas ao azeite vendido a retalho são de três tipos: vidro, plástico e metal.
- No caso de utilização de embalagens em vidro ou plástico, deve - se optar por recipientes de cor opaca de forma a desfavorecer processos oxidativos, principalmente a foto - oxidação.

5. Material e métodos

No presente trabalho foram analisadas 27 amostras de azeite (Tabela 5.1) referentes à campanha de 2013 / 2014. As amostras de azeite a caracterizar foram divididas em dois grupos distintos: 14 amostras foram obtidas em sistema contínuo de duas fases (Monforte da Beira) e 13 amostras foram obtidas em equipamento de extração laboratorial Abencor. As treze amostras extraídas em sistema Abencor, correspondem a azeites monovarietais obtidos em condições controladas das diferentes cultivares em estudo.

As amostras de azeitona que foram colhidas na Escola Superior Agrária de Castelo Branco onde as cultivares Azeitona, Manzanilha de Almendralejo, Cobrançosa, Conserva de Elvas, Picual e Cordovil de Serpa foram colhidas numa área de cerca de 1,6 ha, em sistema de olival intensivo, com compasso de 7 × 7 metros e densidade de 204 plantas/ha (ESACB, 2014).

As cultivares Bical e Cordovil de Castelo Branco, Carrasquenha e Galega Vulgar foram colhidas no restante olival, cerca de 50,0 ha, sendo implementado em sistema de olival tradicional com compasso variável entre 10 × 10 e 12 × 12 metros, dependendo da idade da árvore, (estas têm em média 70 a 80 anos), o que resulta numa densidade de 70 a 100 plantas/ha onde se apresentam (ESACB, 2014). As amostras de azeitona Arbequina foram cedidas por um olivicultor da zona da Sertã.

Tabela 5.1 - Amostras dos diferentes tipos de azeite em estudo.

Código	Cultivar	IM	Data de Colheita	Data de Extração
Lagar - sistema de centrifugação de 2 fases				
GL 1	Galega	4,2	18-11-2013	19-11-2013
GL 2	Galega	4,2	19-11-2013	21-11-2013
GL 3	Galega	4,2	20-11-2013	22-11-2013
GL 4	Galega	4.5	21-11-2013	23-11-2013
GL 5	Galega	4.5	25-11-2013	26-11-2013
GL 6	Galega	4.2	18, 19, 20-11-2013	19, 21, 22-11-2013
GL 7	Galega	4.5	25 e 26-11-2013	28-11-2013
C +B 1	Cordovil + Bical	-	18-11-2013	20-11-2013
C +B 2	Cordovil + Bical	-	25-11-2013	26-11-2013
C +B 3	Cordovil + Bical	-	18 e 25-11-2013	20 e 26-11-2013
M 1	Mistura	-	25 e 26-11-2013	27-11-2013
M 2	Mistura	-	26 e 27-11-2013	28-11-2013
M 3	Mistura	-	01 e 02-12-2013	03-12-2013
M 4	Mistura	-	04 e 05-12-2013	06-12-2013

Sistema Abencor

Arb	Arbequina	-	15-11-2013	15-11-2013
Az	Azeiteira	4,2	15-11-2013	15-11-2013
Bic	Bical	2,7	15-11-2013	15-11-2013
Car 1	Carrasquenha	-	15-11-2013	15-11-2013
Car 2	Carrasquenha	3,6	15-11-2013	15-11-2013
Cob	Cobrançosa	4,1	15-11-2013	15-11-2013
CE	Conserva de Elvas	1,6	15-11-2013	15-11-2013
CS	Cordovil de Serpa	2,6	15-11-2013	15-11-2013
GA 1	Galega	-	15-11-2013	15-11-2013
GA 2	Galega	-	15-11-2013	15-11-2013
GAL	Galega	2,0	01-10-2013	01-10-2013
Man	Manzanilha	3,2	15-11-2013	15-11-2013
Pic	Picual	4,1	15-11-2013	15-11-2013

5.1. Critérios de qualidade

5.1.1. Acidez

A determinação da acidez permite quantificar os ácidos gordos livres presentes no azeite. Esta análise consiste na titulação de ácidos gordos livres com uma solução aquosa de hidróxido de sódio 0,1 N até a viragem do indicador fenolftaleína.

O método baseia-se no Regulamento (UE) nº 1348/2013. A acidez é expressa em percentagem de ácido oleico e calcula-se através da seguinte equação:

$$\% \text{ acidez} = V \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

Onde:

V - volume utilizado de hidróxido de sódio (ml).

c - concentração exata da solução titulada (mol / L).

M - massa molar do ácido oleico (282 g mol⁻¹).

m - toma do ensaio (g).

5.1.2. Índice de peróxido

O índice de peróxido é a quantidade de substâncias presentes na amostra capazes de oxidar o iodeto de potássio e exprime-se em miliequivalentes de oxigénio ativo por kg de azeite.

A determinação da quantidade de iodo libertada pela oxidação do iodeto de potássio, inerente à existência de oxigénio ativo de uma massa conhecida de azeite, é efetuada através de uma titulação com solução de tiosulfato de sódio 0,002 N, até à viragem do indicador, cozimento de amido, para incolor.

A determinação do índice de peróxido realizou-se de acordo com o Regulamento (UE) nº 1348/2013.

O índice de peróxido (IP) é calculado pela seguinte equação:

$$IP = \frac{N \times V}{m} \times 1000$$

Onde:

N - normalidade da solução de tiosulfato de sódio utilizado.

V - volume utilizado de tiosulfato de sódio (ml).

m - toma da amostra (g).

5.1.3. Análise por espectrofotometria no ultravioleta

A determinação das absorvâncias no UV nos comprimentos de onda a 232 e 270 nm permitem obter indicações sobre a qualidade de uma matéria gorda, o seu estado de conservação e as modificações devidas ao processo tecnológico (Harwood et al., 2003).

As absorvâncias nos comprimentos de onda especificados no método são devidas à presença de sistemas diénicos e triénicos conjugados, indicativos da existência de compostos primários e secundários de oxidação. Para a análise do azeite por espectroscopia no UV, procedeu-se à dissolução de uma amostra de azeite em isoctano, determinando-se em seguida a extinção da solução no comprimento de onda prescrito em relação ao solvente puro, sendo as extinções específicas calculadas a partir das leituras espectrofotométricas. Os valores destas absorvâncias são expressos em termos de extinção específica, convencionalmente designada por K (coeficiente de extinção).

A análise por espectrofotometria no ultravioleta realizou-se de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1348/2013. A determinação da análise do azeite no UV foi efetuada em espectrofotómetro Jasco 7800.

Exprimem-se as extinções específicas de acordo com a seguinte equação:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \times s}$$

Onde:

K_{λ} - extinção específica no comprimento de onda λ .

E_{λ} - extinção medida no comprimento de onda λ .

c - concentração da solução (g/100 ml).

s - espessura da tina (cm).

5.2. Composição química

5.2.1. Ácidos gordos componentes

A determinação dos ácidos gordos componentes do azeite faz-se por análise dos respetivos ésteres metílicos. O método baseia-se na transesterificação (do azeite) dos triacilgliceróis pelo álcool metílico. Após a derivatização da gordura, os ésteres metílicos são separados por cromatografia gasosa e apresentam um tempo de retenção relativo que depende em primeiro lugar da sua volatilidade, deste modo a ordem de eluição segue a ordem crescente das massas moleculares e no caso dos ésteres com o mesmo número de átomos de carbono, o tempo de retenção aumenta com o número de duplas ligações.

A determinação de ácidos gordos componentes realizou-se de acordo com o Regulamento (UE) n.º 1348 / 2013.

Foi utilizado um cromatógrafo de fase gasosa Hewlett Packard 6890, equipado com detetor de ionização de chama (FID) e amostrador automático Agilent Technologies 7683 séries e coluna capilar SP 2380™ da Suppelco (60 m x 0,25 mm x 0,20 µm). O gás de arrastamento utilizado foi o hélio.

O procedimento utilizado foi o seguinte:

- 1- Pesar para um tubo de ensaio, munido de rolha de vidro esmerilada, 1 g de azeite.
- 2- Adicionar 10 ml de n - heptano e 0,5 ml de solução metanólica de hidróxido de potássio 2 N.
- 3- Rolhar o tubo e agitar durante 30 segundos de modo a permitir a transesterificação.
- 4- Após este tempo ocorre uma separação com a decantação do glicerol.
- 5- Colocar os ésteres metílicos em vials no amostrador automático.

A temperatura do injetor foi 240 °C e a temperatura do detetor foi 250 °C; a programação de temperatura do forno apresenta-se na Tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Programação de temperaturas do cromatógrafo de fase gasosa.

Temperatura (°C)	Velocidade de Aquecimento (°C/min)	Tempo (min.)	Total
165	0 (patamar)	27	27
165 - 220	5 (rampa)	10	37
220	0 (patamar)	10	47
220 - 260	20 (patamar)	4	51
260	0 (patamar)	1	52

Os resultados dos diversos ácidos gordos constituintes das amostras obtidos nos cromatogramas são expressos em percentagem.

5.2.2. Fenóis totais

O método utilizado baseia-se na reação do reagente Folin - Ciocalteu com os grupos fenólicos. Este é constituído por uma mistura dos ácidos fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Em meio alcalino, os fenóis reduzem estes ácidos a óxidos de tungsténio (W_8O_{23}) e de molibdéneo (Mo_8O_{23}), de cor azul. A coloração obtida apresenta um máximo de absorção a 765 nm, sendo a sua intensidade proporcional à concentração de fenóis.

Para a preparação da amostra efetuou-se uma micro - extração líquido - líquido (LLME), método adotado de Pizarro et al. (2013), envolvendo as seguintes etapas:

- Pesar 0,5 g de azeite para tubos eppendorf de 2 ml e adicionar 1 ml de uma solução metanol: água (80:20) (v/v);
- Agitar os tubos eppendorf em agitador tipo vortex durante 1 minuto;
- Centrifugar a 13400 rpm durante 5 minutos;
- Retirar o sobrenadante com pipeta de vidro;
- Repetir os passos anteriores mais duas vezes;
- Juntar os 3 extratos da fase metanólica num balão volumétrico de 5 ml e perfazer com água ultra pura.

A quantificação dos fenóis por espectroscopia VIS requer a construção de uma curva de calibração em ácido gálico com concentrações de 0; 1; 2; 3; 5; 10 mg ml⁻¹.

Para proceder à construção da curva de calibração, preparou-se uma solução padrão de 5000 mg de ácido gálico/L, de forma a preparar as soluções padrão intermédias de 0; 50; 100; 150; 250 e 500 mg/L.

Para preparar as soluções intermédias mediram-se 0; 1; 2; 3; 5 e 10 ml da solução de 5000 mg de ác. gálico/L, para balões de 100 ml, perfazendo com água destilada. Em seguida, preparam-se as soluções padrão de leitura para construção da curva de calibração. Colocou-se 100 µl de cada solução padrão intermédia para as respetivas células de plástico, ao qual se adicionou 1500 µl de água

destilada, 100 µl de reagente Folin - Ciocalteu e 300 µl de carbonato de sódio a 20 % (m / v), num volume final de 2 ml. Após a preparação dos padrões aguardou-se 60 min. no escuro a 20 °C, procedendo de seguida à leitura a um comprimento de onda de 765 nm. Desta forma, as soluções padrão de leitura apresentam concentrações de 0; 1,25; 2,5; 5; 7,5; 10 mg / L. A Figura 5.1 representa a curva de calibração obtida.

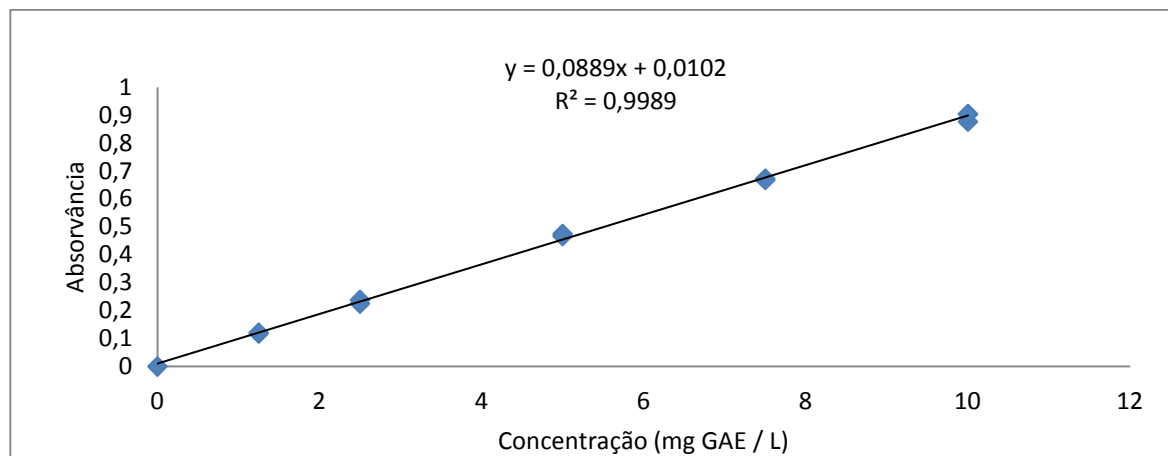


Figura 5.1 - Curva de calibração para fenóis totais (mg GAE / kg de azeite).

As etapas para a quantificação de fenóis nas amostras foram as seguintes:

- Pipetar para uma célula de plástico, de 1 cm de percurso ótico, 100 µl de extrato fenólico;
- Adicionar 1500 µl de água e 100 µl de reagente Folin - Ciocalteu, agitar e repousar 3 minutos;
- Adicionar 300 µl de carbonato de sódio a 20 % e agitar;
- Deixar repousar 60 min. no escuro a 20 °C;
- Ler as absorvâncias a 765 nm (espectrofotómetro Jasco 7800)

A quantificação de fenóis totais em azeite é calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Fenóis totais (mg de ácido gálico por kg de azeite)} = \frac{100 \times C}{m}$$

Onde:

C - Concentração obtida na curva de calibração.

m - toma da amostra (g).

100 - fator de diluição.

5.2.3. Pigmentos clorofilinos

A quantificação dos pigmentos clorofilinos foi efetuada através da medição das absorvâncias a 630, 670 e 719 nm, utilizando-se o ar como referência, de acordo com o método IUPAC proposto por Pokorný et al. (1995).

Foi utilizado um espectrofotómetro Biochrom Libra S21.

O teor em pigmentos clorofilinos é calculado de acordo com a seguinte equação:

$$PC = \frac{345,3 \times (\text{Abs } 670 - (0,5 \times \text{Abs } 630) - (0,5 \times \text{Abs } 719))}{10}$$

Onde:

PC - Teor em pigmentos clorofilinos (mg de feofitina / kg de azeite).

Abs_λ - Absorvância medida no comprimento de onda λ.

5.2.4. Cor e características cromáticas

A determinação da cor de óleos comestíveis pelo método triestimular da Comissão Internacional de Iluminação, aplicado ao azeite, determina as características cromáticas.

A determinação espectrofotométrica, a uma temperatura de 20 °C, das transmitâncias de cada um dos azeites, relativas ao líquido de referência, nos comprimentos de onda 445, 495, 560, 595 e 625 nm, permite obter as coordenadas cromáticas, a transparência, o comprimento de onda dominante e a pureza.

A determinação das características cromáticas foi efetuada em espectrofotómetro Biochrom Libra S21, tendo sido utilizado o tetracloreto de carbono como líquido de referência de acordo com a NP - 937.

5.3. Determinação da atividade antioxidante

Na determinação da atividade antioxidante, foram utilizados os extratos anteriormente preparados para a determinação de fenóis totais, obtidos por micro - extração líquido - líquido (LLME), de acordo com Pizarro et al. (2013).

Para a determinação utilizou-se um método colorimétrico baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil.1-picril-hidrazil) por antioxidantes presentes nos extratos de azeite, produzindo um decréscimo da absorvância a 517 nm, devido à descoloração do DPPH, de cor inicialmente roxa para cor amarela.

O procedimento utilizado foi o seguinte:

Preparou-se uma solução controlo de DPPH com 0,1 ml de metanol e 3,9 ml de DPPH (0,06 mM), homogeneizou-se num agitador de tubos (vortex) durante 15 segundos e leu-se a absorvância a 517 nm em espectrofotómetro Jasco 7800 (Sol. Controlo).

Os extratos foram preparados em triplicado, do mesmo modo como se descreveu para a solução controlo, deixaram-se 0, 30 e 60 minutos a reagir ao abrigo da luz e procedeu-se à leitura das absorvâncias.

Os valores obtidos são expressos em percentagem de redução de DPPH (% R) aos 0, 30 e 60 minutos de reação, sendo o cálculo efetuado pela seguinte equação:

$$\% R = \frac{\text{Abs (Sol. Controlo)} - \text{Abs (Extrato } \alpha \text{ min.)}}{\text{Abs (Sol. Controlo)}} \times 100$$

Onde:

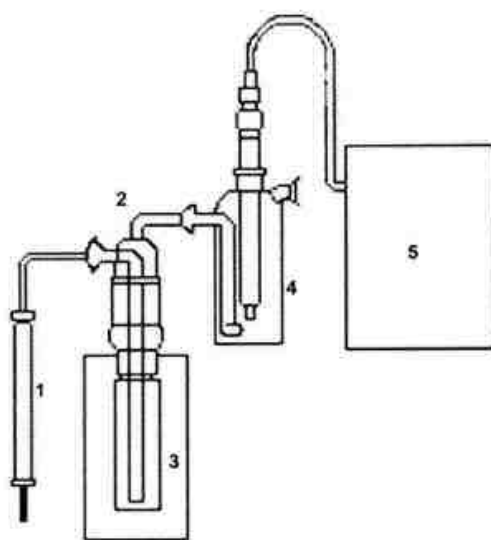
% R - Percentagem de redução de DPPH

5.4. Estabilidade oxidativa

A determinação deste parâmetro foi realizada em equipamento Rancimat 679 da Metrohm, com capacidade para 6 amostras em simultâneo. As condições operacionais foram as seguintes: fluxo de ar de 20 L / h, quantidade de amostra de 4 ml de azeite à temperatura do bloco de aquecimento de 120 °C. Os produtos de oxidação voláteis resultantes do ensaio e arrastados pelo fluxo de ar são recolhidos no vaso com 60 ml de água desionizada à temperatura ambiente.

Ao longo do ensaio os elétrodos de platina, verificam o aumento da condutividade, resultando na obtenção de um registo automático do tempo de indução, para cada amostra, sendo o valor máximo de condutividade de 200 $\mu\text{S/cm}$. A Figura 5.1 apresenta um esquema do equipamento Rancimat 679, onde são identificadas as funcionalidades de todas as unidades que compõem o equipamento.

Os resultados são expressos em horas, referindo-se ao momento em que a curva de condutividade inflete e que coincide com o fim do período de indução.



1. Controlador de fluxo de ar.
2. Tubo reator para colocação da amostra.
3. Bloco de aquecimento.
4. Frasco para a recolha dos ácidos voláteis contendo elétrodos de platina imersos em água desionizada.
5. Amplificador e registador.

Figura 5.2 - Esquema do equipamento Rancimat 679 de Metrohm.

6. Resultados e discussão

6.1 Critérios de qualidade

A avaliação da qualidade de um azeite tem por base quatro parâmetros fundamentais: acidez, índice de peróxido, análise por espectrofotometria e exame organolético. Desde 2014 a avaliação dos FAEE permite também verificar se a azeitona sofreu algum processo de degradação.

Para a realização deste estudo, devido à limitada quantidade de amostra disponível e no sentido de avaliar a estabilidade oxidativa desses azeites, não foi possível determinar a acidez, índice de peróxido, análise por espectrofotometria e exame organolético para algumas das amostras.

Os ensaios realizados para a análise dos critérios de qualidade, apresentadas nas Tabelas 6.1 e 6.2; obtiveram valores abaixo do limite máximo permitido por lei (acidez $\leq 0,8$ %; IP ≤ 20 ; $K_{232} \leq 2,50$; $K_{270} \leq 0,22$; Md = 0; Mf > 0) para a categoria de azeite virgem extra (Reg. (UE) nº 1348/2013 Anexo – I). A utilização de frutos são combinados com um processamento rápido explica os valores abaixo dos limites impostos pela legislação atual.

A Tabela 6.1 apresenta os resultados correspondentes a critérios de qualidade analisados das amostras em estudo obtidas em lagar industrial.

Tabela 6.1 - Critérios de qualidade dos azeites estudados provenientes de lagar industrial.

Código		GL	C + B	M 1	M 2
Acidez (% ácido oleico)	Méd. \pm DP.	0,53 \pm 0,101	0,39 \pm 0,050	0,49 \pm 0,069	0,49 \pm 0,255
	Máx.	0,62	0,43	0,54	0,67
	Min.	0,39	0,33	0,44	0,31
IP (mEq O ₂ / kg)	Méd. \pm DP.	5,52 \pm 0,103	5,74 \pm 1,186	4,83 \pm 0,064	5,53 \pm 1,732
	Máx.	5,63	6,96	4,87	6,75
	Min.	5,39	4,59	4,78	4,3
K ₂₃₂	Méd. \pm DP.	1,20 \pm 0,042	1,20 \pm 0,050	1,19 \pm 0,039	1,15 \pm 0,010
	Máx.	1,245	1,255	1,212	1,161
	Min.	1,159	1,156	1,157	1,147
K ₂₇₀	Méd. \pm DP.	0,10 \pm 0,012	0,10 \pm 0,012	0,09 \pm 0,015	0,09 \pm 0,006
	Máx.	0,110	0,110	0,096	0,097
	Min.	0,084	0,087	0,075	0,089
Exame	Md	-	-	0	0
Organolético	Mf	-	-	1,3	3

IP - Índice de Peróxido;

Méd. \pm DP. - Média \pm Desvio Padrão;

Máx. - Máximo;

Min. - Mínimo;

Md - Mediana de defeito;

Mf - Mediana de frutado.

A tabela 6.2 apresenta os resultados correspondentes a critérios de qualidade, analisados das amostras em estudo, obtidas em equipamento laboratorial Abencor.

Tabela 6.2 - Critérios de qualidade dos azeites estudados provenientes de equipamento laboratorial Abencor.

Código	Acidez (% ácido oleico)	IP (mEq. O ₂ / kg)	K₂₃₂	K₂₇₀
Arb	0,39	11,07	-	-
Az	0,22	-	-	-
Bic	0,28	9,13	-	-
Car	0,32	8,87	1,112	0,115
Cob	0,39	6,36	1,553	0,207
CE	0,20	7,86	1,486	0,144
CS	0,31	5,49	1,478	0,165
GA	0,33	7,53	-	-
GAL	0,25	5,72	1,397	0,161
Man	0,22	6,57	1,449	0,168
Pic	0,39	6,09	1,369	0,195

Relativamente à acidez, podemos observar que os resultados obtidos das amostras provenientes de lagar industrial apresentam um valor mais elevado comparado com as amostras provenientes do sistema Abencor. As amostras do lagar demonstram a ocorrência de hidrólise sobretudo na amostra GL, onde se verifica o valor mais elevado. A suscetibilidade da cultivar Galega Vulgar (Lopes et al., 2002) pode explicar estes resultados, que são potenciados pelo armazenamento dos frutos antes da extração.

O índice de peróxido determina os compostos de oxidação primários verificando-se que as amostras obtidas em lagar bem como em Abencor apresentam valores abaixo do limite imposto. As amostras Abencor apresentam um valor superior às de Lagar, onde o azeite Arbequina é o que apresenta o valor mais elevado (11,07 mEq. O₂ / kg), este fato deve-se sobretudo ao processo de filtração que pode promover a iniciação de processos oxidativos.

No que diz respeito aos valores obtidos da determinação das absorvâncias no UV, as amostras analisadas cumprem os limites estipulados pela legislação em vigor, apresentando teores baixos de compostos de oxidação primários (hidroperóxidos conjugados) e secundários (aldeídos e cetonas).

O exame organolético foi apenas realizado nas amostras de M 1 e M 2, onde não foram detetados defeitos e apresentaram atributos positivos, com mediana do frutado > 0. As amostras obtidas em equipamento Abencor não foram sujeitas a exame organolético.

6.2. Composição em ácidos gordos

O conhecimento da composição em ácidos gordos do azeite representa um parâmetro importante na sua caracterização, uma vez que a resistência do azeite aos processos oxidativos está fortemente associada com a composição em ácidos gordos. A relação ácido oleico / linoleico demonstra um importante critério de análise sobretudo em azeites com teor em compostos antioxidantes não muito elevados (Mateos et al., 2006).

Tabela 6.3 - Composição em ácidos gordos (%) dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor.

Códigos	C 14:0	C 16:0	C 16:1	C 17:0	C 17:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:0	C 20:1	C 22:0	C 22:1	C 24:0
GL	0,01	14,55	2,08	0,11	0,28	2,01	74,22	5,16	0,75	0,36	0,29	0,12	0,02	0,05
C + B	0,01	13,65	0,99	0,07	0,11	3,54	68,31	11,49	0,77	0,52	0,30	0,16	0,03	0,06
M 1	0,01	14,22	1,82	0,09	0,22	2,34	71,98	7,61	0,80	0,40	0,29	0,13	0,03	0,05
M 2	0,01	13,85	1,50	0,08	0,17	3,10	69,72	9,80	0,83	0,44	0,29	0,13	0,02	0,05
Arb	0,01	12,55	1,12	0,11	0,25	1,88	75,60	6,97	0,59	0,37	0,34	0,14	0,02	0,06
Az	0,01	13,80	2,44	0,04	0,11	1,42	75,92	4,56	0,81	0,34	0,34	0,13	0,04	0,04
Bic	0,01	13,90	0,75	0,06	0,08	3,53	66,62	13,15	0,75	0,56	0,32	0,17	0,03	0,07
Car	0,01	13,56	1,10	0,17	0,26	2,81	71,96	8,61	0,55	0,46	0,29	0,15	0,04	0,05
Cob	0,01	12,89	1,13	0,13	0,22	4,38	72,63	6,93	0,83	0,46	0,21	0,11	0,02	0,29
CE	0,01	14,40	1,22	0,05	0,08	2,56	69,16	10,71	0,87	0,44	0,27	0,15	0,04	0,05
CS	0,01	14,67	1,23	0,05	0,08	2,78	69,11	10,44	0,74	0,44	0,26	0,12	0,02	0,05
GA	0,01	14,93	2,56	0,13	0,33	1,83	74,04	4,64	0,73	0,34	0,27	0,12	0,02	0,04
GAL	0,01	16,02	2,33	0,10	0,29	1,63	74,38	3,77	0,69	0,31	0,27	0,10	0,04	0,05
Man	0,01	14,78	1,54	0,16	0,30	2,84	74,26	4,41	0,72	0,47	0,28	0,15	0,03	0,05
Pic	0,01	12,71	1,21	0,03	0,07	2,40	79,42	2,72	0,67	0,34	0,23	0,11	0,04	0,04

Os resultados obtidos da composição em ácidos gordos dos azeites em estudo (Figura 6.3) apresentaram-se dentro dos limites estipulados pelo Anexo I do Reg. (UE) nº 1348/2013, com a exceção da amostra GA e Pic. O azeite Galega apresentou os teores mais elevados de ácido heptadecénico (C17 : 1). Em geral, os valores obtidos para azeite Galega e Cobrançosa confirmam os resultados obtidos anteriormente (Peres et al, 2013). O azeite Picual apresentou no ácido linoleico um valor inferior ao limite estipulado, o que já tinha sido observado em campanhas anteriores (Lopes et al., 2002)

Os resultados obtidos da composição em ácidos gordos mostram os azeites Picual e Galega como os mais ricos em ácidos gordos monoinsaturados, enquanto os azeites Bical e Cordovil + Bical como os mais ricos em polinsaturados (Tabela 6.4). O elevado teor em ácidos gordos monoinsaturados e ácidos gordos polinsaturados, pode ser representada pela relação ácido oleico / linoleico que evidencia uma elevada importância, onde a partir da Tabela 6.4, verifica-se o elevado valor do azeite Picual comparado com os restantes, como já observado em estudos anteriores (Mateus et al., 2006). A utilização da relação ácido oleico / linoleico fundamenta o comportamento dos diferentes azeites em estudo perante a determinação da estabilidade oxidativa.

Tabela 6.4 - AGM, AGPI, AGS, (média ± desvio padrão) e relação ácido oleico / linoleico dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor.

Códigos	AGM	AGPI	AGS	O / L
GL	76,89 ± 0,078	5,90 ± 0,057	17,20 ± 0,022	14,39
C + B	69,74 ± 0,005	12,26 ± 0,002	18,01 ± 0,003	5,95
M 1	74,34 ± 0,019	8,41 ± 0,004	17,25 ± 0,023	9,46
M 2	71,70 ± 0,067	10,63 ± 0,010	17,67 ± 0,058	7,11
Arb	77,30 ± 0,023	7,56 ± 0,001	15,12 ± 0,025	16,63
Az	78,84 ± 0,006	5,38 ± 0,002	15,78 ± 0,009	10,84
Bic	67,80 ± 0,124	13,90 ± 0,014	18,30 ± 0,138	5,07
Car	73,65 ± 0,032	9,25 ± 0,003	17,20 ± 0,039	8,36
Cob	74,21 ± 0,126	7,76 ± 0,006	18,26 ± 0,201	10,48
CE	70,77 ± 0,011	11,58 ± 0,007	17,65 ± 0,004	6,46
CS	70,69 ± 0,016	11,17 ± 0,003	18,13 ± 0,014	6,62
GA	77,22 ± 0,026	5,37 ± 0,011	17,41 ± 0,015	15,97
GAL	77,30 ± 0,001	4,46 ± 0,002	18,22 ± 0,000	19,71
Man	76,40 ± 0,017	5,14 ± 0,001	18,46 ± 0,019	16,82
Pic	80,96 ± 0,040	3,40 ± 0,000	15,64 ± 0,039	28,15

6.3 Fenóis totais

A quantificação dos compostos fenólicos presentes no azeite fornece indicação da sua capacidade de estabilidade durante o armazenamento (Carrasco et al., 2006).

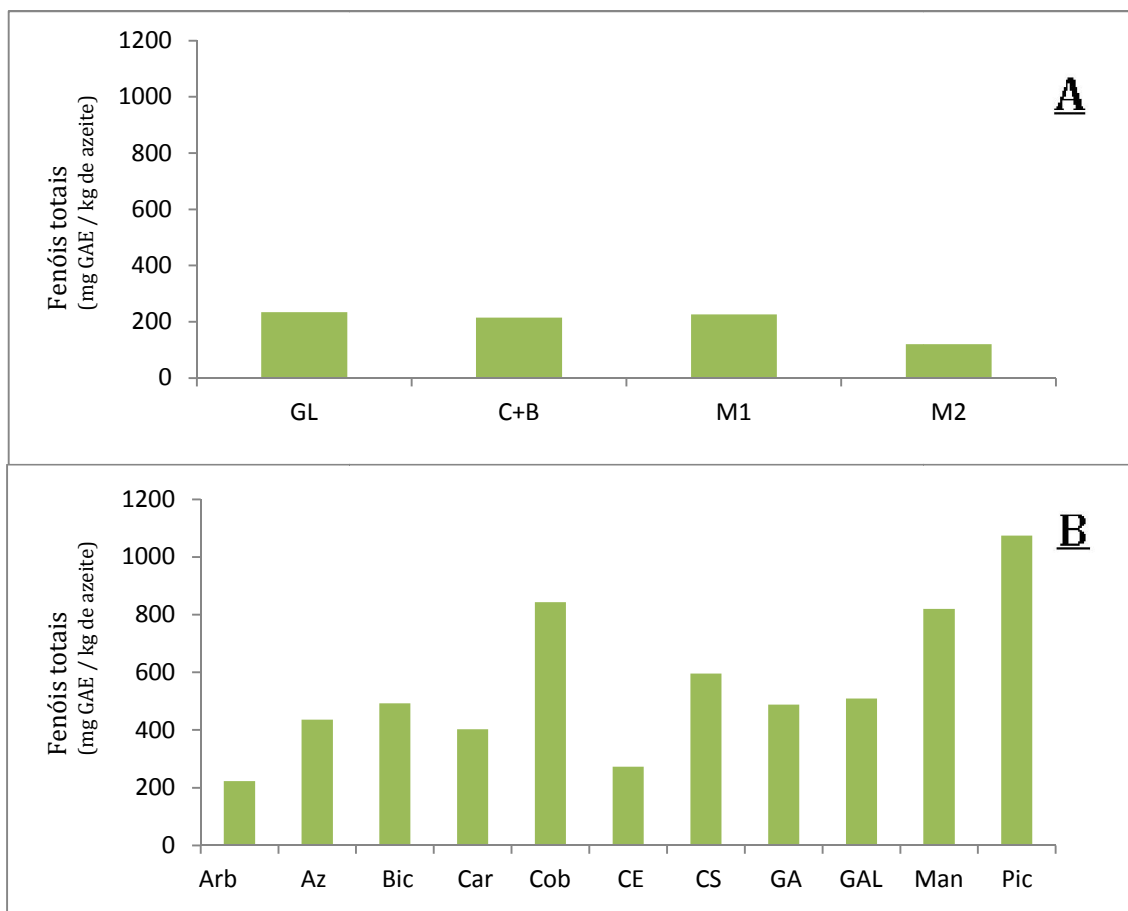


Figura 6.1 - Fenóis totais (média \pm desvio padrão) dos azeites estudados provenientes de lagar industrial (A) e equipamento laboratorial Abencor (B).

De acordo com as Figuras 6.1, os azeites provenientes de lagar demonstram teores mais baixos de fenóis totais quando comparado com os azeites da mesma cultivar extraídos em sistema Abencor com índices de maturação semelhantes. Este fato deve-se sobretudo ao controlo do processo de extração do lagar onde o azeite extratado apresenta maior contato com agentes pró-oxidantes como o calor, o oxigénio e a luz, sendo expectável um aumento dos compostos facilmente oxidáveis e diminuição dos compostos antioxidantes dos azeites em estudo (Boskou et al., 1995).

Os azeites Picual, Cobrançosa e Manzanilha são os que apresentam maior teor em fenóis totais contrariamente aos azeites Arbequina e Conserva de Elvas. O azeite Arbequina apresentou um valor de fenóis totais baixo, tal já tinha sido observado em estudos anteriores (Dabbou et al., 2010).

6.4 Pigmentos clorofilinos, cor e características cromáticas

A importância dos pigmentos clorofilinos presentes no azeite reside na cor que lhe confere, estando relacionada com a cultivar, maturação dos frutos aquando da colheita, condições edafoclimáticas, processo de extração e condições de armazenamento (Henriques et al., 2000).

A cor do azeite deve-se à presença de clorofilas e carotenoides que constituem um grupo importante de pigmentos responsáveis pelas tonalidades de verde a amarelo, onde a sua quantidade no azeite diminui, principalmente clorofilas, devido ao processo de extração (Giuffrida et al., 2011).

As clorofilas e carotenoides apresentam um importante papel no processo oxidativo do azeite, funcionando como antioxidante na ausência de luz e como pró-oxidante na presença de luz (Fakourelis et al., 1987).

A cor e as características cromáticas de um azeite encontram-se fixadas na NP - 937, onde se estipulam os limites das coordenadas cromáticas e do comprimento de onda para azeites virgens.

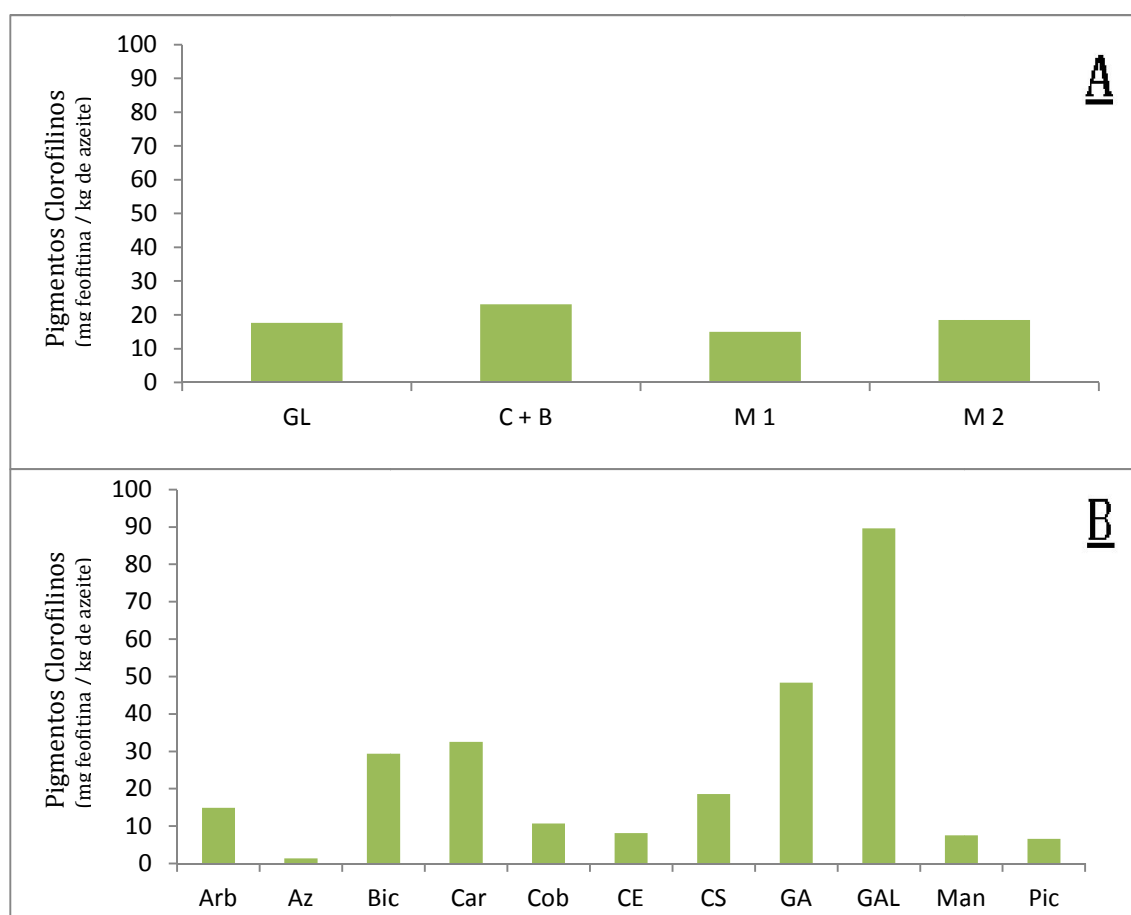


Figura 6.2 - Teor de pigmentos clorofilinos (mg de feofitina / kg de azeite) dos azeites estudados provenientes de lagar industrial (A) e equipamento laboratorial Abencor (B).

Tabela 6.5 - Resultados referentes à cor e características cromáticas dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor.

Códigos	x	y	tgα	C. Onda (nm)	Pureza (%)
GL	0,457	0,47	1,041	577,2	80,62
C + B	0,481	0,490	1,016	577,5	92,00
M 1	0,468	0,479	1,032	577,4	85,6
M 2	0,484	0,491	1,005	577,7	92,95
Arb	0,495	0,498	0,980	578,0	98,16
Az	0,381	0,398	1,153	575,8	40,93
Bic	0,482	0,501	1,070	576,9	95,44
Car	0,453	0,479	1,143	575,9	81,59
Cob	0,465	0,476	1,033	577,3	84,32
CE	0,452	0,468	1,070	576,9	78,38
CS	0,472	0,492	1,084	576,7	90,28
GA	0,491	0,503	1,036	577,3	98,42
GAL	0,472	0,525	1,292	574,2	99,32
Man	0,461	0,472	1,033	577,3	82,23
Pic	0,470	0,478	1,015	577,6	86,07

De acordo com a Figura 6.2, verifica-se que o azeite Galega (GAL) com IM = 2 apresenta valores mais elevados de pigmentos clorofilinos contrastando com o azeite Azeiteira onde quase desaparecem estes pigmentos. Os teores de pigmentos clorofilinos das amostras em lagar industrial revelam um decréscimo quando comparando com os valores obtidos dos azeites das mesmas cultivares, em equipamento Abencor.

Face aos valores da Tabela 6.5, verificou-se uma ligeira variação do comprimento de onda, as amostras analisadas apresentaram valores entre 574,2 e 578,0 nm, que correspondem à cor amarelo – esverdeado e amarelo. Relativamente ao grau de pureza, todos os azeites analisados apresentam um elevado grau exceto o azeite Azeiteira que apresenta um grau de pureza médio, este facto deve-se a uma baixa saturação da cor correspondente ao seu comprimento de onda.

6.5 Atividade antioxidante

Na atividade antioxidante determinada pelo teste de redução de DPPH, pode-se verificar um decréscimo da absorvância a 517 nm, resultante da descoloração do DPPH, produzido pelos compostos antioxidantes presentes nos azeites em estudo.

De acordo com as Figuras 6.3, os azeites provenientes de lagar apresentam valores mais baixos de redução de DPPH quando comparado com os provenientes de sistema Abencor, verificando-se uma diferença significativa no azeite Galega. Os azeites onde se verifica maior atividade antioxidante são os azeites Cobrançosa e Picual, por sua vez os azeites Conserva de Elvas e Arbequina apresentam os valores mais baixos de atividade.



Figura 6.3 - Atividade antioxidante pelo método de redução de DPPH (% R ao final de 30 min.) (média \pm desvio padrão) dos azeites estudados provenientes de lagar industrial (A) e equipamento laboratorial Abencor (B).

Como se pode verificar na Figura 6.4, a percentagem de redução de DPPH registada no tempo 0, 30 e 60 min., constata-se que os azeites em estudo apresentam um comportamento uniforme de redução ao longo das leituras.

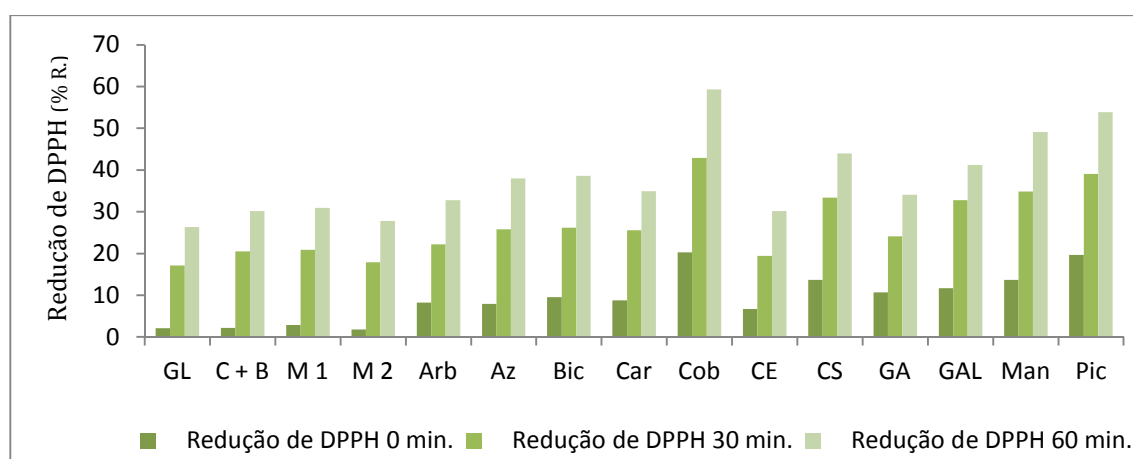


Figura 6.4 - Evolução da atividade antioxidante pelo método de redução de DPPH (% R, 0, 30 e 60 min.), dos azeites estudados provenientes de lagar industrial e equipamento laboratorial Abencor.

Os resultados obtidos na determinação de fenóis totais (Figura 6.1) encontram-se concordantes com os obtidos na percentagem redução de DPPH a 30 min. (Figura 6.3), verificando-se que quanto maior o teor de fenóis, maior será a sua percentagem de redução de DPPH. Deste modo evidencia-se uma correlação positiva forte ($R^2 \approx 0,86$) como podemos verificar na Figura 6.5.

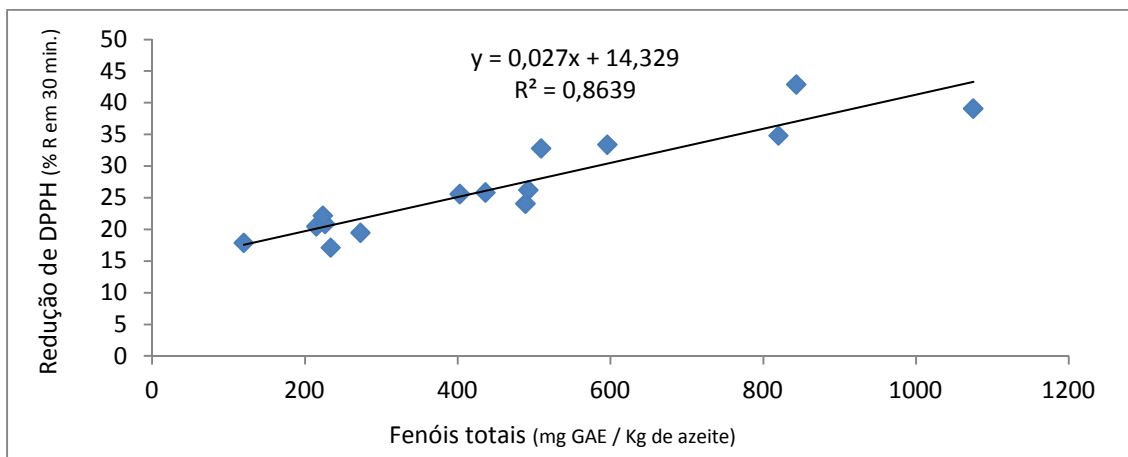


Figura 6.5 - Relação entre a redução de DPPH versus teor de fenóis totais.

6.6 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa do azeite representa a capacidade de resistência a fatores oxidativos como temperaturas elevadas e oxigenação. A sua determinação está fortemente associada à sua composição em ácidos gordos e ao teor de antioxidantes naturais (COI, 1991).

Os resultados obtidos na determinação da estabilidade oxidativa (Figura 6.7) permitem comprovar a relação existente entre a composição em ácidos gordos, face à relação de ácido oleico / linoleico e teor em fenóis totais.

De acordo com as Figura 6.6, verifica-se que os azeites estudados provenientes de lagar industrial, devido ao processo de extração, apresentam uma baixa estabilidade oxidativa quando comparados com os obtidos em equipamento laboratorial Abencor.

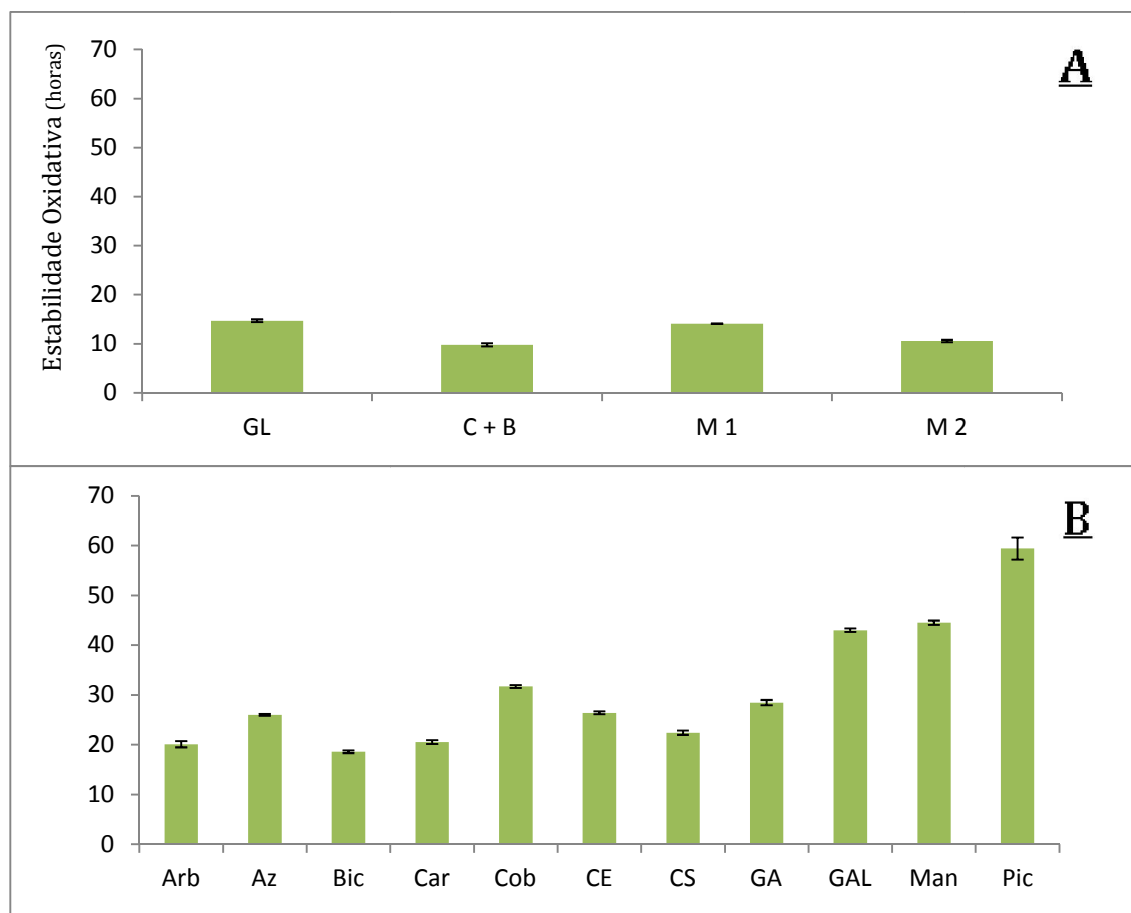


Figura 6.6 - Estabilidade oxidativa (média \pm desvio padrão) dos azeites estudados provenientes de lagar industrial (A) e equipamento laboratorial Abencor (B).

A partir da Figura 6.6 – gráfico B, verifica-se que dentro dos azeites monovarietais em estudo, o azeite Galega, Manzanilha e sobretudo o Picual, destacam-se pela sua elevada EO, devendo-se ao baixo teor de ácidos gordos polinsaturados e elevado teor em fenóis totais. Por sua vez, os azeites Bical, Arbequina e Carrasquenha, verificam os valores mais baixos de EO, devendo-se essencialmente ao baixo teor de ácidos gordos monoinsaturados. Este fato foi registado também em estudos realizados por outros autores, desenvolvidos em condições semelhantes (Henriques et al., 2001; Lopes et al., 2002; Mateus et al., 2006 e Silva, 2011).

A Figura 6.7 demonstra a existência de correlação linear positiva moderada ($R^2 \approx 0,64$) entre a estabilidade oxidativa e a relação ácido oleico/ linoleico, onde os azeites Picual, Galega e Manzanilha correspondem aos pontos mais elevados na reta, e os azeites Bical, Cordovil + Bical e Conserva de Elvas aos pontos mais baixos da presente correlação.

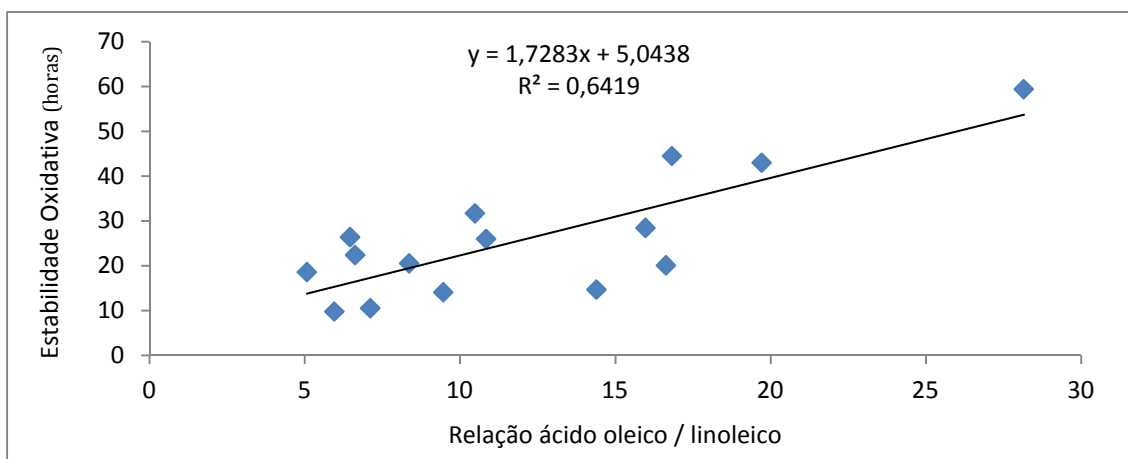


Figura 6.7 - Relação entre estabilidade oxidativa versus relação ácido oleico / linoleico.

De acordo com a Figura 6.8, podemos observar a existência de uma correlação linear positiva forte ($R^2 \approx 0,74$), relativamente à estabilidade oxidativa versus teor em fenóis totais presentes nos azeites em estudo. Os azeites Picual, Galega e Manzanilha correspondem aos pontos mais elevados na reta, já os pontos mais baixos, evidenciam-se pelos quatro azeites provenientes do lagar industrial, seguidos dos azeites monovarietais Bical e Arbequina.

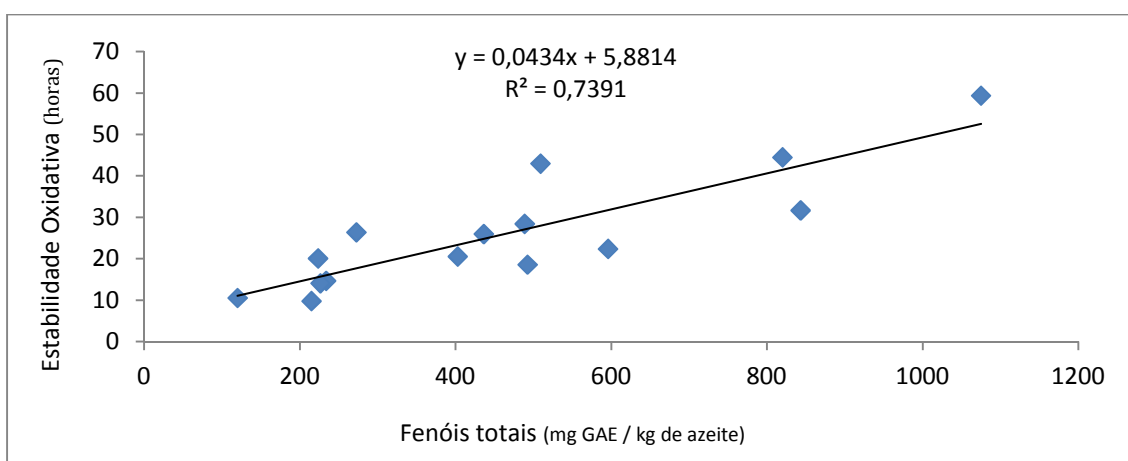


Figura 6.8 - Relação entre estabilidade oxidativa versus fenóis totais.

Os azeites Cobrançosa, Picual e Manzanilha, correspondem aos pontos mais elevados na reta, já os pontos mais baixos, realçam novamente os quatro azeites provenientes de lagar industrial, seguidos do azeite Bical, Azeiteira e Arbequina.

7. Considerações finais

O presente estudo teve como objetivo contribuir para o conhecimento sobre a avaliação da estabilidade oxidativa de azeites monovarietais, bem como a sua caracterização química e capacidade antioxidante, com vista à sua produção e loteamento.

De um modo geral, permitiu concluir que a utilização de frutos são combinados com um processamento rápido e adequado, resultando na obtenção de valores abaixo dos limites máximos impostos pela legislação atual para a obtenção da categoria virgem extra, como foi demonstrado nos azeites de lagar industrial e nos extraídos em sistema Abencor.

Em relação à estabilidade oxidativa, verifica-se que esta está fortemente dependente quer da composição em ácidos gordos quer do teor em compostos fenólicos dos diferentes azeites monovarietais.

A determinação da composição em ácidos gordos permitiu observar essencialmente que o teor de ácidos gordos monoinsaturados e polinsaturados, bem como a relação ácido oleico / linoleico influenciam a estabilidade oxidativa, demonstrando que os azeites Picual, Galega e Manzanilha apresentam os valores elevados, pelo que devem ser utilizados para loteamentos de longa duração em depósito ou em garrafa.

Os azeites Bical, Carrasquenha e Arbequina, mais ricos em ácidos gordos polinsaturados, apresentam uma estabilidade oxidativa mais baixa, apresentando-se assim fortemente dependentes do teor de compostos fenólicos presentes na sua constituição. Os azeites Picual, Cobrançosa e Manzanilha apresentam maior teor de compostos fenólicos, sustentando os valores elevados de estabilidade oxidativa.

Relativamente à determinação da atividade antioxidante, verificou-se que as maiores taxas de redução de DPPH pertencem aos azeites com maior teor de fenóis, isto é azeites Picual, Cobrançosa e Manzanilha.

Em termos da determinação de pigmentos clorofilinos, cor e características cromáticas, os resultados obtidos revelaram-se úteis para conjugação dos diferentes tipos de azeites em estudo com vista a possíveis loteamentos.

Sendo assim, pode concluir-se que os azeites Picual, Cobrançosa, Manzanilha e Galega apresentam valores de estabilidade oxidativa mais elevados, tornando-se muito úteis para a produção e loteamento, com vista a apresentarem uma maior estabilidade, evitando assim a sua degradação e aumentando o tempo de prateleira.

Referências bibliográficas

- Aparicio, R., Hardwood, J. (2003). Manual del Aceite de Oliva. Ediciones Mundi Prensa. Madrid.
- Barranco, D., Cimato, A., Fiorino, P., Rallo, L., Touzani, A., Castañeda, C., Serafini, F., Trujillo, I., (2000). Catálogo Mundial de Variedades de Olivo. Consejo Oleícola Internacional. Madrid.
- Bendini, A., Cerretani, L., Pancorbo, A. C., Carretero, A. S., Carlo, M. D., Toschi, T. G., Lerker, G., Compagnone, D., Gutiérrez, A. F., (2005). Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8918 – 8925.
- Bento, A., Pereira, J. A., Cabanas J., Pinto, A., Torres, L., (2009). Sensibilidade de diferentes cultivares de oliveira aos ataques da mosca da azeitona, *Bactrocera oleae*, e da traça da oliveira, *Prayssoleae*. III Simpósio Nacional de Olivicultura, Castelo Branco, 29 a 31 de Outubro de 2003, Actas Portuguesas de Horticultura, 13. Lisboa.
- Bohm, J., (2013). O grande livro da olivicultura e do azeite Portugal oleícola. In: Dinalivro editora, Lisboa. Pinheiro, A. C.; Cordeiro, A. M.; Barroso, J. M.; Gouveia, J. M. B. (eds.) As variedades de oliveiras; 5, 174 - 221.
- Boskou, D., Belkas, G., Tsimidou, M., (1995). Contribution of α - tocopherol to olive oil stability. *Food Chemistry*, 52, 289 -294.
- Boskou, D. (1998). Química y Tecnología del Aceite de Oliva. AMV Ediciones, Madrid.
- Boskou, D., Belkas, G., Tsimidou, M., (2006). Polar Phenolic Compounds. *Olive Oil Chemistry and Technology*; 5, 73 -92.
- Carrasco, P. A., Gómez, A. M., Cerretani, L., Bendini, A., Segura, C., Gutiérrez, F. (2006). Rapid quantification of the phenolic fraction of Spanish virgin olive oils by capillary electrophoresis with UV detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 54, 7984 – 7991.
- Casa do Azeite, (2014). www.casadoazeite.pt; Acedido em 31 de Março de 2014.
- Civantos, L. L. V., (2008). Obtención del aceite de oliva virgen. 3ª Edición, Editorial Agrícola Española S.A. Madrid.
- C.E. – Denomination Information (2014). Comissão Europeia, Agricultura e Desenvolvimento Rural, Agricultura e alimentação, DOOR, <http://ec.europa.eu/agriculture/quality/>, Acedido em 27 de Abril de 2014.
- COI, (1991). Consejo Oleícola Internacional - Mejora de la calidad del aceite de oliva. Madrid.
- Dabbou, S., Rjiba, I., Nakbi, A., Gazzah, N., Issaoui, M., Hammami, M., (2010). Compositional quality of virgin olive oils from cultivars introduced in Tunisian arid zones in comparison to Chemlali cultivars. *Scientia Horticulturae*, 124, 122 – 127.
- Dell'Agli, M., Fagnani, R., Mitro, N., Scurati, S., Masciadri, M., Mussoni, L., Galli, V., Bosisio, E., Crestani, M., De Fabiani, E., Tremoli, E., Caruso, D., (2006). Minor components of olive oil modulate proatherogenic adhesion molecules involved in endothelial activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3259 – 3264.
- ESAB, (2008). Desenvolvimento de Sistemas de Controlo da Mosca da Azeitona (*Bactrocera oleae*), de baixo impacto ambiental, Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária.
- ESACB, (2014). Sector de olivicultura, <http://fruticultura.esa.ipcb.pt/Olival.html>, Acedido em 7 de Maio de 2014.

Fakourelis, N., Lee, E. C., Minn, D. B., (1987). Effects of chlorophyll and β - carotene on the oxidation stability of olive oil. *Journal of Food Science*, 52, 234 - 235.

FAO (2014). <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QD/E>; Acedido em 27 de Junho de 2014.

Folhas de Oliva, (2014). www.folhasdeoliva.com; Acedido em 17 de Maio de 2014.

Frankel, E. N., (1998). Frying fats. In: *Lipid oxidation Review. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54, 227-248.

Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., Conssignani, L., Dugo, G., (2011). Pigments profile in monovarietal virgin olive oils from various Italian olive varieties. *Food Chemistry*, 124, 1119 - 1123.

Gomes, H. B., Cavaco, M., (2003). *Protecção Integrada da Oliveira. Lista dos Produtos Fitofarmacêuticos. Níveis Económicos de ataque. DGPC. 2ª edição. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas. Oeiras.*

Gutierrez, A. F., Carretero, A. S., (2009). *Aceite de oliva: Tesoro de Andalucía. Fundación Unicaja. Granada.*

Hamilton, R. J., Allen, J. C., (1999). *Rancidity in foods. 3ª Edition. Aspen Publishshers Incorporation. Maryland.*

Henriques, L. R., Conceição, A. C., Peres, M. F., Alves, M. C. P., (2000). β - Caroteno e pigmentos clorofilinos em azeites monovarietais da beira baixa campanha 1998 / 1999. *Revista de Ciências Agrárias XXIV*, 193 - 198.

Henriques, L. R., Peres, M. F., Vitorino, M. C., Alves, M. C. P., Simões, P., (2001). Estabilidade relativamente à oxidação de azeites monovarietais da beira baixa. *Revista de Ciências Agrárias*, 199 - 204.

Hiller - DecaOil, (2014). <http://www.hillerzentri.de/New/en/main.html>; Acedido em 10 de Julho de 2014.

Kiritsakis, A. K. (1992). *El Aceite de Oliva. A. Madrid Vicente, Ediciones, Madrid.*

Kiritsakis, A. K. (1998). *Olive oil: From the tree to the table. Second Edition Food and Nutrition Press Incorporation. Trumbull, Connecticut.*

Leitão, F., (1988). *Contributo para o conhecimento de 20 cultivares de Olea europaea L. quer sobre o aspecto de caracterização, quer da produtividade determinante do seu valor económico. Dissertação apresentada a concurso de Investigador Auxiliar INIA. Oeiras.*

Lopes, P. S., Peres, M. F., Alves, M. C. P., Antunes, M. P. S., Cordeiro, A., (2002). Estudo comparativo entre azeiteis monovarietais das regiões de Elvas, Castelo Branco e Santarém. *Revista Ciências Agrárias*, 38, 266 -274.

Lopes, J., Pavão, F., Rodrigues, M. A., (2009). *Colheita da azeitona. Manuel A. Rodrigues e Carlos Correia (eds). Manual da safra contra safra do olival. Bragança: Instituto Politécnico. Capítulo I.*

Mateos, R., Uceda, M., Aguilera, M. P., Escuderos, M. E., Maza, G. B., (2006). Relationship of Rancimat method values at varying temperatures for virgin olive oil. *Eur Food Res Technol*, 223, 246 - 252.

Mendoza, J. A., Izquierdo, J. R., Rosales, F. G., (1997). *Aceite de oliva virgen análisis sensorial. Editorial Agrícola Española, S.A.; Madrid.*

Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., Hull W. E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*, 38, 647 – 659.

Pastor, M., Humanes, J., (2010). *La poda del olivo, moderna olivicultura*. 6ª Edición, Editorial Agrícola Española S.A. Madrid.

Peres, J.A., (2001). “Degradação de ácidos fenólicos por processos de oxidação avançados e pré-tratamento de águas ruças pelo Reagente de Fenton”. Tese de Doutoramento. UTAD. Vila Real. Portugal.

Peres, F., Jelen, H. H., Majcher, M. M., Arrais, M., Martins, L. L., Dias, S. F., (2013). Characterization of aroma compounds in Portuguese extra virgem olive oil from Galega Vulgar and Cobrançosa cultivars using GC – O and GC x GC – To FMS. *Food Research International*, 54, 1979 – 1986.

Pokorný, J., Kalinová, L. P., Dysseler, (1995). Determination of Chlorophyll Pigments in Crude Vegetable Oils. *Pure Appl. Chem*, 67, 1781-1787.

Ranalli, A., Sgaramella, A., Surricchio, G., (1999). The new “Cytolase 0” enzyme processing aid improves quality and yields of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 66, 443 – 454.

Regulamento (CE) no 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro.

Regulamento (CE) no 510/2006 do Conselho de 20 de Março.

Regulamento (UE) no 1348/2013 da Comissão de 16 de Dezembro.

Rodrigues, M., Rocha, M., Ferreira, A., Padrão, P., (2012). Olive oil and health. *Revista Nutricias*, 15, 14 – 18.

Romani, A., Lapucci, C., Cantini, C., Ieri, F., Mulinacci, N., Visioli, F., (2007). Evaluation of minor polar compounds and antioxidant capacity during storage of bottled extra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1315 – 1320.

Rosales, G., (1989). Determinación de la estabilidad oxidativa de aceite de oliva vírgenes: comparación entre el método del oxígeno activo (A.O.M.) y el método Rancimat. *Grasas y Aceites*, 40, 1 – 5.

Sampedro, I., Romero, C., Campo, O. J. A., Brenes, M., Garcia, I., (2004). Removal of monomeric phenols in dry mill olive residue by saprobic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4487-4492.

Shahidi, F., (2005). *Bailey’s Industrial Oil and Fat Products*. 6 ed. New York: John Wiley & Sons.

SIAZ – GPP. (2014). Sistema de Informação sobre Azeite e a Azeitona de Mesa, Gabinete de Planeamento e Políticas; <http://www.gpp.pt/estatistica/SIAZ/>; Acedido em 30 de Abril de 2014.

Silva, F. A. M., Borges, M. F. M., Ferreira, M. A., (1999). Métodos para a avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*, 22, 94 – 103.

Silva, T. V. R. (2011). Caracterização de azeites monovarietais obtidos de colheitas tardias na campanha de 2010 / 2011. Relatório de final de curso. ESACB.

U.S. International Trade Commission. (2013). Olive oil: Conditions of competition between U.S. and major foreign suppliers industries. USITC Publication 4419. Washington, DC.