



Efeito do tipo de vedante da garrafa vs. qualidade do azeite virgem

Luís Manuel Machado Brito Coutinho Dias

Orientadores

Professora Doutora Maria de Fátima Pratas Peres

Professora Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Maria de Fátima Pratas Peres e da Professora Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos do Instituto Politécnico de Castelo Branco

Maio de 2017

Composição do júri

Presidente do júri

Doutor, Celestino António Morais de Almeida

Professor Coordenador, Escola Superior Agrária de Castelo Branco

Vogais

Doutora, Maria Suzana Leitão Ferreira Dias Vicente

Professora Associada, Instituto Superior de Agronomia

Doutor, António Maria dos Santos Ramos,

Professor Coordenador da Escola Superior Agrária de Castelo Branco

Dedicatória

À minha avó Catarina.

Agradecimentos

Às minhas orientadoras, Professora Doutora Maria de Fátima Pratas Peres e Professora Doutora Maria Ofélia Serralha dos Anjos pela transmissão de conhecimentos, disponibilidade e empenho.

Às técnicas do Laboratório de Tecnologia Alimentar da ESACB, Engenheira Cecília Gouveia e Engenheira Maria da Conceição Vitorino pelo apoio prestado ao longo de toda a componente prática do trabalho.

Ao Grupo AMORIM pelo estudo para a determinação do tipo de rolha mais adequado para as unidades experimentais e pela oferta das rolhas utilizadas no ensaio.

Ao Designer BrunoMMCarvalho pela fotografia e colaboração na montagem gráfica do inquérito on-line ao consumidor.

À Dra. Catarina Saraiva e Silva pela revisão da tradução.

À Dra. Fátima Sousa pela colaboração na organização gráfica e na revisão do texto.

Aos professores e aos colegas do mestrado em engenharia agronómica, em particular à Dora Ferreira que me acompanhou e apoiou ao longo de todo este percurso curricular.

Aos meus pais por estarem sempre ao meu lado.

E, claro, à Graça e ao Miguel.

Efeito do tipo de vedante da garrafa vs. qualidade do azeite virgem

Luís Manuel Machado Brito Coutinho Dias

Resumo

Muitos têm sido os estudos efetuados sobre o impacto negativo que o oxigénio exerce sobre o azeite, nomeadamente favorecendo a formação e decomposição de hidroperóxidos, originando compostos voláteis de baixo peso molecular, responsáveis pelo surgimento de defeitos sensoriais como o ranço. Estes estudos têm incidido, sobretudo, no processo de extração, na qualidade da matéria-prima e no tipo de embalagem, mas não sobre o tipo de vedante mais adequado a utilizar na garrafa final.

Neste contexto, o objetivo do presente estudo é avaliar o efeito da utilização de rolha de cortiça natural, como sistema de fecho de garrafas de vidro, na qualidade do azeite virgem ao longo do tempo de armazenamento. Este estudo relaciona dois importantes *clusters* ibéricos – o azeite e a cortiça.

O presente estudo consistiu numa análise comparativa entre três tipos de vedante: cápsula metálica, rolha de cortiça natural e rolha de cortiça bartop. Estudou-se a sua influência na qualidade final de azeite virgem extra com Denominação de Origem Protegida (DOP). O gargalo da garrafa com rolha de cortiça natural foi, posteriormente, coberto com cera de abelha. O azeite utilizado no estudo foi um lote de azeite virgem extra DOP “Beira Interior” extraído das cultivares ‘Galega Vulgar’ e ‘Cobrançosa’ da campanha de 2014/2015. O azeite foi engarrafado em garrafas de vidro escuro, marasca de 500 ml, vedado com os sistemas referidos anteriormente e armazenado na ausência de luz e a uma temperatura controlada (22°C). Os resultados apresentados correspondem a 3 momentos de análise (início, 5 meses e 10 meses de embalamento nestas condições).

Foram utilizados para medição das alterações qualitativas do azeite os métodos previstos na Regulamentação Europeia (Reg (CEE) Nº 2568/91 e posteriores alterações), nomeadamente os que medem a oxidação (índice de peróxido e absorvâncias no UV), bem como a evolução de parâmetros relacionados com o valor nutricional e sensorial do azeite virgem.

Os parâmetros de oxidação do azeite (IP e absorvâncias no UV) são significativamente mais altos para os azeites vedados com cápsula metálica. Relativamente aos compostos fenólicos (fenóis totais e tocoferóis) os resultados mostram teores mais elevados para os azeites vedados com os dois tipos de rolhas de cortiça, o que leva a uma maior estabilidade oxidativa destes azeites.

Foi realizado um questionário *on-line* com o objetivo de avaliar a preferência do consumidor relativamente ao tipo de vedante da garrafa de azeite. Este questionário corresponde a uma amostra representativa de 300 inquiridos.

A maioria dos consumidores prefere os vedantes de cortiça às cápsulas metálicas, revelando o interesse por materiais e soluções mais naturais e sustentáveis.

Palavras chave

Armazenamento; azeite virgem, cápsula metálica; rolha cortiça; fenóis.

Efect bottle seal type vs. virgin olive oil quality

Luís Manuel Machado Brito Coutinho Dias

Abstract

Many studies have been published about the negative impact that oxygen has on olive oil, namely promoting the formation and degradation of hidroperoxydes, originating volatile compounds of low molecular weight responsible for the degradation of the sensory profile as is rancidity. These studies have focused mainly on the extraction process, on the feedstock quality and on the type of conditioning rather than on the most effective type of bottle seal to use.

This study purpose is to assess the effect of natural cork bottle seals as the closing system of glass bottles in virgin olive oil quality over storage time. It connects two important Iberian clusters – olive oil and cork – and matches the requests of the producers to research.

The present study consisted of a comparative analysis between three types of bottle seals: screw cap, natural cork stopper and bartop cork. Its' influence on the quality of virgin olive oil with “Denominação de Origem Protegida” DOP was the parameter studied. The bottle neck from the ones with natural cork stopper was on a later stage covered with bee wax. The olive oil studied was a blend of extra virgin olive oil DOP “Beira Interior” from “Galega vulgar” and “Cobrançosa” cultivars from 2014/2015 harvest. The olive oil was bottled in dark glass bottles (500ml), sealed by the previously stated methods and stored in absence of light and at a constant temperature of 22°C. The results presented pertain to three analysis periods (beginning, 5 months and 10 months of storage in said conditions).

The methods established by the European Regulation (REG (CEE) Nº 2568/91 and subsequent regulations) were used to measure the olive oil's qualitative changes, namely regarding oxidation (peroxide value and UV absorbances) as well as the evolution of some parameters related to both nutritional and sensorial properties of virgin olive oil.

The olive oil oxidation parameters (IP and UV absorbances) are significantly higher for olive oils bottled with screw cap. In what concerns phenol compounds (total phenols and tocopherols) the results showed higher contents for the olive oils with cork bottle closure, which leads to a better oxidative stability.

An on-line questionnaire was performed in order to evaluate olive oil consumer preference for the bottle closure. This questionnaire was completed by a representative sample of 300 responses.

The consumer preference is more positive when the bottle seal is a sustainable one, like cork, than when screw cap is used.

Keywords

Storage; virgin olive oil; metallic capsule; cork stopper; phenols.

Índice geral

Índice geral	XIII
Índice de figuras	XV
Lista de tabelas	XVII
Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos	XIX
1. Introdução	1
2. Azeite	4
2.1 Composição química.....	4
2.1.1 Ácidos gordos.....	4
2.1.2 Acilgliceróis.....	6
2.1.3 Compostos fenólicos.....	7
2.1.3.1 Fenóis hidrofílicos.....	7
2.1.3.2. Fenóis lipofílicos.....	9
2.1.4 Pigmentos	10
2.1.5 Compostos voláteis	11
2.1.6 Outros.....	12
2.2 Alterações do azeite virgem.....	13
2.2.1 Lipolíticas	13
2.2.2 Oxidativas	14
2.2.3 Microbianas/enzimáticas.....	15
3. Fatores internos de oxidação do azeite	16
3.1 Ácidos gordos	16
3.2 Antioxidantes.....	16
3.3 Presença de pró-oxidantes	17
4. Fatores externos de oxidação do azeite	18
4.1 Produção e colheita da azeitona.....	18
4.2 Transformação da azeitona.....	18
4.3 Armazenamento do azeite.....	19
4.4 Embalagem do azeite.....	20
5. Material e métodos	21
5.1 Amostragem e delineamento experimental	21
5.2 Métodos	23

5.3 Tratamento de dados	23
6. Resultados e discussão.....	24
6.1 Caracterização do Lote de Azeite Base do Ensaio	24
6.1.1 Triacilgliceróis e ácidos gordos	24
6.1.2 Critérios de qualidade	25
6.1.3. Fenóis totais, tocoferóis, pigmentos clorofilinos, K ₂₂₅ e estabilidade oxidativa	26
6.2 Estudos de armazenamento com diferentes tipos de vedante	28
6.3 Estudo de mercado	40
7. Conclusões	44
8. Referências bibliográficas.....	45
9. Apêndice	52
Avaliação da preferência do consumidor relativamente ao tipo de vedante utilizado no fecho de garrafas de azeite.....	52

Índice de figuras

Figura 1 - Exemplar de sobreiro adulto.	3
Figura 2 - Tiragem de cortiça amadia.	3
Figura 3 - Esquema geral da reação de esterificação.	6
Figura 4 - Estrutura química de um triacilglicerol (OOP) com dois radicais de ácido oleico (C18:1) e um radical de ácido palmítico (C16:0) ligados ao glicerol.	7
Figura 5 - Estrutura química de um 1,3-diacilglicerol com um radical de ácido oleico (C18:1) na posição 1 e um radical de ácido palmítico (C16:0) na posição 3 ligados ao glicerol.	7
Figura 6 - Estrutura química de um 1-monoacilglicerol com um radical de ácido palmítico (C16:0) na posição 1 ligado ao glicerol.	7
Figura 7 - Estrutura química dos tocoferóis presentes no azeite virgem.	10
Figura 8 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.	14
Figura 9 - Pormenor de colheita de azeitona.	18
Figura 10 - Lagar de azeite de sistema tradicional.	19
Figura 11 - Depósito de azeite em inox.	19
Figura 12 - Depósitos de azeite revestidos a resina epóxi.	19
Figura 13 - Embalagens de azeite na <i>Olive Oil Award</i> - Biofach 2017.	20
Figura 14 - Pormenor do ensaio no Laboratório de Tecnologia Alimentar da ESACB.	21
Figura 15 - Apresentação das diferentes unidades experimentais.	22
Figura 16 - Variação do teor de pigmentos clorofilinos ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberta de cera de abelha.	31
Figura 17 - Variação do índice de peróxido ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberta de cera de abelha.	32
Figura 18 - Variação do K_{232} ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberta de cera de abelha.	33
Figura 19 - Variação do K_{270} ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberto de cera de abelha.	34
Figura 20 - Variação do K_{225} ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberto de cera de abelha.	35
Figura 21 - Variação do teor de fenóis totais ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberto de cera de abelha.	36
Figura 22 - Teores α -tocoferol no início e após 10 meses de armazenamento para os três tipos de fecho. I- início, C- cápsula metálica com interior de polímero; R- rolha de cortiça capsulada com cera de abelha; RC- rolha de cortiça com cápsula bartop.	37
Figura 23 - Estabilidade oxidativa no início e após 10 meses de armazenamento para os três tipos de fecho.	38
Figura 24 - Análise de componentes principais: tipo de vedante (C; R e RC); meses (5 e 10).	39
Figura 25 - Percentagem de respostas por sexo.	40

Figura 26 - Percentagem de respostas por nível de escolaridade.	41
Figura 27 - Percentagem de respostas por origem e modo de produção.	41
Figura 28 - Percentagem de respostas por tipo de vedante em relação à funcionalidade na abertura da garrafa.	42
Figura 29 - Percentagem de respostas por tipo de vedante em função da imagem.	42
Figura 30 - Percentagem de respostas por tipo de vedante entre cápsula de cortiça ou metálica.	43

Lista de tabelas

Tabela 1 - Ácidos gordos maioritários no azeite.	5
Tabela 2 - Classes de compostos voláteis (%) presentes no azeite virgem de “Galega vulgar” e de “Cobrançosa”.	9
Tabela 3 - Quantidade (mg/100 g) de tocoferóis no azeite virgem.	11
Tabela 4 - Compostos químicos do azeite que influenciam o tempo de prateleira.	16
Tabela 5 - Métodos utilizados na determinação dos diferentes parâmetros.	23
Tabela 6 - Composição em triacilgliceróis (%) do lote de azeite base do ensaio (Média ± desvio padrão).	24
Tabela 7 - Ácidos gordos (%) componentes do lote de azeite base do ensaio (Média ± desvio padrão).	25
Tabela 8 - Resultados dos critérios de qualidade do azeite base (Média ± desvio padrão) e respetivos limites legais para AVE.	26
Tabela 9 - Valores medidos no início do ensaio (lote de azeite base), valores da literatura e respetiva referência bibliográfica para os vários parâmetros.	27
Tabela 10 - Valores de fenóis totais para dez azeites monovarietais obtidos a partir de amostras de azeitonas de dez cultivares, do mesmo olival e em estado normal de maturação.	27
Tabela 11 - Ácidos gordos (%) e acidez livre (%) no início e ao fim de 10 meses para os diferentes tipos de cápsula (Média ± desvio padrão).	29
Tabela 12 - Resumo da análise de variância para os dois fatores estudados (V e M).	30

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

ANOVA	Análise de variância
AVE	Azeite virgem extra
BIO	Biológico
CO ₂	Dióxido de carbono
3,4-DHPEA	Hidroxitirosol
3,4-DHPEA-EDA	Forma dialdeídica do ácido elenólico ligado ao hidroxitirosol; Oleocantal
IP	Índice de peróxido
ΔK	Varição do coeficiente de extinção específica na zona dos 270 nanómetros
K ₂₂₅	Coeficiente de extinção específica a 225 nanómetros
K ₂₃₂	Coeficiente de extinção específica a 232 nanómetros
K ₂₇₀	Coeficiente de extinção específica a 270 nanómetros
MUFA	Monounsaturated fatty acids
p-HPEA	Tirosol
p-HPEA-EA	Forma aldeídica do ácido elenólico ligado ao tirosol
PUFA	Polyunsaturated fatty acids
SFA	Saturated fatty acids
UV	Ultravioleta

1. Introdução

O azeite virgem é obtido exclusivamente por métodos físicos, a partir do fruto da *Olea europaea* L., apresentando características sensoriais e propriedades nutricionais que fazem com que o seu consumo esteja a aumentar em todo o mundo (Manai *et al.*, 2008). É, por isso, considerado o principal constituinte e a maior fonte de gordura da chamada “Dieta Mediterrânea” e a sua importância é reconhecida mundialmente na alimentação, agricultura e setores industriais (Campanella *et al.*, 2008).

O azeite virgem é um produto natural que contém, na sua composição, compostos antioxidantes. São estes antioxidantes naturais que, juntamente com uma composição rica em ácido oleico (C18:1) e uma relação apropriada entre ácidos gordos saturados e insaturados, se traduzem numa importante estabilidade oxidativa do azeite, que influencia e prolonga o seu tempo de vida útil quando ao abrigo de fatores oxidativos como a luz, as temperaturas elevadas e o contato com o oxigénio (Farhoosh e Hoseini-Yazdi, 2014; Gómez-Alonso *et al.*, 2004), para além dum valor nutricional importante (Farhoosh e Hoseini-Yazdi, 2014).

Dadas as propriedades benéficas para o Homem, considera-se o azeite um alimento com propriedades funcionais (Buchgraber e Karaali, 2005).

No entanto, apesar da sua composição rica em compostos antioxidantes, o azeite revela suscetibilidade à oxidação lipídica, fator responsável pela perda das suas propriedades nutricionais e organolépticas (Issaoui *et al.*, 2011). No sentido de limitar a ocorrência de fenómenos oxidativos, fatores como a qualidade da matéria-prima, o processo de extração, as condições de armazenamento e o tipo de embalagem são importantes.

Neste estudo, em que se avalia o efeito, na qualidade do azeite virgem, da utilização da rolha de cortiça natural no fecho de garrafas de vidro justifica-se uma referência, ainda que breve, ao sobreiro (*Quercus suber* L.), ao tecido vegetal que se extrai deste - a cortiça - e também à sua importância ecológica e socioeconómica, em que a rolha de cortiça representa o produto mais valioso, constituindo o suporte de toda a indústria corticeira (Gil, 2006).

O sobreiro data da Era Terciária e existe há mais de 60 milhões de anos, desde a constituição da grande bacia do Mediterrâneo, período Oligoceno, estando já largamente representado na flora europeia deste período geológico. É uma planta dicotiledónea da ordem *Fagales*, da família *Fagaceae* e do género *Quercus*. Das mais de 600 espécies de quercínias, a *Quercus suber* L. (nome científico do sobreiro) é a única produtora de cortiça (Oliveira e Oliveira, 2000).

De folha persistente, o sobreiro está bem adaptado às condições climáticas das zonas mediterrâneas e mediterrâneas de influência atlântica (Península Ibérica, Sul de França, Itália e Norte de África) e é muito tolerante ao tipo de solo, com exceção para os solos calcários ou demasiado argilosos, suportando valores de pH entre 4,8 e 7,0.

O sobreiro (Figura 1), árvore de crescimento lento e de longa duração, pode atingir os 250-350 anos de idade e produzir cortiça até aos 150-250 anos (Fortes *et al.*, 2004), representando um importante valor económico pelos muitos produtos que dele se obtém (Oliveira e Oliveira, 2000). Determinante na luta contra a desertificação, contribui de forma muito significativa para a manutenção da biodiversidade (Fortes *et al.*, 2004).

A subericultura está fortemente orientada para a produção de cortiça por esta ser uma matéria-prima com múltiplas aplicações em setores tão importantes como o dos vinhos ou o da construção e é, precisamente, a cortiça que coloca Portugal no primeiro lugar em termos mundiais quer ao nível da produção quer da industrialização (Oliveira e Oliveira, 2000).

Utilizada por egípcios, gregos e romanos em inúmeros objetos e apetrechos, já na Grécia Antiga a cortiça era empregue como vedante para vasilhas de vinho e, note-se, também de azeite. Mas o grande incremento na utilização da cortiça foi dado por volta de 1680 pelo monge beneditino francês Dom Pierre Pérignon da região de Champagne, a quem se deve o processo de champanhização, ao utilizar, com sucesso, a rolha de cortiça em vez do tampão de madeira, tornando indispensável o uso desta no engarrafamento dos vinhos. A industrialização da cortiça tem um enorme desenvolvimento a partir do século XIX, aquando do início do uso da garrafa de vidro em substituição dos tradicionais barris na conservação do vinho (Oliveira e Oliveira, 2000).

Os componentes estruturais da cortiça são a suberina (principal componente das paredes celulares da cortiça), a lenhina (segundo componente estrutural mais importante das paredes celulares da cortiça) e os polissacáridos celulose e hemiceluloses; os componentes não-estruturais classificam-se em extrativos (componentes orgânicos não-estruturais das paredes celulares – ceras e taninos) e em componentes inorgânicos (cinzas) (Pereira, 1988). As propriedades específicas da cortiça resultam quer da sua composição química, bastante diferente da de outros tecidos vegetais quer da estrutura, *i.e.*, da forma como os átomos e as moléculas estão distribuídos e se ligam entre si. A cortiça tem uma estrutura celular que a inclui na classe dos chamados materiais celulares, naturais, e as suas células são biológicas, poliédricas e de dimensões micrométricas (Gibson *et al.*, 1981). São a impermeabilidade a líquidos e gases, a inocuidade e a elasticidade ou resiliência que permitem a compressibilidade e recuperação (Anjos *et al.*, 2008; Anjos *et al.*, 2014), propriedades fundamentais no engarrafamento, que tornam tão interessante como vedante este material suberoso (Gil, 2006) originado pelo felogénio do sobreiro que reveste o seu tronco e ramos - o felema.

O aproveitamento integral desta matéria-prima e a sua valorização é feita pelo processamento industrial que segue, em geral, duas vias, consoante o tipo de cortiça – amadia (Figura 2), secundeira e virgem – e, a partir do qual se obtém dois grupos de produtos, os de cortiça natural, constituídos unicamente por cortiça e onde se incluem

principalmente rolhas e discos, e os de cortiça aglomerada, que são, genericamente, as rolhas aglomeradas, os produtos de revestimento e os produtos de isolamento. Um produto que tem vindo a ter cada vez mais importância é a chamada rolha composta ou rolha técnica, resultante da colagem de peças de cortiça natural e de aglomerado branco e, atualmente, as mais usadas no engarrafamento de champanhes e espumantes. A classificação das rolhas é feita em classes que vão de extra a refugo em função da qualidade da cortiça. Esta classificação baseia-se no grau de porosidade da rolha e na presença de defeitos que podem afetar a sua principal função – a vedação da garrafa (Pereira *et al.*, 1996). Espera-se que este trabalho possa contribuir para o incremento da utilização da rolha de cortiça pelos produtores e embaladores de azeite no engarrafamento. Pretende-se satisfazer, simultaneamente, dois aspetos importantes - o fecho eficaz da garrafa de azeite e o aumento do consumo de cortiça.

A concretização desta expectativa está dependente do comportamento da rolha de cortiça comparativamente ao vedante mais habitual na indústria do azeite e também do comportamento do consumidor que, devidamente informado, tem nas suas mãos o poder para influenciar o engarrafador.

Por isso, faz parte deste trabalho um inquérito que visa conhecer a preferência do comprador de azeite relativamente ao tipo de vedante utilizado.



Figura 1 - Exemplar de sobreiro adulto. Herdade da Tojeira - Vila Velha de Ródão.

Fonte: Fotografia do autor.



Figura 2 - Tiragem de cortiça amadia. Herdade do Pardieiro - Santiago do Cacém.

Fonte: Fotografia do autor.

2. Azeite

2.1 Composição química

Em termos químicos, o azeite pode ser considerado uma mistura de vários tipos de compostos, de diferentes classes químicas, agrupados em dois grupos: a fração saponificável ou maioritária e a fração insaponificável ou minoritária.

A fração saponificável representa entre 98,5 e 99,5% do total dos constituintes do azeite e é constituída pelos componentes de concentração mais elevada, como os acilgliceróis (mono, di e tri), os ácidos gordos e ácidos gordos livres, e os fosfolípidos (Boskou, 1998).

A fração insaponificável, representa a restante parte do peso do azeite (0,5% a 1,5%) e engloba, entre outros, esqualenos, esteróis, álcoois gordos, ceras, compostos fenólicos (polifenóis e tocoferóis), compostos voláteis e pigmentos (clorofilas e carotenoides). Embora esta fração assente na parte minoritária da composição do azeite, a sua contribuição é extremamente importante do ponto de vista biológico (Gómez-Gonzalez *et al.*, 2011; Velasco e Dobarganes, 2002; Boskou *et al.*, 2006a; El Riachy *et al.*, 2011).

A composição química do azeite está relacionada com as condições edafo-climáticas e com um conjunto de fatores agronómicos como o tipo de fertilização, a utilização ou não de rega no olival, a poda das oliveiras e o modo de produção e de luta química praticados. A cultivar ou cultivares utilizadas na produção, o índice de maturação das azeitonas e as condições de transporte para o lagar bem como o modo de extração e de armazenamento do azeite também influenciam a sua composição química (Aparício e Luna, 2002; Simões-Lopes *et al.*, 2009).

Segundo Velasco e Dobarganes (2002) é a composição do azeite em ácidos gordos, caracterizada por uma elevada concentração em ácido oleico (C18:1) que se traduz numa relação MUFA:PUFA alta e num relativamente alto teor em compostos menores com atividade antioxidante, principalmente compostos fenólicos, a principal causa da estabilidade oxidativa do azeite.

2.1.1 Ácidos gordos

Os ácidos gordos são compostos orgânicos simples formados por carbono, hidrogénio e oxigénio em que cada molécula tem um grupo carboxilo (COOH) na extremidade alfa (α) e um grupo metilo (CH₃) não funcional na extremidade ómega (ω). Encontram-se presentes, principalmente, nos acilgliceróis e nos fosfolípidos (Bruce, 2004).

Os ácidos gordos são divididos em duas classes, os saturados, quando dois átomos de hidrogénio estão ligados a cada carbono (três no último átomo de carbono) e os insaturados, quando alguns dos átomos de carbono possuem só um átomo de hidrogénio ligado. Por sua vez, os ácidos gordos insaturados dividem-se em

monoinsaturados ou polinsaturados conforme têm, respetivamente, uma ou mais que uma dupla ligação na cadeia. Nos óleos e gorduras naturais essa cadeia é, genericamente, linear e, no caso dos ácidos gordos insaturados, apresenta-se na forma *cis* sendo, no entanto, possível encontrar quantidades vestigiais dos isómeros *trans* dos ácidos oleico, linoleico e linolénico em amostras de azeite. Dos ácidos gordos presentes no azeite são saturados, o mirístico (C14:0), o palmítico (C16:0), o heptadecanóico (C17:0), o esteárico (C18:0), o araquídico (C20:0), o beénico (C22:0) e o lignocérico (C24:0); são monoinsaturados o palmitoleico (C16:1), o heptadecenoico (C17:1), o oleico (C18:1) e o gadoleico (C20:1) e polinsaturados o linoleico (18:2) e o linolénico (C18:3). Os ácidos gordos monoinsaturados existem em grande percentagem, cerca de 55,3 a 86,5% do total de ácidos gordos e de entre estes o ácido oleico é o que está representado em maior quantidade com valores médios aproximados entre os 61 a 83%, (Lopez-Villalta, 2008). Na Tabela 1 são apresentados a estrutura química e os limites em percentagem de seis ácidos gordos presentes no azeite virgem em quantidades consideráveis.

Tabela 1 - Ácidos gordos maioritários no azeite.

Ácido Gordo	Estrutura Química	Limites (%)
Palmítico (C16:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	7,5-20,0
Palmitoléico (C16:1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	0,3-3,5
Esteárico (C18:0)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	0,5-5,0
Oleico (C18:1)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	55,0-83,0
Linoleico (C18:2)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	2,0-20,0
Linolénico (C18:3)	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	0,1-1,5

Fonte: Adaptado de Boskou, 1998.

Embora os ácidos gordos polinsaturados (PUFA) confirmem ao azeite maior instabilidade oxidativa não deixam de ser essenciais em termos nutricionais. Por outro lado, é a composição em ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), principalmente em ácido oleico que diferencia o azeite dos outros óleos vegetais (Gunstone, 2002).

A composição do azeite virgem em ácidos gordos é também importante para a sua caracterização sendo que o perfil dos ácidos gordos mais importantes dos azeites é semelhante e a percentagem de variação entre eles deve-se à cultivar (Peres *et al.*, 2013) e às condições edafo-climáticas (Simões-Lopes *et al.*, 2009). A contribuição de

cada ácido gordo para a composição total de um azeite virgem é influenciada não só pela cultivar e pelas condições edafo-climáticas mas também pela irrigação, pelo índice de maturação dos frutos na colheita e ainda pelo método de processamento (Kiritsakis, 1998).

O perfil em ácidos gordos é a descrição de todos os ácidos gordos presentes num óleo (o azeite é um óleo com um perfil que se distingue de muitos óleos de semente). É precisamente a composição nos vários ácidos gordos presentes no óleo que é uma medida da qualidade deste sendo o teor de cada um destes ácidos gordos que determina as suas propriedades físicas e o seu valor nutricional. O perfil em ácidos gordos descreve a sua estrutura, isto é, se são saturados, monoinsaturados ou polinsaturados (Ayton *et al.*, 2012) sendo a relação MUFA:PUFA (ácidos gordos monoinsaturados/ácidos gordos polinsaturados) uma medida da tendência do azeite para a auto-oxidação em que a estabilidade oxidativa é maior para valores mais altos da relação, ou seja, maior proporção de monoinsaturados (Beltrán *et al.*, 2004; Henriques *et al.*, 2001).

2.1.2 Acilgliceróis

Os acilgliceróis, responsáveis pela viscosidade e densidade do azeite são os seus principais constituintes químicos (98%); são compostos lipídicos constituídos quimicamente por uma molécula de glicerol ligado a um ou mais ácidos gordos sendo chamados de mono, di ou triacilgliceróis consoante possuem um, dois ou três ácidos gordos na sua composição (Boskou, 1998; Servili e Montedoro, 2002).

O glicerol é um álcool com três carbonos e três grupos hidroxilo (-OH) que se pode combinar, por uma reação de esterificação (Figura 3), com um, dois ou três ácidos gordos para formar, respetivamente, os monoacilgliceróis, os diacilgliceróis, ou os triacilgliceróis. Os ácidos gordos podem combinar-se com qualquer um dos três grupos hidroxilo da molécula de glicerol formando uma grande diversidade de compostos.

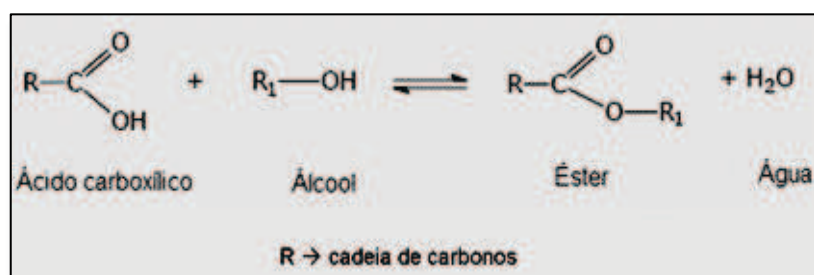


Figura 3 - Esquema geral da reação de esterificação.

Embora a composição do azeite em acilgliceróis seja constituída, essencialmente, por triacilgliceróis (cerca de 95%) estão também presentes no azeite os mono e os diacilgliceróis (que atuam fundamentalmente como emulsionantes), resultantes de hidrólise enzimática (lipases) e químicas (ácidas ou alcalinas) e de biossínteses

incompletas dos triacilgliceróis sendo, de uma forma geral, mais abundantes os diacilgliceróis que os monoacilgliceróis. As concentrações de diacilgliceróis num azeite virgem extra variam entre 1,0 e 2,8% e as de monoacilgliceróis são inferiores a 0,25% do total de acilgliceróis (Boskou *et al.*, 2006a; Faria *et al.*, 2002; Lehninger *et al.*, 1995; Moretto e Fett, 1998).

Nas figuras 4, 5 e 6 são apresentadas as estruturas químicas de acilgliceróis.

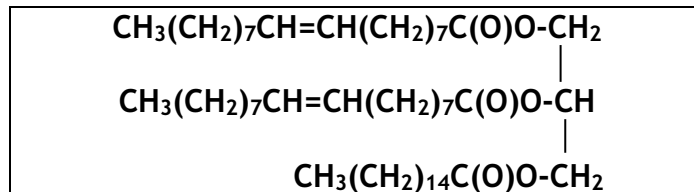


Figura 4 - Estrutura química de um triacilglicerol (OOP) com dois radicais de ácido oleico (C18:1) e um radical de ácido palmítico (C16:0) ligados ao glicerol.

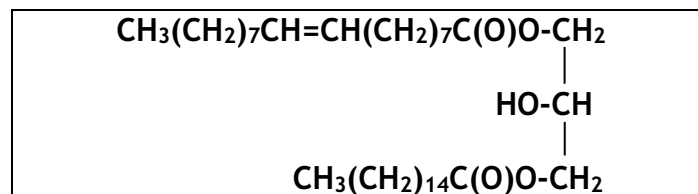


Figura 5 - Estrutura química de um 1,3-diacilglicerol com um radical de ácido oleico (C18:1) na posição 1 e um radical de ácido palmítico (C16:0) na posição 3 ligados ao glicerol.

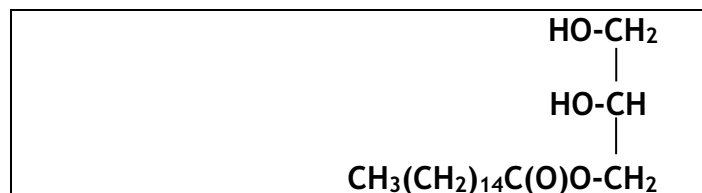


Figura 6 - Estrutura química de um 1-monoacilglicerol com um radical de ácido palmítico (C16:0) na posição 1 ligado ao glicerol.

2.1.3 Compostos fenólicos

2.1.3.1 Fenóis hidrofílicos

Os compostos fenólicos são uma mistura complexa de compostos, com diferentes estruturas químicas, relacionados com a estabilidade e com as propriedades do azeite virgem, como o sabor (Di Giovacchino *et al.*, 2002; Galeano Diaz Meras *et al.*, 2005).

No azeite virgem estão identificadas cinco classes de compostos fenólicos hidrofílicos: álcoois fenólicos (hidroxitiroso, tiroso e seus derivados), ácidos fenólicos, flavonóides (luteolina e apiginina), lignanos (pinoresinol e 1-

acetoxipinoresinol), e secoiridóides (oleuropeína e ligstrósido aglicona) (Servili e Montedoro, 2002; Boskou *et al.*, 2006b).

Os compostos hidroxitirosol (3,4-dihidroxifeniletanol ou 3,4-DHPEA) e o tirosol (p-hidroxifeniletanol ou p-HPEA) são os álcoois fenólicos mais abundantes no azeite virgem (Boskou *et al.*, 2006b). Segundo Montedoro *et al.* (1992) a sua concentração é baixa no início mas aumenta ao longo do tempo de armazenamento devido à hidrólise dos secoiridóides existentes no azeite virgem que contêm hidroxitirosol e tirosol na sua estrutura molecular.

Os ácidos fenólicos possuem uma estrutura química básica de C₆-C₁ (ácidos benzóicos - como os ácidos vanílico e sirínico) e C₆-C₃ (ácidos cinâmicos - como os ácidos cinâmico, p-cumárico e cafeico). Estes compostos foram o primeiro grupo de fenóis observados no azeite virgem (Montedoro, 1972; Roncero, 1978).

Os flavonoides, compostos fenólicos com um esqueleto de 15 átomos de carbono, são um grupo de fenóis bastante diversificado em termos estruturais, subdividido em várias classes, tais como as catequinas, as antocianinas, os flavonóis ou as flavononas, cuja atividade antioxidante advém da presença das estruturas fenólicas na sua constituição. A quantidade deste grupo fenólico no azeite virgem é bastante baixa estando presentes, sobretudo, as flavononas luteolina e apiginina (Rovellini *et al.*, 1997; Servili e Montedoro, 2002).

Os lignanos encontrados mais frequentemente no azeite virgem são o pinoresinol e o 1-acetopinoresinol. Este grupo de compostos fenólicos parece ser dos mais estáveis durante o armazenamento do azeite (Brenes *et al.*, 1999; Montedoro *et al.*, 1992).

Os secoiridóides são os compostos fenólicos presentes em maior quantidade no azeite virgem caracterizando-se pela presença do ácido elenólico ou de derivados deste na sua estrutura molecular (Diez e Adamos, 1997).

Os secoiridóides predominantes no azeite virgem são a forma dialdeídica do ácido elenólico ligado ao hidroxitirosol (3,4-DHPEA-EDA), o secoiridóide mais abundante no azeite virgem, um isómero da oleuropeína aglicona (3,4-DHPEA-EA), a forma dialdeídica do ácido elenólico ligado ao tirosol (p-HPEA-EDA) e um isómero do ligstrósido aglicona (p-HPEA-EA) (Gordon *et al.*, 2001; Montedoro *et al.*, 1992).

Estes fenóis hidrofílicos podem ser originados durante o esmagamento das azeitonas, por hidrólise da oleuropeína (Ol), da desmetiloleuropeína e do ligstrósido (Servili e Montedoro, 2002).

A concentração em compostos fenólicos difere entre azeites, geralmente com valores entre 100 e 300mg/kg havendo, no entanto, referência a uma gama mais ampla (50 - 1000 mg/kg) (Tsimidou, 1998). Estas diferenças na concentração total dos compostos fenólicos entre azeites estão relacionadas com fatores agronômicos e tecnológicos como a cultivar, as condições edafo-climáticas, o índice de maturação, a época de colheita e os processos de extração e de armazenamento do azeite (Di Giovacchino *et al.*, 2002; Galeano Diaz Meras *et al.*, 2005).

Não é fácil estabelecer a concentração dos fenóis individualmente devido à sua variabilidade natural, à grande dependência da idade do azeite e às circunstâncias após produção. Os fenóis livres encontram-se, sobretudo, nos azeites armazenados

enquanto que os azeites novos contém mais formas complexas de secoiridóides agliconas (Boskou *et al.*, 2006b).

Os compostos fenólicos são importantes para a estabilidade do azeite havendo uma boa correlação entre a estabilidade oxidativa e o teor em fenóis. A concentrações mais elevadas dos compostos fenólicos totais está associado um aumento do tempo de vida útil do azeite (Boskou *et al.*, 2006b; Gutierrez-Rosales e Arnaud, 2001; Monteleone *et al.*, 1998; Tsimidou *et al.*, 1992).

Têm sido estudados os compostos fenólicos do azeite, particularmente a oleuropeína e o hidroxitirosol, relativamente à sua capacidade para reduzir os estragos provocados pelo peróxido de hidrogénio e pelo ião peroxinitrato (Boskou *et al.*, 2006b). Alguns destes compostos podem inibir a oxidação no azeite virgem através de mecanismos como a remoção de radicais, a transferência de átomos de hidrogénio e a quelação dos metais (Decker *et al.*, 2005; Huang, *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005; Roginsky e Lissi, 2005).

Os compostos fenólicos, antioxidantes fundamentais do azeite virgem têm propriedades lipofílicas e hidrofílicas e são uma das bases da importância nutricional e do tempo de vida desta gordura vegetal podendo ser identificados como a principal fonte da atividade antioxidante e das propriedades sensoriais dos azeites virgens (Di Giovacchino *et al.*, 2002; Kiralan *et al.*, 2009; Kiritsakis, 1998; Salvador *et al.*, 2003).

2.1.3.2 Fenóis lipofílicos

Os fenóis lipofílicos – tocoferóis e tocotrienóis - são, a par com os fenóis hidrofílicos, os mais importantes antioxidantes presentes no azeite virgem extra. O α -tocoferol representa 95 % do total de tocoferóis (Beltrán *et al.*, 2010).

A quantidade de tocoferol (vitamina E) presente no azeite virgem depende da cultivar, de fatores agronómicos e tecnológicos (Deiana *et al.*, 2002). O teor de tocoferóis é importante do ponto de vista nutricional e do contributo para o tempo de vida do azeite virgem obtido a partir de azeitonas da cultivar “Galega” (Peres *et al.*, 2010). Ayton *et al.* (2012) também refere que o teor de tocoferóis protege os lípidos da auto-oxidação aumentando o tempo de armazenamento destes.

Na Tabela 2 pode-se comparar a concentração dos diferentes tocoferóis presentes no azeite.

Tabela 2 - Quantidade (mg/100 g) de tocoferóis no azeite virgem.

	α -tocoferol	β -tocoferol	γ -tocoferol	δ -tocoferol
Azeite	9,0	0,2	0,5	0,04

Fonte: Adaptado de Boskou, 1998.

Os diferentes tocoferóis diferem entre si apenas no número e na posição dos grupos metilo no anel aromático (Figura 7) e a sua atividade depende de fatores como o meio, a temperatura e a presença de metais pesados, caso em que os tocoferóis apresentam atividade pró-oxidante (Coultate, 1984).

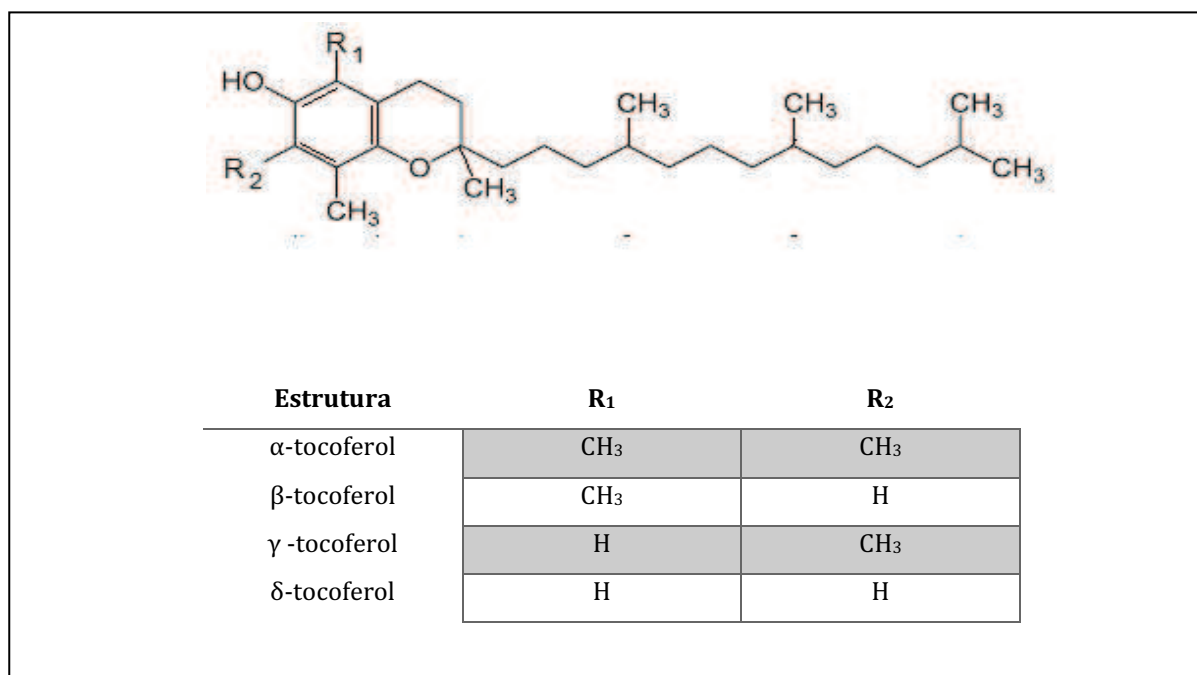


Figura 7 - Estrutura química dos tocoferóis presentes no azeite virgem.

O α-tocoferol, o tocoferol completamente metilado, é o que está presente em maior quantidade na natureza e que apresenta maior poder antioxidante a nível biológico. No entanto, no azeite virgem (e nos óleos em geral) a atividade do tocoferol aumenta na seguinte ordem: α-tocoferol < β-tocoferol < γ-tocoferol < δ-tocoferol (Burton e Ingold, 1986; Sheppard *et al.*, 1993).

2.1.4 Pigmentos

Os pigmentos do azeite são de dois tipos: clorofilas e carotenóides (Boskou, 1998). A coloração verde do azeite deve-se às clorofilas a e b e aos seus produtos de oxidação, as feofitinas a e b. Os carotenóides (luteína, β-caroteno, violaxantina e neoxantina), quimicamente chamados de terpenos são derivados do ácido mevalónico, e responsáveis pela cor amarelada dos azeites. A proporção entre carotenos e clorofila define a tonalidade do azeite (Lopez-Villalta, 2008).

A quantidade de pigmentos é influenciada pela cultivar e pelo índice de maturação (Conceição *et al.*, 2009), pelo local de produção, pelo sistema de extração e pelas condições de armazenamento. Para Ayton *et al.* (2012) a clorofila e os carotenoides são alguns dos muitos pigmentos que estão relacionados com a cor do azeite e, dado a natureza complexa destes compostos e a sua interação com as condições de armazenamento do azeite é necessária mais investigação que permita entender o mecanismo da mudança de cor.

Os pigmentos estão envolvidos em mecanismos de auto-oxidação e foto-oxidação e tanto as clorofilas como os carotenóides têm natureza antioxidante no escuro e pro-oxidante à luz (Boskou, 1998; Henriques *et al.*, 2001). Na ausência de luz, as clorofilas e as feofitinas a e b apresentam uma atividade antioxidante semelhante à dos

compostos fenólicos. Na presença de luz, os pigmentos clorofilinos ativam o oxigénio para o estado singlete o que permite a foto-oxidação ou a adição de oxigénio às moléculas de ácidos gordos. Como a foto-oxidação é mais rápida que a auto-oxidação associa-se a presença de clorofilas a um efeito pro-oxidante. Por outro lado, o β -caroteno, do importante grupo dos carotenoides, é um inibidor do oxigénio singlete e, por conseguinte, um retardador do processo de foto-oxidação apresentando também vantagens ao nível do organismo humano, pelo que se considera benéfica a sua presença no azeite virgem (Henriques *et al.*, 2001).

2.1.5 Compostos voláteis

A qualidade sensorial do azeite virgem é descrita, principalmente, em função dos compostos voláteis cuja enumeração detalhada foi reportada, recentemente, por Aparicio, Morales, e Garcia-Gonzalez, (2012), sendo que cerca de 108 compostos são tidos como responsáveis pelo aroma do azeite virgem (Angerosa, 2002; Del Barrio, Gutierrez & Gutierrez, 1981; Morales *et al.*, 1994; Morales *et al.*, 2005; Olias *et al.*, 1977; Procida *et al.*, 2005).

Por seu turno, foram já determinados nos azeites cerca de 280 compostos voláteis, dos quais mais de 80 são hidrocarbonetos, 45 são álcoois, 44 são aldeídos, 26 são cetonas, 13 são ácidos, 55 são ésteres, 5 são éteres, 5 são derivados de furano, 5 são derivados de tiofeno, 1 são piranonas, 1 são tióis e também 1 composto de pirazina (Boskou *et al.*, 2006b).

No caso dos azeites “Galega vulgar” e “Cobrançosa” as principais classes de compostos voláteis encontrados foram aldeídos, esterres, álcoois, cetonas, hidrocarbonetos e ácidos (Peres, 2015) conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Classes de compostos voláteis (%) presentes no azeite virgem de “Galega vulgar” e de “Cobrançosa”.

	“Galega vulgar”	“Cobrançosa”
Aldeídos	54	50
Ésteres	22	20
Cetonas	9	14
Álcoois	9	13
Ácidos	4	2
Outros	2	1

Fonte: Adaptado de Peres, 2015.

Os compostos voláteis não contribuem de uma forma proporcional para o cheiro do azeite e os que apresentam uma concentração mais elevada não são necessariamente os que contribuem mais para esta característica (Baccouri *et al.*, 2008). Em geral, os compostos que influenciam a qualidade sensorial dependem da sua concentração e do seu limiar de percepção (Belitz *et al.*, 2004).

A formação dos compostos voláteis ocorre, essencialmente, nos cloroplastos durante a moenda da azeitona por ação das enzimas da via da lipoxigenase incorporando-se na fase líquida da massa das azeitonas durante o processo de termobatedura (Gouveia, 1995). Do ponto de vista quantitativo e a partir da via da lipoxigenase os compostos predominantes que se formam são aldeídos lineares saturados e insaturados em C6 (Angerosa *et al.*, 2004). O armazenamento das azeitonas antes da extração e do azeite antes de chegar ao consumidor modifica a composição volátil.

2.1.6 Outros

Outros compostos presentes na composição química do azeite virgem que se podem referir são os ácidos gordos livres, os fosfolípidos, os esteróis, os álcoois triterpénicos, as ceras, os álcoois alifáticos e os hidrocarbonetos (Kiritsakis, 1992; Boskou, 1998).

Os ácidos gordos na forma livre resultam da reação de enzimas presentes nas azeitonas, as lipases, com os triacilgliceróis provocando a sua hidrólise. Estas reações, que ocorrem quando as azeitonas não estão completamente sãs e/ou o seu tempo de armazenamento é muito prolongado, levam a um aumento da acidez livre do azeite afetando negativamente a sua qualidade (Ayton *et al.*, 2012).

Os fosfolípidos são lípidos que contêm um grupo fosfato, incluindo os fosfoacilgliceróis, sendo o ácido oleico o ácido gordo predominante na sua estrutura. O padrão de ácidos gordos dos fosfolípidos é semelhante ao dos triacilgliceróis. Estão referenciados como tendo atividade antioxidante embora o seu teor no azeite seja baixo (Kiritsakis, 1992; Boskou, 1998).

Os esteróis são álcoois gordos, cíclicos e neutros, com estrutura cristalina e ponto de fusão elevado, sintetizados a partir do esqualeno no citoplasma das células da azeitona podendo apresentar-se na forma livre ou esterificados com ácidos gordos. As formas esterificadas representam cerca de 10 a 15% dos esteróis totais, cujo valor normal no azeite varia entre 1000 a 2200 mg/kg de azeite. Os esteróis são compostos essenciais para a asserção da qualidade e genuidade do azeite sendo o β -sitosterol, o Δ -5-avenasterol, o campesterol e o estigmasterol os maioritários. Destes, o β -sitosterol é o predominante com 70 a 90% do teor total de esteróis. Embora em quantidades muito menores, podem ser encontrados no azeite outros esteróis, caso do colesterol, do campestanol, do Δ -7-campestenol, do clerosterol, do Δ -5,24-estigmastadienol, do Δ -7-estigmastenol e do Δ -7-avenasterol (Boskou, 1998).

Nos álcoois triterpénicos destacam-se o eritrodiol e o uvaol, dióis triterpénicos constituídos por cinco anéis hexagonais, que provêm, sobretudo, do epicarpo das azeitonas. Estão presentes em pequenas quantidades nos azeites virgens mas em quantidades muito maiores nos óleos refinados, devido à sua relativa insolubilidade nos lípidos (Henriques *et al.*, 2009).

O esqualeno, hidrocarboneto terpénico muito característico da fração insaponificável do azeite, pode representar até 40% desta fração minoritária e é um precursor bioquímico dos esteróis (Lopez-Villalta, 2008).

Os principais álcoois alifáticos lineares presentes no azeite são o hexacosanol, o octacosanol e o tetracosanol. Estes álcoois têm um número par de átomos de carbono, entre 18 e 28 e, quando esterificados com os ácidos gordos, originam a formação de ceras. Por isso, as ceras são ésteres de álcoois alifáticos de cadeia longa com ácidos gordos, provenientes do tegumento da semente e do epicarpo da azeitona, sendo as principais ceras detetadas no azeite ésteres C-36, C-38, C-40, C-42, C-44 e C-46 (Boskou, 1998; Lopez-Villalta, 2008).

2.2 Alterações do azeite virgem

O azeite virgem, o sumo obtido do mesocarpo da azeitona é, geralmente, um produto de elevada qualidade mas que pode apresentar defeitos de natureza sensorial. As causas para estes defeitos sensoriais, ao longo do processo de produção do azeite virgem não estão, por vezes, bem conhecidos. Estas causas dependem da degradação física, química ou microbiana que afeta o produto (Cayuela *et al.*, 2015).

Vários fatores influenciam a qualidade do azeite virgem, nomeadamente, a cultivar, o índice de maturação dos frutos na colheita, as condições ambientais, as práticas culturais e as condições de extração e armazenamento do azeite. Para Manai *et al.*, (2008) a variedade da azeitona assume particular importância na qualidade e nas características sensoriais do azeite virgem. Esta importância reside no facto de as enzimas envolvidas na via da lipoxigenase limitarem a produção dos compostos responsáveis pelo *flavour* determinando, assim, a qualidade sensorial do azeite virgem. Para outros autores o fator ambiental pode ser, por vezes, mais importante que o fator genético no que diz respeito à composição química que determina a qualidade do azeite virgem monovarietal (Beltrán *et al.*, 2005; Criado *et al.*, 2008).

2.2.1 Lipolíticas

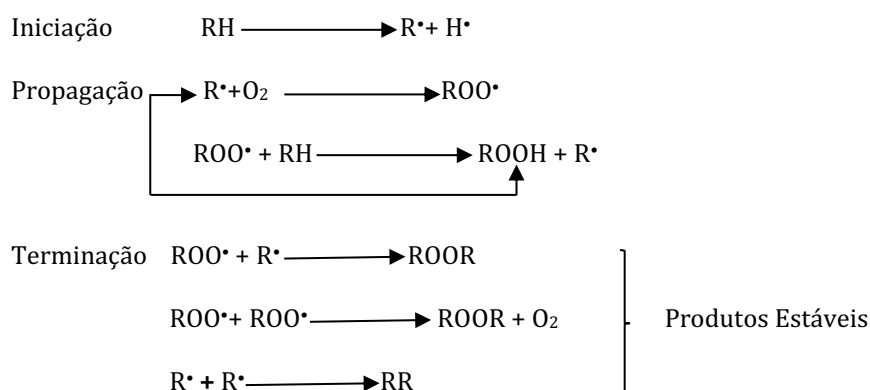
Os dois principais processos que contribuem para a perda de qualidade do azeite, afetando, negativamente, a sua composição e as suas características organolépticas são a lipólise e a oxidação. A lipólise é uma reação de hidrólise dos triacilgliceróis em diacilgliceróis e monoacilgliceróis que se traduz no aumento do grau de acidez do azeite, devido à produção de ácidos gordos livres. Para além disso, podem ser libertados ácidos gordos insaturados que ficam disponíveis para as reações de oxidação. A humidade e a temperatura são dois dos principais fatores que contribuem para as reações de hidrólise. A lipólise começa nas azeitonas quando estas amadurecem e pode ter origem microbiana, provocada por microrganismos com atividade lipolítica, ou enzimática, resultante da ação das lipases, enzimas naturais presentes nas azeitonas (Ayton *et al.* 2012; Kiritsakis, 1992).

2.2.2 Oxidativas

A oxidação é considerada uma das reações fundamentais na química dos lípidos sendo um dos principais fatores da deterioração da qualidade dos azeites virgens. Esta reação começa com o chamado período de indução, ou seja, um período inicial lento a que se segue uma rápida aceleração de oxidação lipídica. A evolução da oxidação dos lípidos ao longo do tempo pode ser avaliada através da formação dos produtos primários, secundários e terciários resultantes desta reação. Os hidroperóxidos são considerados os produtos primários da oxidação lipídica e a quantificação dos peróxidos é o método geralmente usado para avaliar a deterioração dos azeites virgens. Ao mesmo tempo que se formam os hidroperóxidos também há o aparecimento de dienos conjugados resultantes do deslocamento das duplas ligações dos ácidos gordos polinsaturados. A instabilidade dos hidroperóxidos leva a que estes se decomponham formando-se vários produtos secundários de que os aldeídos e as cetonas são os mais importantes. São estes compostos, e não os hidroperóxidos, os responsáveis pelo defeito sensorial a ranço (Farhoosh e Hoseini-Yazdi, 2014).

A oxidação é também responsável pela destruição de ácidos gordos essenciais, tais como o linoleico e o linolénico, e perda de vitaminas lipossolúveis. A deterioração oxidativa pode seguir vias enzimáticas e/ou químicas e é um processo complexo influenciado por vários fatores, como a exposição do azeite ao oxigénio atmosférico, à luz, ou à temperatura, como a presença de enzimas e o contato com ligas metálicas não inertes sendo a oxidação enzimática, a foto-oxidação e a auto-oxidação considerados os três principais processos de oxidação do azeite (Lopez-Villalta, 2008). No entanto, estes processos ocorrem sempre através do mesmo mecanismo - reações em cadeia produzindo radicais livres (auto-oxidação); por terem a capacidade de absorver esses radicais livres, os antioxidantes naturais do azeite retardam o fenómeno da auto-oxidação (Kiritsakis, 1998).

O mecanismo de auto-oxidação realiza-se em três etapas: iniciação, propagação e terminação (Figura 8).



RH - Ácido gordo insaturado; R^\bullet - Radical livre; ROO^\bullet - Radical peróxido; ROOH - Hidroperóxido

Figura 8 - Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica.

A etapa de iniciação aparece quando há perda de um átomo de hidrogénio pelos ácidos gordos insaturados formando-se radicais livres, numa reação que é catalisada pelo oxigénio atmosférico e em que a luz e o calor também exercem uma ação catalisadora. Seguidamente, na chamada etapa de propagação, estes radicais livres reagem com o oxigénio formando radicais peróxido que vão reagir com outros ácidos gordos insaturados originando hidroperóxidos (os hidroperóxidos são compostos muito instáveis e reativos que, por ação da luz e do calor ou ainda pela presença de catalisadores metálicos, se decompõem rapidamente) e mais radicais livres que vão alimentar uma cadeia de reações que só parará quando forem consumidos todos os ácidos gordos e/ou todos os radicais livres se inativarem uns aos outros. Por fim, na etapa de terminação ocorre a formação de produtos monoradicaís estáveis, nomeadamente os produtos da oxidação secundária tais como álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos epóxidos e ainda oxiacidos e oxipolímeros. Estes produtos são os responsáveis pelo aparecimento do odor e sabor a ranço e pela alteração de cor do azeite. (Gouveia, 1995; Hamilton e Allen, 1999).

A foto-oxidação ocorre quando o azeite é exposto à luz, natural ou artificial. Esta exposição a fontes de luz acelera o processo de deterioração do azeite. O processo da foto-oxidação envolve reações radicalares com formação de hidroperóxidos que após se degradarem dão origem a aldeídos, álcoois e hidrocarbonetos. No entanto, estes hidroperóxidos são diferentes dos que se formam na ausência de luz (Ayton *et al.* 2012; Lopez-Villalta, 2008; Kiritsakis, 1998).

2.2.3 Microbianas/enzimáticas

Os microrganismos são responsáveis pela maioria dos defeitos sensoriais encontrados nos azeites. Não obstante, salvo alguns estudos relacionados com a biogénese dos compostos responsáveis por estes defeitos, a pesquisa microbiológica na produção de azeite, desde o pós-colheita da azeitona até ao armazenamento, é escassa (Cayuela *et al.*, 2015).

Segundo Morales e Przybylski (2000) as principais enzimas presentes no azeite virgem são a lipoxigenase e a cicloxigenase que podem provocar a oxidação dos ácidos gordos insaturados sendo a oxidação enzimática responsável quer pelo aparecimento de *off-flavours* quer pela formação de compostos do *flavour* desejado.

A lipoxigenase catalisa a oxidação de alguns ácidos gordos insaturados nos correspondentes hidroperóxidos, de estrutura idêntica aos obtidos na auto-oxidação mas as reações catalisadas por esta enzima têm as características da catálise enzimática (especificidade do substrato; seletividade da peroxidação; pH ótimo; suscetibilidade ao aquecimento; suscetibilidade a uma velocidade de reação elevada numa temperatura entre 0-20°C). A lipoxigenase que oxida especificamente os ácidos gordos com a estrutura 1-*cis*-4-*cis*-pentadieno não oxida o ácido oleico preferindo os ácidos linoleico e linolénico. Os radicais livres intermediários produzidos neste mecanismo enzimático podem levar à co-oxidação de compostos facilmente oxidáveis como os carotenóides e os compostos fenólicos (Belitz *et al.*, 2004).

3. Fatores internos de oxidação do azeite

Diversos compostos químicos no azeite podem influenciar a sua oxidação e, consequentemente, o seu tempo de vida. A Tabela 4 resume o efeito do tempo de prateleira em alguns compostos químicos do azeite.

Tabela 4: Compostos químicos do azeite que influenciam o tempo de prateleira.

Composto químico	Efeito no tempo de vida (TV)
Ácidos gordos	Teores elevados de ácidos gordos polinsaturados diminuem o TV; teores elevados de ácidos gordos saturados prolongam a vida útil
Ácidos gordos livres	Promovem a oxidação e diminuem o TV
Peróxidos	Teores elevados de peróxidos diminuem o TV
Metais	Promovem a oxidação e diminuem o TV
Oxigénio	Promove a oxidação e diminui o TV
Água	Promove a oxidação e diminui o TV
Compostos fenólicos	Aumentam a vida útil

Fonte: Adaptado de Wang *et al.*, 2014.

3.1 Ácidos gordos

A estabilidade oxidativa do azeite pode ser definida como a resistência dos lípidos à oxidação (Gómez-Alonso *et al.*, 2004) e depende de vários fatores tais como a cultivar utilizada, o índice de maturação, o estado sanitário dos frutos, a relação MUFA:PUFA, o teor em antioxidantes naturais, o sistema de extração de azeite e as condições de armazenamento (Dıraman e Dibeklioglu, 2009).

Os resultados obtidos por Maia (2014) na determinação da estabilidade oxidativa de azeites monovarietais permitem comprovar o efeito da composição em ácidos gordos mono e polinsaturados, da relação ácido oleico/ácido linoleico e do teor em fenóis totais. Na verdade, a estabilidade oxidativa do azeite resulta da existência, na sua composição química, de antioxidantes naturais e da elevada concentração de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), principalmente em ácido oleico, relativamente à concentração em ácidos gordos polinsaturados (PUFA). A relação MUFA:PUFA pode assim constituir uma medida da tendência do azeite para a auto-oxidação em que a estabilidade oxidativa é maior para valores mais altos da relação, ou seja, menor proporção de PUFA (Farhoosh e Hoseini -Yazdi, 2014).

3.2 Antioxidantes

Relativamente aos antioxidantes naturais, o azeite apresenta quantidades significativas de compostos fenólicos. Estes compostos são responsáveis pelo amargo (Beltrán *et al.*, 2007) e, para além de apresentarem benefícios para a saúde (Paiva-Martins *et al.* 2012) contribuem para a resistência do azeite à auto-oxidação (Beltrán *et al.*, 2007). Os compostos fenólicos de natureza hidrofílica proporcionam ao azeite

características únicas, uma vez que não se encontram em qualquer outro óleo vegetal (Boskou, 1998). São considerados os principais antioxidantes num azeite virgem, tendo a capacidade de doar um átomo de hidrogénio a um radical lipídico, formado na auto-oxidação (Morelló *et al.*, 2004). Azeites obtidos a partir de azeitonas menos maduras têm um maior teor fenólico que os obtidos de azeitonas mais maduras estando a estabilidade oxidativa do azeite relacionada com o grau de maturação do fruto (Ayton *et al.* 2012).

A oleuropeína, o hidroxitirosol (3,4-dihidroxifenil etanol) e o tirosol são os compostos fenólicos com a concentração mais elevada no azeite mas estão presentes na sua composição muitos outros como os ácidos cafeico, vanílico, siríngico, *p*-cumárico, *o*-cumárico, protocatéquico, sinápico, *p*-hidroxibenzóico, *p*-hidroxifenilacético e homovanílico (Boskou, 1998).

Os tocoferóis, compostos fenólicos lipofílicos, são importantes pelas suas propriedades antioxidantes pois defendem da oxidação os componentes lipídicos do azeite. Enquanto os compostos fenólicos hidrofílicos apenas existem em azeites não refinados, os tocoferóis estão presentes em todas as gorduras e óleos, sejam ou não refinados.

O teor de compostos fenólicos num azeite depende de fatores como: a cultivar, o solo, o clima, a irrigação, o grau de maturação, o sistema de extração e as condições de processamento, o embalamento e o armazenamento. (Boskou *et al.*, 2006a; Allalout *et al.*, 2009).

Outros antioxidantes naturais são os pigmentos do azeite: as clorofilas e os carotenóides (Boskou, 1998). A coloração verde do azeite deve-se às clorofilas a e b; quando expostas ao aquecimento ou com o passar do tempo a estrutura destes pigmentos sofre alterações oxidativas cujos produtos são as feofitinas a e b que, por último, se convertem em pirofeofitinas. Os carotenóides (luteína, β -caroteno, violaxantina e neoxantina), quimicamente chamados de terpenos são derivados do ácido mevalónico, e responsáveis pela cor amarelada dos azeites. A quantidade de pigmentos é influenciada pela cultivar, pelo índice de maturação, pelo local de produção, pelo sistema de extração e pelas condições de armazenamento. Os pigmentos também estão envolvidos em mecanismos de auto-oxidação e foto-oxidação e tanto as clorofilas como os carotenóides têm natureza antioxidante no escuro e pró-oxidante à luz (Ayton *et al.* 2012; Boskou, 1998).

3.3 Presença de pró-oxidantes

A existência no azeite virgem de uma percentagem elevada de triacilgliceróis constituídos por ácido oleico e de antioxidantes naturais como os polifenóis e os tocoferóis, contribuem para retardar ou atenuar os processos oxidativos do azeite. No entanto, existem fatores que potenciam os fenómenos oxidativos. A exposição à luz, a presença de oxigénio, o calor e o contato do azeite com metais, sejam estes da

maquinaria ou dos depósitos, traduzem-se no aumento da velocidade de oxidação e na alteração da qualidade do azeite (Lopez-Villalta, 2008).

4. Fatores externos de oxidação do azeite

A qualidade de um azeite virgem depende da combinação de fatores ambientais (clima e solo), genéticos (variedade da azeitona) e agronómicos (técnicas de cultivo) para além das condições de transformação da azeitona e de armazenamento do azeite no lagar.

A oxidação do azeite é influenciada por vários fatores externos ao longo de toda a fileira do azeite, isto é, desde o olival até ao azeite embalado.

4.1 Produção e colheita da azeitona

A oxidação/lipólise enzimática pode começar logo na azeitona, nos frutos afetados por pragas e doenças e nos frutos feridos ou magoados, quer no seu desenvolvimento, quer por ação da colheita (Figura 9), transporte e/ou armazenamento. As enzimas deste processo oxidativo encontram-se nas próprias azeitonas onde a formação de pequenas quantidades de hidroperóxidos pode vir a ter um efeito acelerador da oxidação do azeite.



Figura 9 - Pormenor de colheita de azeitona.
Herdade da Tojeira - Vila Velha de Ródão

Fonte: Fotografia do autor

4.2 Transformação da azeitona

Também na transformação, isto é, nas várias etapas que decorrem no lagar (Figura 10) se verificam condições que podem influenciar o grau de oxidação do azeite. Por

isso, é necessário evitar o mais possível a exposição à luz, ao ar, a temperaturas altas e a materiais pró-oxidantes (Lopez-Villalta, 2008).



Figura 10 - Lagar de azeite de sistema tradicional.
Herdade da Tojeira - Vila Velha de Ródão

Fonte: Fotografia cedida por Miguel Passos

4.3 Armazenamento do azeite

O armazenamento do azeite de forma correta é fundamental para “atrasar” a oxidação deste, preservando as suas características pelo maior tempo possível, ou seja, aumentando o seu tempo de vida. Por isso, o azeite deve ser armazenado em depósitos de material inerte, caso do inox (Figura 11) ou da resina epóxi (Figura 12), de preferência usando um gás inerte, como o azoto, para remover o oxigénio (Ayton *et al.*, 2012), e estar ao abrigo da luz e a uma temperatura na ordem dos 18°C. As transfegas são importantes para separar o azeite da borra que se vai precipitando no fundo do depósito. No entanto, o processo de transfega é desaconselhável por aumentar o contato do azeite com o oxigénio, razão pela qual é preferível retirar a borra pela parte inferior do depósito mantendo o azeite no mesmo local (Maia, 2014; Pires, 2005; Santos, 2009).

Durante o armazenamento do azeite os compostos voláteis tornam-se menos dominantes e vão surgindo novos compostos voláteis resultantes de reações de oxidação.



Figura 11 - Depósito de azeite em inox.



Figura 12 - Depósitos de azeite revestidos a resina epóxi.

Lagar de azeite da Tapada da Tojeira.

Fonte: Fotografias do autor.

4.4 Embalagem do azeite

Por último, temos a importância do tipo de embalagem final (Figura 13). Segundo Botti e Anjos (2013), o material mais adequado para a preservação do azeite é o vidro escuro, com *headspace* mínimo, em ambiente de pouca luminosidade e a temperaturas inferiores a 22 °C.

Em relação ao tipo de embalagem e às condições de armazenamento na qualidade do azeite é vasto o trabalho já efetuado (Ayton *et al.*, 2012; Gómez-Alonso *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2014; Kassouf *et al.*, 2014; Krichene *et al.*, 2010; Méndez e Falqué, 2007; Morelló *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2014), no entanto, nenhum destes estudos refere o sistema de fecho. Para que não ocorra oxidação no produto final é necessário que a embalagem e o respetivo sistema de fecho não permitam a oxidação do azeite no período de armazenamento.

Em suma, em todas estas fases do processo de fabrico do azeite importa prevenir ou reduzir os fatores potenciadores das reações de oxidação recorrendo às técnicas e procedimentos mais corretos.



Figura 13 - Embalagens de azeite na *Olive Oil Award* - Biofach 2017.

Fonte: Fotografia do autor

5. Material e métodos

5.1 Amostragem e delineamento experimental

Foi o objetivo deste estudo comparar o comportamento de um azeite virgem extra ao longo do tempo, tendo sido as amostras sujeitas às mesmas condições de preparação e conservação mas vedadas com três tipos diferentes de cápsula.

O azeite virgem extra utilizado foi produzido na segunda semana de novembro de 2014 a partir de azeitonas das variedades “Galega vulgar” e “Cobrançosa” na proporção 1:1. Os quatro garrafões de azeite de 5 L, DOP “Beira Interior”, foram adquiridos num lagar de azeite do concelho de Castelo Branco e faziam parte do mesmo lote de azeite “Galega vulgar” e “Cobrançosa” premiado no Concurso Mario Solinas na categoria de frutado maduro.

A avaliação química e sensorial foi efetuada no Laboratório de Tecnologia Alimentar da ESACB (Figura 14) no momento da implementação do ensaio, ao final de 5 e de 10 meses, em triplicado para cada análise mas com duas unidades experimentais (garrafa) para cada modalidade.

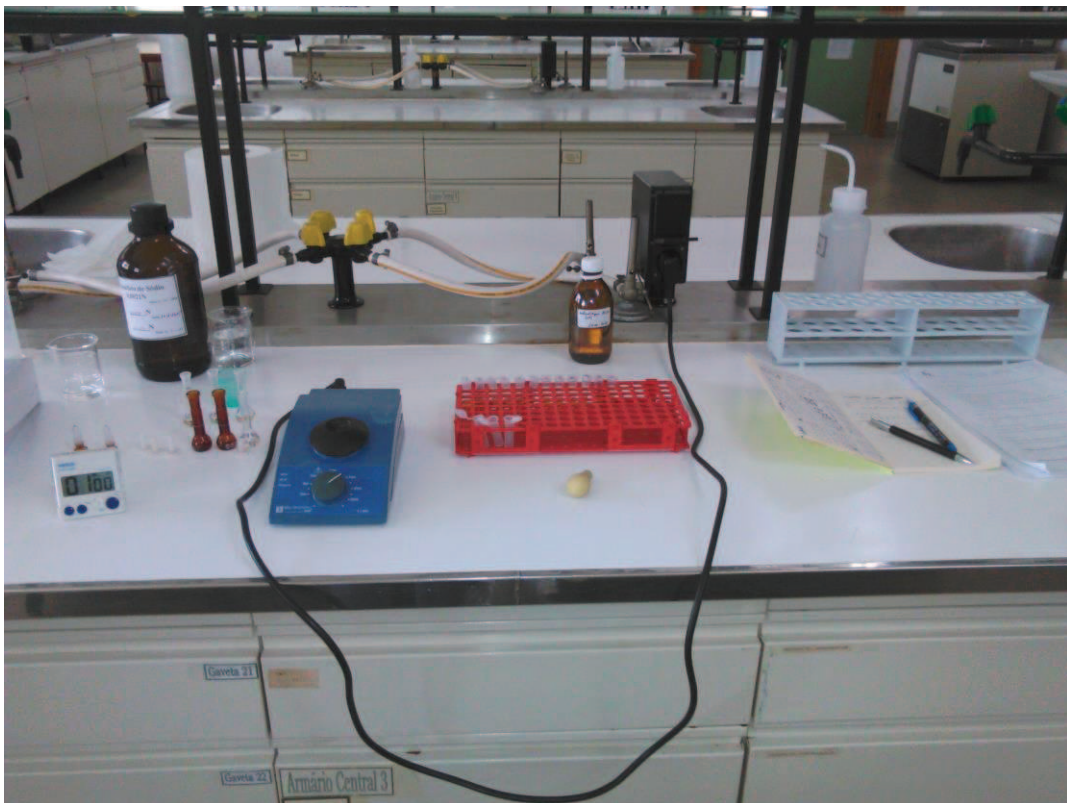


Figura 14 - Pormenor do ensaio no Laboratório de Tecnologia Alimentar da ESACB.

Fonte: Fotografia do autor

A partir destes garrafões encheram-se 36 garrafas de vidro escuro do tipo marasca 0,5 L (Figura 15) que foram vedadas de forma alternada (por causa do tempo de

exposição ao ar) com os diferentes tipos de cápsula tendo-se obtido as diferentes unidades experimentais com a seguinte distribuição e respetivos códigos:

- 12 garrafas com cápsula metálica (C);
- 12 garrafas com rolha de cortiça revestida com cera de abelha (R);
- 12 garrafas com rolha de cortiça natural com cápsula bartop (RC).

As amostras foram preparadas no dia 13/03/2015 e colocadas de imediato na estufa, ao abrigo da luz e a temperatura controlada. A estufa foi regulada para 22 °C por se ter considerado que este valor corresponde à temperatura média mais comum a que as embalagens de azeite estão sujeitas nos pontos de venda.



Figura 15 - Apresentação das diferentes unidades experimentais.

Fonte: Fotografias cedidas por Prof. Ofélia dos Anjos

5.2 Métodos

Os métodos analíticos utilizados na medição dos vários parâmetros do ensaio e a respetiva referência são os indicados na Tabela 5.

Tabela 5 - Métodos utilizados na determinação dos diferentes parâmetros.

Parâmetro	Método	Referência
Acidez	Volumetria (titulação ácido-base)	Reg. (UE) N ^o 1348/2013, AnexoII
Índice de peróxido	Volumetria (titulação redox)	Reg. (UE) N ^o 1348/2013, Anexo III
Espectrometria no UV	Espectroscopia no ultravioleta	Reg. (UE) N ^o 1348/2013, Anexo IX
Exame organoléptico	Painel de provadores treinado	Reg. (UE) N ^o 334/2013, Anexo XII
Composição em ácidos gordos	Cromatografia gasosa (GC-FID)	Reg. (UE) N ^o 1348/2013 Anexo XA
Composição em triacilgliceróis	Cromatografia líquida (HPLC-IR)	Reg. (UE) N ^o 1348/2013 Anexo XVIII
Fenóis totais	Espectroscopia VIS	Pizarro <i>et al.</i> , 2013
Tocoferóis	Cromatografia líquida (HPLC-FLD)	Peres <i>et al.</i> , 2016
Pigmentos clorofilinos	Espectroscopia VIS	Pokorny <i>et al.</i> , 1995
Humidade e matérias voláteis	Estufa 103-105°C	COI/OH/Doc. N ^o 1, 2011
Estabilidade oxidativa	Rancimat, T=120°C; 20 L/h	ISO 6886:2006
K ₂₂₅	Espectroscopia no ultravioleta	Gutierrez-Rosalez <i>et al.</i> , 1992

5.3 Tratamento de dados

O tratamento estatístico dos resultados obtidos foi efetuado através do programa Statistic da StatSoft versão 7. Foi efetuada uma análise de variância considerando os dois fatores em estudo (tipo de fecho e tempo de embalagem), a interação entre eles e o cálculo da percentagem de variação correspondente a cada um. Sempre que um dos fatores apresentou variância significativa, executou-se um teste de comparação de médias (teste de Scheffe) para um nível de significância de $\alpha=0,05$.

Para os resultados da ANOVA foram considerados os diferentes níveis de significância em função do valor de p: *** - altamente significativo para $p<0,001$; ** - muito significativo para $p<0,01$; * - significativo para $p<0,05$; n.s. - não significativo para $p>0,05$).

Foi ainda efetuada a análise de componentes principais com recurso ao programa estatístico Statistic da StatSoft versão 7 de modo a estudar a relação entre variáveis e entre unidades amostrais.

6. Resultados e discussão

6.1 Caracterização do Lote de Azeite Base do Ensaio

6.1.1 Triacilgliceróis e ácidos gordos

Na Tabela 6 são apresentados os valores da composição em triacilgliceróis no azeite base do ensaio, no momento inicial. Estes valores estão dentro dos intervalos legais para os azeites virgem extra e de acordo com os valores reportados na literatura (Vaz-Freire *et al.*, 2008).

Tabela 6 - Composição em triacilgliceróis (%) do lote de azeite base do ensaio (Média \pm desvio padrão).

Triacilgliceróis (%)	Início
LLL	0,178 \pm 0,007
OLLn + PoLL	0,049 \pm 0,009
PLLn	0,064 \pm 0,002
OLL	1,391 \pm 0,062
OOLn + PoOL	1,509 \pm 0,099
PLL + PoPoO	0,582 \pm 0,092
POLn + PPOPo + PPOl	0,852 \pm 0,032
OOL + LnPP	9,805 \pm 0,093
PoOO	2,850 \pm 0,028
ELL + PLO	5,709 \pm 0,023
PoOP + EPoL + EOLn + EPoPo	1,610 \pm 0,023
(PLP) + (OOO + PLP + PoPP)	38,082 \pm 0,078
(EOL) + (POO)	27,212 \pm 0,183
POP	4,060 \pm 0,067
EOO	4,501 \pm 0,431
POE + ELE	1,546 \pm 0,431

Na Tabela 7 são apresentados os valores da composição química em ácidos gordos no azeite base do ensaio, no momento inicial. Verifica-se que estes valores estão dentro dos limites definidos no Regulamento (UE) nº1348/2013 de 16 de Dezembro que determina o teor, em percentagem, para os azeites virgem extra e de acordo com os valores referidos na literatura (Farhoosh e Hoseini-Yazdi, 2014; Peres *et al.*, 2013).

A proporção MUFA:PUFA que é uma medida da tendência do azeite para a auto-oxidação (Beltran *et al.*, 2004) apresenta um valor, significativamente alto (8,72) traduzindo-se numa elevada estabilidade oxidativa do azeite em análise.

Tabela 7 - Ácidos gordos (%) componentes do lote de azeite base do ensaio (Média \pm desvio padrão).

Ácidos Gordos	Início
Ácido Mirístico (C14:0)	0,01 \pm 0,00
Ácido Palmítico (C16:0)	14,56 \pm 0,13
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,73 \pm 0,01
Ácido Margárico (C17:0)	0,12 \pm 0,00
Ácido Margaroleico C17:1	0,24 \pm 0,00
Ácido Esteárico (C18:0)	3,17 \pm 0,25
Ácido Oleico (C18:1)	70,88 \pm 0,06
Ácido Linoleico C18:2)	7,54 \pm 0,02
Ácido Linolénico (C18:3)	0,85 \pm 0,00
Ácido Araquídico (C20:0)	0,43 \pm 0,00
Ácido Araquidónico (C20:1)	0,24 \pm 0,00
Ácido Beénico (C22:0)	0,13 \pm 0,01
Ácido Erúcido (C22:1)	0,00 \pm 0,00
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,06 \pm 0,00
Ácidos gordos mono insaturados (MUFA)	73,19 \pm 0,01
Ácidos gordos polinsaturados (PUFA)	8,39 \pm 0,02
Ácidos gordos saturados (SFA)	18,41 \pm 0,12
MUFA:PUFA	8,72

6.1.2 Critérios de qualidade

Para se avaliar a qualidade de um azeite virgem existe legislação específica que determina os parâmetros que devem ser analisados.

Na Tabela 8 são apresentados os valores obtidos no ensaio para os parâmetros de qualidade – acidez, índice de peróxido, análise espectrofotométrica e sensorial - e o respetivo Limite Legal, definido nos critérios de qualidade do azeite virgem extra de acordo com o Reg. (UE) N^o 1348/2013.

Tabela 8 - Resultados dos critérios de qualidade do azeite base (Média \pm desvio padrão) e respetivos limites legais para AVE

Parâmetros	Média e desvio padrão	Limite legal para Azeite Virgem Extra
Acidez (% ácido oleico)	0,27 \pm 0,00	\leq 0,80
Índice de peróxido (meq O ₂ /kg azeite)	6,15 \pm 0,33	\leq 20,00
K ₂₃₂	1,60 \pm 0,00	\leq 2,50
K ₂₇₀	0,15 \pm 0,00	\leq 0,22
Δ K	0,00	\leq 0,01
Exame organolético	Mf=6; Md=0	Mf>0; Md=0

Mf - Mediana do frutado; Md - Mediana dos defeitos

A acidez de um azeite virgem tem a ver com as reações de hidrólise que provocam a rutura dos triacilgliceróis e consequente formação de ácidos gordos livres. Segundo Kiritsakis (1998), o aumento da acidez de um azeite está dependente de vários fatores como o estado sanitário dos frutos, a data de colheita destes ou as condições de extração do azeite no lagar.

O índice de peróxido mede o estado de oxidação do azeite e é um indicador do seu estado de conservação/deterioração. Os peróxidos são os produtos primários da oxidação, responsáveis pela formação de compostos com sabor e odor desagradáveis como o ranço, tendo grande impacto no tempo de prateleira (Kiritsakis, 1998; Gunstone, 2002; Mailer e Beckingham, 2006).

A análise espectrofotométrica na região do UV está interligada com a oxidação e os valores dos coeficientes de extinção específica K₂₇₀, K₂₃₂ e Δ K são utilizados para avaliar a autenticidade e a qualidade do azeite fornecendo informações sobre o seu estado de conservação e as alterações causadas no processamento. Valores baixos dos coeficientes indicam boa qualidade do azeite (Kiritsakis, 1992; Boskou, 1998).

A avaliação sensorial de um azeite virgem está relacionada com os chamados atributos positivos (frutado, amargo e picante) e negativos (tulha, mofo, ranço, por exemplo), entre outros.

Verifica-se que todos os parâmetros analisados apresentam valores dentro dos limites legais, o que era de esperar dado tratar-se de um azeite premiado.

6.1.3. Fenóis totais, tocoferóis, pigmentos clorofilinos, K₂₂₅ e estabilidade oxidativa

Na Tabela 9 são apresentados os valores determinados para os vários parâmetros, no início do ensaio (lote de azeite base), e a comparação com os valores da literatura.

Tabela 9 - Valores medidos no início do ensaio (lote de azeite base), valores da literatura e respetiva referência bibliográfica para os vários parâmetros.

Parâmetros	Início (Azeite Base)	Valores da literatura	Referência bibliográfica
Fenóis totais (mg GAE/Kg)	302,95 ± 4,64	50 - 1000	Boskou <i>et al.</i> , 2006
α-tocoferol (mg/Kg)	384,25	285,07 - 393,89 (Galega) 290,25 - 448,67 (Cobrançosa)	Peres <i>et al.</i> , 2016
β-tocoferol (mg/Kg)	3,93	3,46 - 4,95	Peres <i>et al.</i> , 2016
γ-tocoferol (mg/Kg)	7,76	5,77 - 20,15	Peres <i>et al.</i> , 2016
Pigmentos clorofilinos	40,64 ± 0,24	3,01 - 79,3	Peres <i>et al.</i> , 2016
K ₂₂₅	0,20 ± 0,00	0,068 - 0,454	Gutierrez-Rosales, 1995
Estabilidade Oxidativa (h)	18,63±0,89	23 - 42 9 - 18,8	Peres <i>et al.</i> , 2016 Maia, 2014

Da comparação entre os dados obtidos neste estudo e os da literatura verifica-se que os resultados de todos os parâmetros se encontram de acordo com os valores referenciados na literatura.

Os valores referidos por Boskou *et al.* (2006b) relativos aos fenóis totais foram obtidos em sistema Abencor. De acordo com este autor (Tabela 10), pode-se classificar o teor de fenóis da amostra base de azeite como apresentando uma gama média.

Tabela 10 - Valores de fenóis totais para dez azeites monovarietais obtidos a partir de amostras de azeitonas de dez cultivares, do mesmo olival e em estado normal de maturação.

Cultivar (e respetivo país de origem)	Teor em fenóis (mg/kg)	Gama
Verdial de Velez (Espanha)	50-200	Baixa
Blanqueta, Hojiblanca, Picudo e Pedondilla (Espanha)	200-500	Média
Empeltre e Picual (Espanha)	~500	Média -Alta
Koroneiki (Grécia), Pajarero (Espanha), Picholine (Marrocos)	500-1000	Alta

Fonte: Adaptado de Boskou *et al.*, 2006

Os valores apresentados por Peres *et al.*, (2016) para o α -tocoferol (Tabela 9) são relativos às cultivares “Galega” e “Cobrançosa” e o lote de azeite base utilizado neste estudo foi, precisamente, produzido a partir de azeitonas destas variedades na proporção 1:1. Verifica-se que os resultados da análise deste parâmetro estão em consonância com os obtidos por este autor; o mesmo se aplica ao β -tocoferol e ao γ -tocoferol.

Relativamente à estabilidade oxidativa, os valores apresentados por Peres *et al.* (2016) foram obtidos em azeite de sistema Abencor e os valores referidos por Maia (2014) são relativos a um azeite produzido em lagar. Constata-se que o valor encontrado no lote de azeite base do ensaio (obtido em lagar, como referido atrás) está de acordo com o referido por Maia (2014), embora os valores da estabilidade oxidativa estejam fortemente dependentes da maturação das azeitonas utilizadas na extração do azeite (Peres *et al.*, 2016).

6.2 Estudos de armazenamento com diferentes tipos de vedante

Na Tabela 11 são apresentados os valores determinados para os ácidos gordos e para a acidez livre no início do ensaio e ao fim de 10 meses para os três tipos de vedante. Da comparação dos resultados obtidos verifica-se que os valores são muito semelhantes entre os três sistemas de fecho, ao fim dos 10 meses, e entre estes e os valores correspondentes à amostra inicial para os vários ácidos gordos e para os MUFA, os PUFA e os SFA.

No que se refere à acidez livre verifica-se que ao fim de 10 meses são os azeites vedados com cápsula metálica que apresentam valores mais elevados. Aumentos semelhantes, 0,1-0,2%, são reportados por Peres *et al.* (2009) em estudos efetuados ao longo de um ano de armazenamento. Neste sentido, é importante ter-se atenção quando se embala azeite próximo do limite legal.

Tabela 11 - Ácidos gordos (%) e acidez livre (%) no início e ao fim de 10 meses para os diferentes tipos de cápsula (Média \pm desvio padrão).

Ácidos Gordos	Início (T₀)	C (T₁₀)	R (T₁₀)	RC (T₁₀)
Ácido Mirístico (C14:0)	0,01 \pm 0,00	0,01 \pm 0,00	0,01 \pm 0,00	0,01 \pm 0,00
Ácido Palmítico (C16:0)	14,56 \pm 0,13	14,61 \pm 0,044	14,66 \pm 0,028	14,64 \pm 0,0096
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,73 \pm 0,01	1,75 \pm 0,01	1,74 \pm 0,00	1,74 \pm 0,00
Ácido Margárico (C17:0)	0,12 \pm 0,00	0,12 \pm 0,00	0,12 \pm 0,00	0,12 \pm 0,00
Ácido Margaroleico C17:1	0,24 \pm 0,00	0,24 \pm 0,00	0,24 \pm 0,00	0,24 \pm 0,00
Ácido Esteárico (C18:0)	3,17 \pm 0,25	3,45 \pm 0,28	2,94 \pm 0,00	3,15 \pm 0,00
Ácido Oleico (C18:1)	70,88 \pm 0,06	70,67 \pm 0,31	71,13 \pm 0,04	70,97 \pm 0,27
Ácido Linoleico C18:2)	7,54 \pm 0,02	7,43 \pm 0,02	7,49 \pm 0,00	7,47 \pm 0,25
Ácido Linolénico (C18:3)	0,85 \pm 0,00	0,84 \pm 0,00	0,85 \pm 0,02	0,85 \pm 0,01
Ácido Araquídico (C20:0)	0,43 \pm 0,00	0,42 \pm 0,00	0,41 \pm 0,00	0,42 \pm 0,00
Ácido Araquidónico (C20:1)	0,24 \pm 0,00	0,24 \pm 0,00	0,24 \pm 0,01	0,24 \pm 0,00
Ácido Beénico (C22:0)	0,13 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02	0,11 \pm 0,00	0,11 \pm 0,00
Ácido Erúcico (C22:1)	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Ácido Lignocérico (C24:0)	0,06 \pm 0,00	0,05 \pm 0,00	0,05 \pm 0,00	0,05 \pm 0,00
MUFA	73,19 \pm 0,01	72,96 \pm 0,30	73,41 \pm 0,00	73,25 \pm 0,26
PUFA	8,39 \pm 0,02	8,26 \pm 0,03	8,34 \pm 0,02	8,32 \pm 0,01
SFA	18,41 \pm 0,12	18,78 \pm 0,33	18,25 \pm 0,02	18,44 \pm 0,27
Acidez (% ác. oleico)	0,27 \pm 0,00	0,41 \pm 0,00	0,37 \pm 0,00	0,38 \pm 0,00

C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça capsulada; R - rolha de cortiça coberto de cera de abelha; T₀ - tempo zero; T₁₀ - após 10 meses de armazenamento.

Na Tabela 12 é apresentado o resumo da análise de variância para os seguintes parâmetros: pigmentos clorofilinos, índice de peróxido, K₂₇₀, K₂₃₂, fenóis totais e K₂₂₅.

Tabela 12 - Resumo da análise de variância para os dois fatores estudados (V e M).

Parâmetros	Origem da variação	G.L.	F	Sig.	Var. (%)
Pigmentos clorofilinos	Tipo de vedante (V)	2	1.30	0.285(ns)	0.0
	Meses (M)	2	35.00	0.000(***)	79.1
	VxM	4	4.60	--	0.0
	Resíduo	36			20.8
Índice de peróxido	Tipo de vedante (V)	2	85.47	0.0000(***)	30.7
	Meses (M)	2	41.19	0.0000(***)	14.6
	VxM	4	48.03	0.0000(***)	51.4
	Resíduo	36			3.3
K ₂₇₀	Tipo de vedante (V)	2	120.69	0.0000(***)	12.0
	Meses (M)	2	482.91	0.0000(***)	48.2
	VxM	4	130.69	0.0000(***)	38.9
	Resíduo	36			0.9
K ₂₃₂	Tipo de vedante (V)	2	3.92	0.0288(*)	10.0
	Meses (M)	2	18.26	0.0000(***)	59.2
	VxM	4	2.43	0.0655(ns)	0.0
	Resíduo	36			30.8
Fenóis totais	Tipo de vedante (V)	2	28.96	0.0000(***)	3.6
	Meses (M)	2	724.77	0.0000(***)	93.2
	VxM	4	6.38	0.0005(***)	2.1
	Resíduo	36			1.2
K ₂₂₅	Tipo de vedante (V)	2	8.84	0.0008(***)	11.6
	Meses (M)	2	36.93	0.0000(***)	53.3
	VxM	4	5.88	0.0010(**)	21.7
	Resíduo	36			13.3

G.L. – graus de liberdade; Q.M. – quadrado médio; Sig. – Nível de significância (***) - altamente significativo para $p < 0,001$; ** - muito significativo para $p < 0,01$; * - significativo para $p < 0,05$; n.s. – não significativo para $p > 0,05$; Var. (%) – Variância esperada expressa em % da variância total.

O teor dos pigmentos clorofilinos é apenas afetado pelo período de armazenamento, explicando este fator 79,1% da variação observada. Neste caso há ainda a considerar o resíduo responsável por 20,8% da variação total. Esta variação deve-se não apenas à variabilidade observada (especialmente nas amostras em que o sistema de fecho é a cápsula – Figura 16), mas também a outros fatores que não foram considerados neste trabalho e que podem estar relacionados com a oxidação e consequente degradação dos pigmentos clorofilinos. De facto, segundo Huie e Neta (2002), a presença de oxigénio e a diminuição de carotenoides (os carotenoides funcionam como protetores da destruição da clorofila) levam a uma degradação da clorofila com a consequente diminuição do seu teor ao longo do tempo. Para Gross (1991) a diminuição dos carotenoides é influenciada pelo aumento dos radicais livres.

Pela análise da Figura 16, pode observar-se que os valores de pigmentos clorofilinos diminuem com o tempo de armazenamento independentemente do sistema de fecho utilizado.

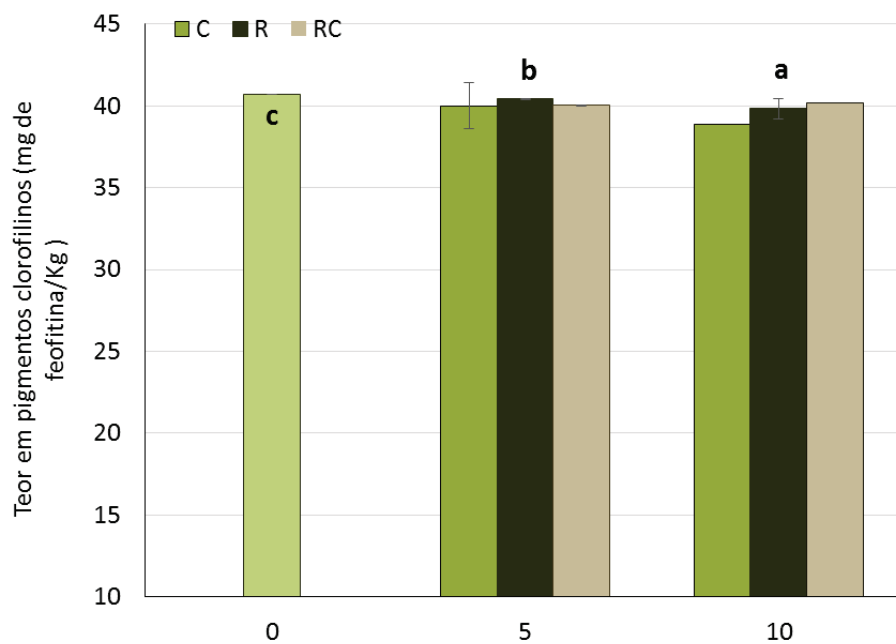


Figura 16 - Variação do teor de pigmentos clorofilinos ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberta de cera de abelha.

A oxidação de um azeite pode ser avaliada pelo índice de peróxido, sendo por isso um parâmetro de controlo da qualidade de extrema importância. Para valores mais elevados de oxidação o azeite pode ficar com o defeito de ranço, perdendo a sua qualidade. O índice de peróxido é uma variável discriminante para separar azeites submetidos a armazenamento no escuro (Mayler e Ayton 2010).

Para o presente estudo o valor do índice de peróxido apresenta variação ao longo do tempo de armazenamento (Figura 17), sendo o efeito dos dois fatores em estudo altamente significativo, bem como a sua interação.

O efeito do tipo de vedante explica 30,7 % da variação total observada e o fator meses 14,6 %. As interações entre os dois fatores explicam praticamente metade da variação pelo facto de para o azeite com sistema de fecho com cápsula metálica se observar um aumento significativo ao longo do tempo de engarrafamento.

Os resultados obtidos por Ayton *et al.* (2012) nos ensaios de armazenamento com inertização em diferentes azeites australianos, e a várias temperaturas (15, 20 e 37°C) mostram uma diminuição do IP para todas as temperaturas e para todos os azeites ao longo do tempo. Por se turno, os resultados obtidos por Méndez e Falqué (2007) de armazenamento em diferentes embalagens (plástico, vidro, metal e tetra-brik) mostram um aumento do IP para todos os tipos de embalagem após seis meses.

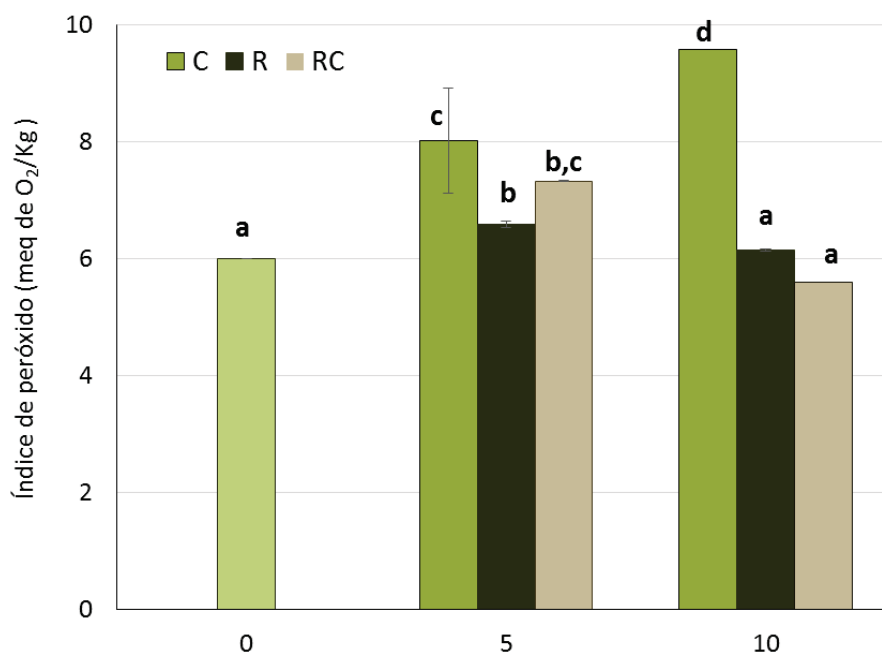


Figura 17 - Variação do índice de peróxido ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberta de cera de abelha.

O valor do K_{232} apresenta variação ao longo do tempo de armazenamento (Figura 18), sendo o efeito do fator M altamente significativo explicando 59,2% da variação observada e o fator V significativo explicando 10,0% da variação total observada. A interação entre os dois efeitos é nula sendo o resíduo responsável por 30,8% da variação. Esta deve-se não apenas à variabilidade observada após 5 meses de armazenamento, com a cápsula metálica e com a rolha de cortiça com cápsula em que se verifica um aumento dos valores. Aos 10 meses para as amostras com rolha de cortiça coberta de cera de abelha e com rolha de cortiça capsulada verifica-se uma diminuição deste índice espectrofotométrico.

Os resultados obtidos por Ayton *et al.* (2012) mostram um aumento do K_{232} ao longo do armazenamento.

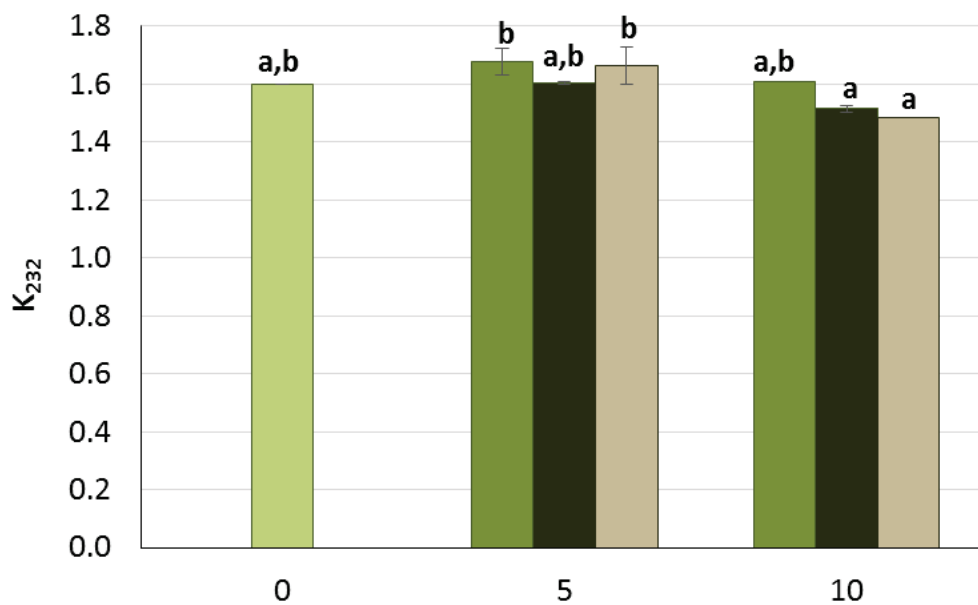


Figura 18 - Variação do K_{232} ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberta de cera de abelha.

O valor do K_{270} regista uma variação altamente significativa devida ao fator tempo de armazenamento (48,2%), ao fator tipo de vedante (12,0%) e ao fator interação entre estes dois fatores do estudo (38,9%) sendo o resíduo praticamente inexistente. Da análise da Figura 19 observa-se que há um aumento dos valores do K_{270} ao longo do tempo para todos os tipos de vedante mas que ao fim dos 10 meses os três tipos de cápsula apresentam valores diferentes entre eles. Enquanto os azeites vedados com a cápsula de rolha com cera têm valores semelhantes ao da amostra inicial os outros dois vedantes apresentam valores bastante mais elevados. De facto, o valor relativo à cápsula metálica mantém-se dentro da ordem de grandeza verificada ao fim dos 5 meses mas o da rolha de cortiça com cápsula aumenta significativamente relativamente ao período de tempo anterior. Verifica-se que as amostras com rolha bartop ao fim de 10 meses se apresentam com o valor limite de K_{270} para AVE (0,22). Estudos de armazenamento com diferentes embalagens mostram um aumento deste índice para todos os vasilhames, verificando-se no caso do vidro e para a variedade “Picudo” que o limite para AVE é ultrapassado ao fim de 9 meses (Serrano *et al.*, 2017). Assim, este índice parece ser um bom marcador para avaliar o armazenamento de azeites.

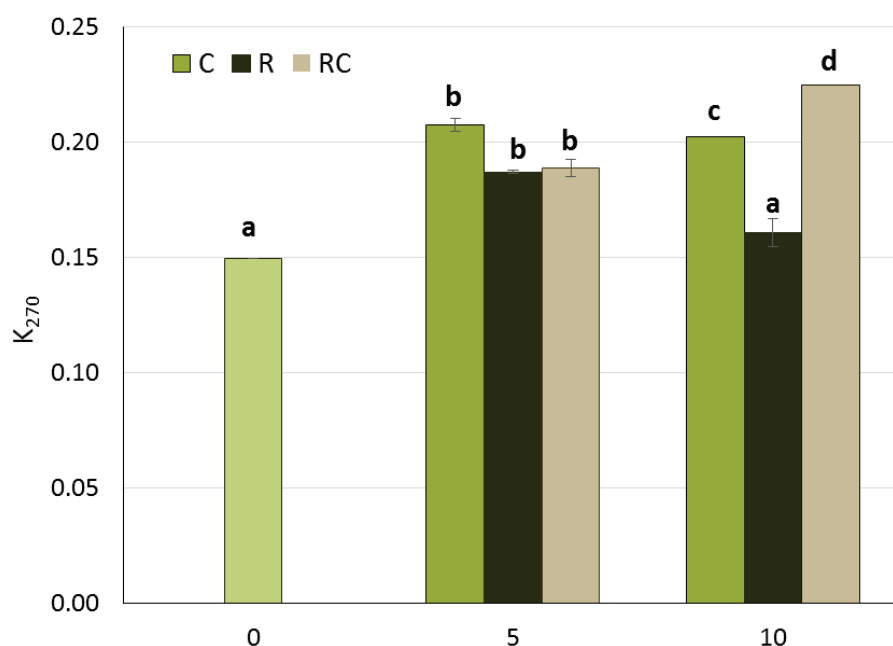


Figura 19 - Variação do K_{270} ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberto de cera de abelha.

O K_{225} apresenta uma variação de 53,3% no fator tempo de armazenamento e uma variação de 11,6% no fator tipo de vedante. Estas variações são altamente significativas. A interação entre fatores tem uma variação de 21,7% e é muito significativa. O resíduo apresenta um valor de 13,3% que se deverá às diferenças entre o tipo de vedante R e os outros dois tipos de fecho. Na Figura 20 observa-se para os três tipos de vedante ao fim de 5 meses valores semelhantes ao momento inicial e para os 10 meses uma diminuição para os três tipos de vedantes, especialmente para os azeites vedados com rolha.

Estes resultados não estão em concordância com os reportados por Peres *et al.* (2009) dado que não houve variação do K_{225} ao longo dos 5 primeiros meses de armazenamento tendo ocorrido um decréscimo dos valores somente na medição efetuada ao fim dos 10 meses de armazenamento.

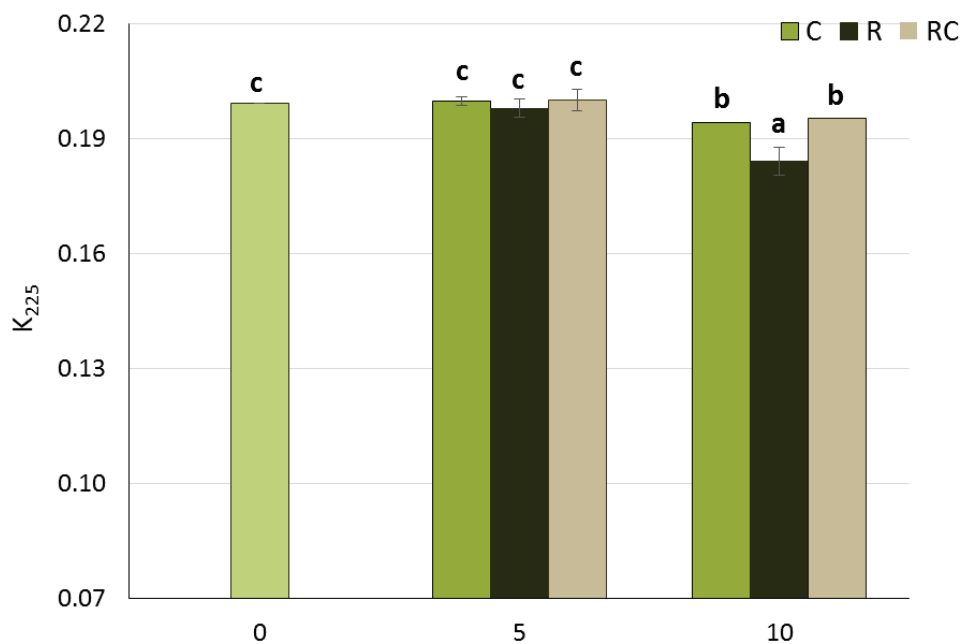


Figura 20 - Variação do K_{225} ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberto de cera de abelha.

O teor de fenóis totais apresenta uma variabilidade muito significativa (93,2%) do fator M. Com efeito, da análise do gráfico da Figura 21 constata-se que, após dez meses de armazenamento, há uma diminuição da concentração em compostos fenólicos relativamente ao momento inicial e ao período 5 meses. Também se verifica uma variabilidade muito significativa do fator V (3,6%) e do fator VxM (2,1%), mas muito menor que a verificada para o fator tempo. No gráfico abaixo podemos observar, ainda, a diferença no teor em fenóis entre azeites com os três tipos de vedante; a concentração dos compostos fenólicos presentes nas amostras vedadas com cápsula metálica é mais baixa que a das amostras vedadas com os dois tipos de rolha de cortiça quer a 5 quer a 10 meses.

Nos resultados de Ayton *et al.* (2012), também os polifenóis diminuem ao longo do tempo de armazenamento para todos os tipos de azeite ensaiados.

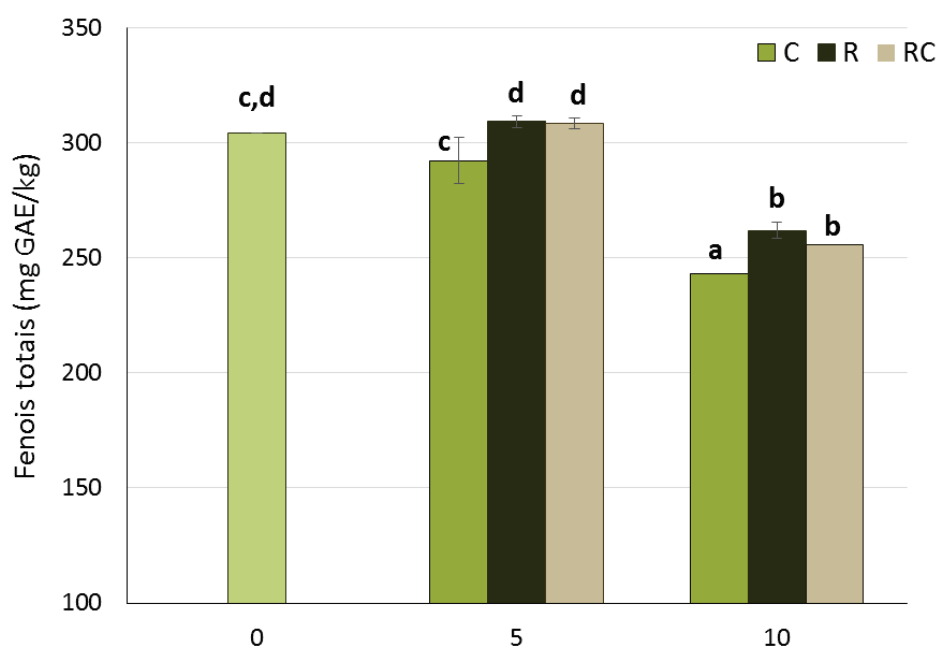


Figura 21 - Variação do teor de fenóis totais ao longo do tempo de armazenamento (0 meses, 5 meses e 10 meses) para os três tipos de fecho: C - cápsula metálica com interior de polímero; RC - rolha de cortiça com cápsula bartop; R - rolha de cortiça coberto de cera de abelha.

Na Figura 22 são apresentados os resultados para os teores em α -tocoferol na amostra inicial e ao fim de 10 meses. Tal como referido anteriormente, trata-se do tocoferol maioritário dos azeites virgens e, portanto, aquele que apresenta uma maior variação (Deiana *et al.*, 2002). Desta análise constata-se que há uma diminuição dos valores ao fim dos 10 meses para os três tipos de vedante relativamente ao momento inicial e que esta diminuição é maior no caso da amostra fechada com cápsula metálica e semelhante entre azeites com os dois tipos de rolha de cortiça. Em geral, por se tratar de anti-oxidantes, os valores dos tocoferóis e nomeadamente os do α -tocoferol diminuem ao longo do tempo, tal como se verifica para ensaios efetuados por Ayton *et al.* (2012).

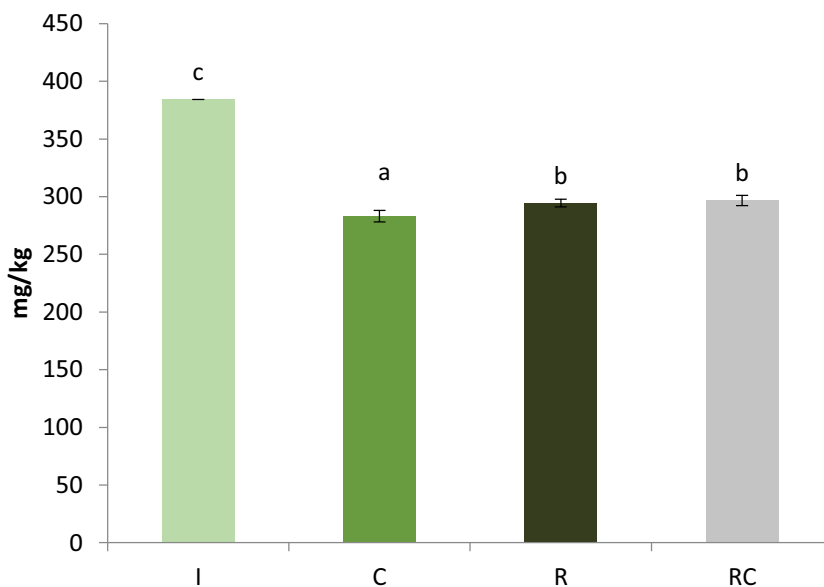


Figura 22 - Teores em α -tocoferol no início e após 10 meses de armazenamento para os três tipos de fecho. I- início, C- cápsula metálica com interior de polímero; R- rolha de cortiça capsulada com cera de abelha; RC- rolha de cortiça com cápsula bartop.

Os valores da estabilidade oxidativa (Figura 23) mostram que ao fim de 10 meses de embalagem há uma diminuição da estabilidade oxidativa para todos os tipos de vedante sendo que este decréscimo é mais acentuado para as amostras com cápsula metálica que para as amostras com os dois tipos de rolha de cortiça e semelhante entre estes dois.

O decréscimo da estabilidade oxidativa com o tempo de armazenamento está em linha com outros autores (Peres *et al.*, 2009) para os quais esta diminuição deve-se ao decréscimo que se verifica nos tocoferóis e noutros compostos fenólicos, situação que está de acordo com os resultados obtidos neste ensaio (Figuras 21 e 22).

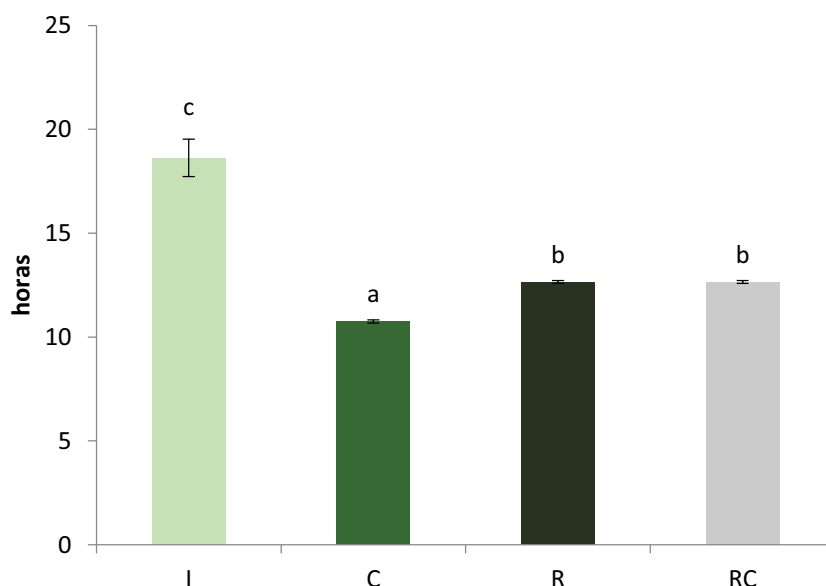


Figura 23 - Estabilidade oxidativa no início e após 10 meses de armazenamento para os três tipos de fecho. I- início, C- cápsula metálica com interior de polímero; R- rolha de cortiça capsulada com cera de abelha; RC- rolha de cortiça com cápsula bartop.

Na Figura 24 apresentam-se os resultados da análise de componentes principais que explica 65 % da variação total. Verifica-se que a componente 1 separa claramente as amostras em função do tempo de armazenamento. Para o caso dos azeites com 10 meses de armazenamento verifica-se também uma clara separação entre as amostras vedadas com cápsula metálica comparativamente às amostras vedadas com rolha ou bartop.

Para 5 meses de armazenamento, as amostras de azeite vedadas com rolha de cortiça apresentam características químicas diferentes das restantes e mais próximas das observadas para o azeite no tempo zero de armazenamento.

A diferenciação das amostras de azeite, com 10 meses de armazenamento, vedadas com cápsula deve sobretudo aos valores mais elevados de K270 e IP. No que concerne às amostras armazenadas a 5 meses verifica-se que os parâmetros diferenciadores são um maior conteúdo de fenóis e PC para as amostras vedadas com rolha de cortiça.

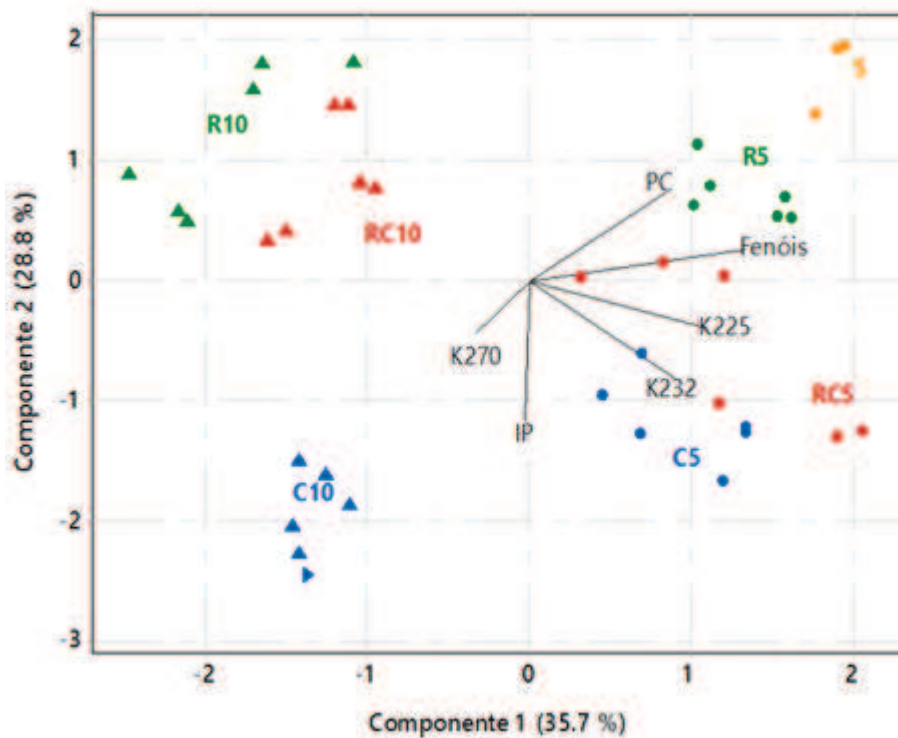


Figura 24 - Análise de componentes principais: Tipo de vedante (C; R e RC); Meses (5 e 10).

6.3 Estudo de mercado

Como complemento à análise química realizada no âmbito deste trabalho foi elaborado um questionário (em Apêndice) com o objetivo de se avaliar a preferência do consumidor relativamente ao tipo de vedante utilizado no fecho de garrafas de azeite. Este questionário, realizado *on-line*, entre os meses de Agosto de 2016 e de Fevereiro de 2017 obteve 300 respostas.

As questões colocadas estão relacionadas com os critérios de imagem e de funcionalidade da garrafa de azeite em função dos três tipos de vedante e, ainda, com a decisão a tomar pelo consumidor no momento da compra perante a possibilidade de escolher entre uma garrafa de vidro fechada com cápsula metálica e uma garrafa de vidro fechada com rolha de cortiça; esta escolha foi feita com o conhecimento dos pressupostos relacionados com as características do tipo de material utilizado na cápsula metálica e na rolha de cortiça, nomeadamente, em termos energéticos, de emissão de CO₂, de resíduos produzidos e da valorização dos produtos naturais.

Para caracterizar o perfil dos inquiridos neste estudo de mercado foi solicitada informação sobre o género, a idade, as habilitações literárias e o concelho de residência destes.

Da análise dos dados relativos ao universo da amostra conclui-se que o número de respostas por género é praticamente igual conforme apresentado na Figura 25, isto é, 52% de homens e 48% de mulheres.

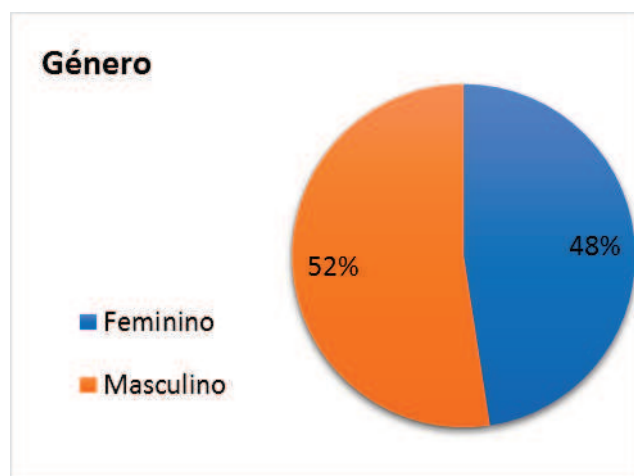


Figura 25 - Percentagem de respostas por sexo.

Relativamente à idade dos inquiridos obtiveram-se respostas de todas as faixas etárias, desde os dezoito até aos setenta e seis anos.

As habilitações literárias dos indivíduos são distribuídas em quatro níveis de escolaridade nas percentagens indicadas na Figura 26. Os dados obtidos revelam um público com um grau de formação elevado.

Em termos de morada de residência verifica-se uma distribuição das respostas por várias dezenas de concelhos de todas as regiões do território continental português e ainda uma resposta de Toronto no Canadá e uma de Toulouse em França, ou seja, está-se em presença de uma amostra representativa em termos geográficos.

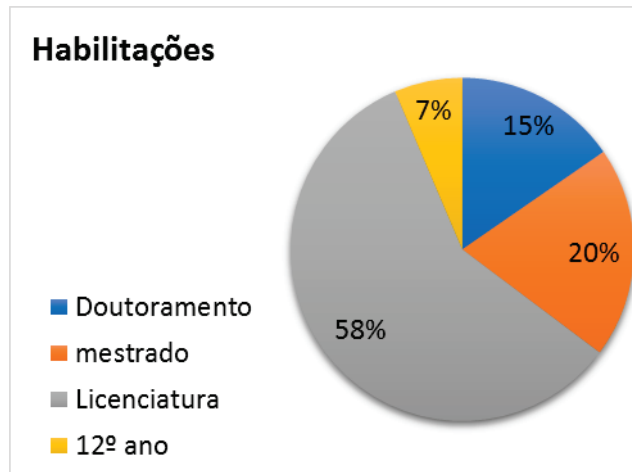
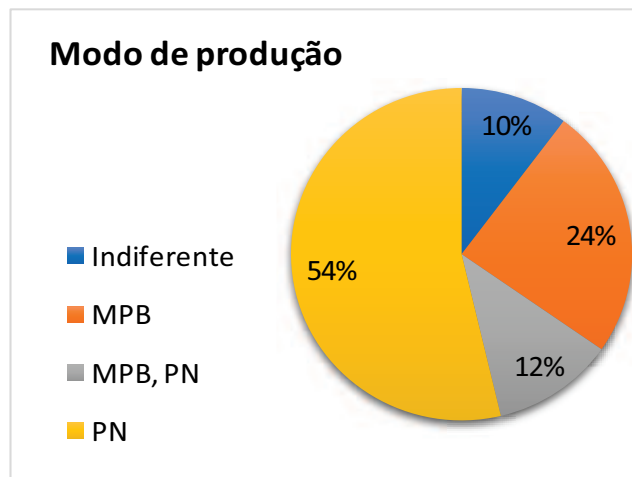


Figura 26 – Percentagem de respostas por nível de escolaridade.

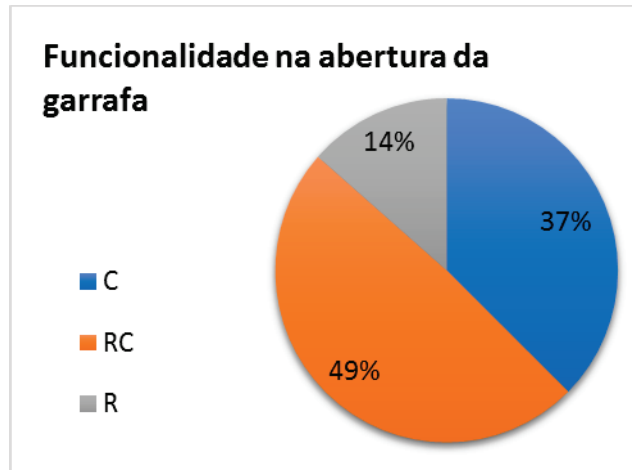
Considerou-se interessante colocar uma questão acerca da importância, para o consumidor, da origem e do modo de produção do produto a adquirir. Verificou-se que é valorizada a produção nacional e o produto BIO (Figura 27). Este dado adicional pode ajudar a compreender as tendências atuais do consumo.



MPB - Modo de Produção Biológica; PN - Produção Nacional

Figura 27 - Percentagem de respostas por origem e modo de produção.

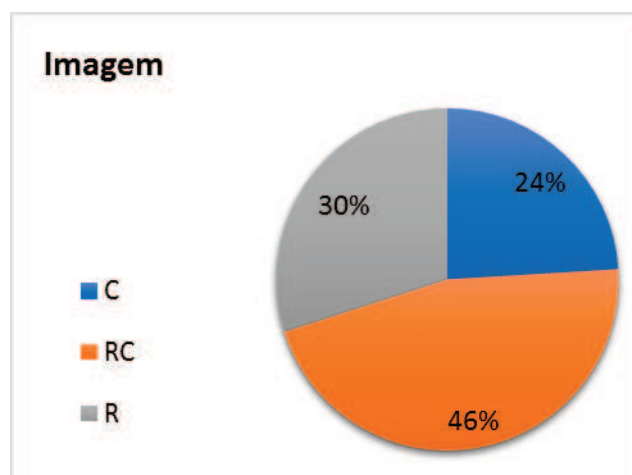
Em relação à funcionalidade na abertura da garrafa a opção dos inquiridos vai, claramente, para a rolha de cortiça com cápsula bartop, seguindo-se a cápsula metálica (Figura 28). É curioso constatar que, apesar da necessidade de utilização de saca-rolhas para retirar a rolha revestida com cera de abelha, 14% prefere este sistema de fecho. Estas percentagens revelam haver lugar para todos os tipos de vedante.



C - Cápsula metálica; RC - Rolha de cortiça com cápsula bartop; R - Rolha de cortiça revestida com cera de abelha

Figura 28 – Percentagem de respostas por tipo de vedante em relação à funcionalidade na abertura da garrafa.

No que diz respeito à imagem da embalagem mais de dois terços dos inquiridos preferem a rolha de cortiça à cápsula metálica (Figura 29). Neste item, a preferência pela rolha de cortiça revestida com cera de abelha ultrapassa a preferência pela cápsula metálica.



C - Cápsula metálica; RC - Rolha de cortiça com cápsula bartop; R - Rolha de cortiça revestida com cera de abelha

Figura 29 – Percentagem de respostas por tipo de vedante em função da imagem.

Por último, perante a decisão a tomar no ato de compra de uma garrafa de azeite, 70% dos inquiridos diz preferir a embalagem com rolha de cortiça, independentemente do tipo de rolha, contra 30% que preferem a cápsula metálica (Figura 30).

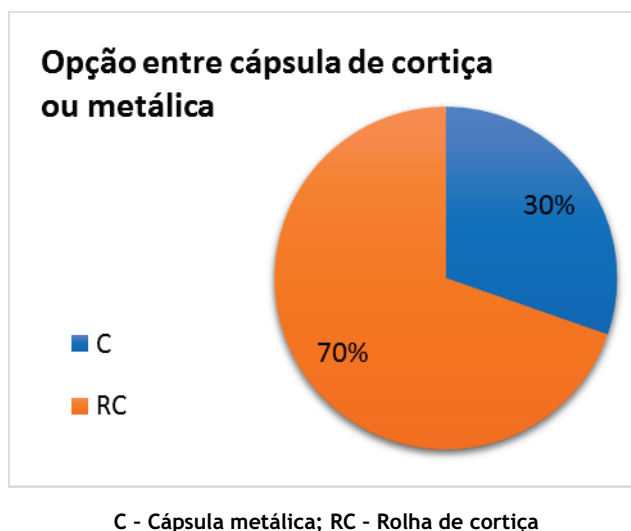


Figura 30 – Percentagem de respostas por tipo de vedante entre cápsula de cortiça ou metálica

Parte dos inquiridos fez comentários relacionados com este assunto, uns justificando a opção tomada e outros dando sugestões.

Um dos aspetos mais referidos prende-se, independentemente do tipo de cápsula, com a escorrência de azeite pelo bocal da garrafa aquando da sua utilização. Nalguns casos são mesmo sugeridos doseadores para as garrafas. Há também a referência à nova rolha de cortiça desenvolvida pela Corticeira Amorim. – sistema Helix (<http://www.amorimcork.com/pt/products/catalogue/helix/>). Alguns comentários indicam que um produto natural e saudável como o azeite merece um produto natural como a cortiça, que este material é o mais compatível com o MPB e outros indicam, ainda, a importância da realização de uma campanha de divulgação que mostre haver outras hipóteses de fecho das garrafas de azeite que não só a convencional cápsula metálica.

Todos estes elementos indiciam a possibilidade de utilização da cortiça no fecho das garrafas de azeite abrindo novas oportunidades aos setores do azeite, da cortiça e do marketing.

7. Conclusões

O presente estudo apresenta importantes resultados para produtores e embaladores de azeite e, paralelamente, para a indústria da cortiça.

De facto, dos resultados do inquérito efetuado 70% dos inquiridos diz preferir o fecho de garrafa com rolha de cortiça, abrindo um conjunto de oportunidades para este material muito usado desde sempre nas garrafas de vinho mas com uma utilização até hoje quase residual nas de azeite, apesar do preço das rolhas de cortiça no mercado apresentar valores semelhantes ao das *screw cap*.

O lote utilizado de “Cobrançosa” e “Galega”, que pode ser comum a azeites das regiões olivícolas nacionais, torna os resultados interessantes para muitos produtores.

Em termos gerais, partimos de um lote com uma relação MUFA:PUFA alta e com gama de fenóis média. Assim, verificamos neste estudo que os azeites, ao fim de 10 meses de armazenamento, ainda mantêm a designação de AVE pelas suas características químicas.

Relativamente à análise dos dois fatores estudados (tipo de vedante e tempo) conclui-se que há diferenças significativas entre as amostras com cápsula metálica e as amostras com os dois tipos de rolha de cortiça nos parâmetros que medem a oxidação (IP e absorvâncias no UV).

Por outro lado, os azeites engarrafados com os dois tipos de rolha de cortiça apresentam um comportamento similar, exceto no K_{225} .

No que concerne aos compostos fenólicos (fenóis totais e tocoferóis) os resultados mostram teores mais elevados para os azeites engarrafados com rolha de cortiça, o que conduz a uma estabilidade oxidativa mais alta dos azeites vedados nestas condições.

Do conjunto dos resultados obtidos, quer em termos de análise química quer de mercado, pode concluir-se que é possível haver um incremento da utilização da cortiça como vedante de garrafas de azeite o que, a acontecer, traduzir-se-á num conjunto de vantagens de âmbito ambiental e económico e, ainda, num aumento de possibilidades na área do *design* associado à imagem das embalagens de azeite.

Decorrente desta investigação considera-se importante a realização de estudos futuros que possam contribuir para o esclarecimento de dúvidas e o aprofundamento de situações potencialmente interessantes que foram surgindo ao longo dos ensaios, com destaque para os estudos de tempo de vida sensorial já que o tipo de vedante pode influenciar a presença (ou ausência) de compostos odorantes.

8. Referências bibliográficas

- Allalout, A., Krichène, D., Methenni, K., Taamalli, A., Oueslati, I., Daoud, D., Zarrouk, M. 2009. Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Sci. Hortic.* **120**, 77-83.
- Angerosa, F. 2002. Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *European Journal of Lipid Science and Technology* **114** (9-10), 639-660.
- Angerosa, F., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposto, S., Montedoro, G. 2004. Volatile compounds in virgin olive oil: Occurrence and their relationship with the quality. *Journal of Chromatography, A* **1054** (1-2), 17-31.
- Anjos O., Pereira H., Rosa M.E., 2008. Effect of quality, porosity and density on the compression properties of cork. *Holz als Roh-und Werkstoff* **66** (4): 295-301.
- Anjos O., Rodrigues C., Morais J., Pereira H., 2014. Effect of Density on the Compression Behaviour of Cork. *Materials & Design* **53**, 1089-1096.
- Aparício, R., Luna, G. 2002. Characterisation of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**, 614-627.
- Aparício, R., Morales, M. T., García-González, D. L. 2012. Towards new analyses of aroma and volatiles to understand sensory perception of olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* **114** (10), 1114-1125.
- Ayton, J., Mailer, R., Graham, K. 2012. The Effect of Storage Conditions on Extra Virgin Olive Oil Quality. Rural Industries Research and Development Corporation. Kingston.
- Baccouri O., Bendini A., Cerretani L., Guerfel M., Baccouri B., Lercker G., Zarrouk M. e Daoud Ben Miled D. 2008. Comparative study on volatile compounds from Tunisian and Sicilian monovarietal virgin olive oils. *Food Chem.* **111**, 277-296.
- Belitz, D., Grosch, W., Schieberle, P. 2004. *Food Chemistry*, 3rd revised edition 194-196, 201, 205-206, 232-240, 463, 464, 822.
- Beltrán, G., Rio, C.D., Sanchez, S., Martinez, L. 2004. Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from Cv. Picual. *J Agric Food Chem* **52**, 3434-3440.
- Beltrán, G., Aguilera, M. P., Del Rio, C., Sanchez, S., Martinez, L., 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chem.* **89**, 207-215.
- Beltrán, G., Ruano, M.T., Jiménez, A., Uceda, M., Aguilera, M.P. 2007. Evolution of virgin olive oil bitterness by total phenol content analysis. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **108**, 193-197.
- Beltrán, G., Jiménez, A., Rio, C., Sánchez, S., Martinez, L., Uceda, M., Aguilera, M.P. 2010. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. *Journal of Food composition and Analysis* **23**(6), 633-639.

Botti, L., Anjos, C. 2013. Azeite de oliva: sistemas de embalagem e conservação da qualidade. Faculdade de Engenharia de Alimentos-FEA – UNICAMP. São Paulo.

Boskou, D. 1998. *Química y Tecnología del Aceite de Oliva*. AMV Ediciones, Madrid, 67-104; 125-164. ISBN: 84-89922-06-3.

Boskou, D., Blekas, G., Tsimidou, M. 2006a. Olive Oil Composition. In: AOCS Publishing, *Olive Oil: Chemistry and Technology*, Second Edi., pp. 41-72. Thessalonki.

Boskou, D., Tsimidou, M., Blekas, G. 2006b. Polar Phenolic Compounds. In: AOCS Publishing, *Olive Oil: Chemistry and Technology*, Second Edi., pp. 73-92. Thessalonki.

Botti, L., Anjos, C. 2013. Azeite de oliva: sistemas de embalagem e conservação da qualidade. Faculdade de Engenharia de Alimentos-FEA – UNICAMP. São Paulo.

Brenes, M., Garcia, A., Garcia, P., Rios, J. J., Garrido, A., 1999. Phenolic compounds in spanish olive oils. *Agric. Food Chem.* **47**, 3535-3540.

Bruice, P.Y. 2004. *Organic Chemistry* 4^a ed., University of California.

Buchgraber, M., Karaali, A. 2005. Compilation of standardized analytical methods for the analysis of active ingredients in functional foods. European Commission, Directorate-General Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements.

Burton, G. W., Ingold, K. U. 1986. Vitamin E: Application of the Principles of Physical Organic Chemistry to the Exploration of Its Structure and Function, *Ace. Chem. Res.* **19**, 194-201.

Campanella, L., Nuccilli, A., Tomassetti, M., Vecchio, S. 2008. Biosensor analysis for the kinetic study of polyphenols deterioration. *Talanta.* **74**, 1287-1298.

Campos, A. 2009. A Química da Cortiça. *National Geographic. PT.* **96**, 2-17.

Capannesi, C., Palchetti, L., Mascini, M., Parenti, A. 2007. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry* **71**, 553-562.

Cayuela, J.; Gomez-Coca, R.; Moreda, W., Perez-Camino, M. 2015. Sensory defects of virgin olive oil from a microbiological perspective. *Trends in Food Science & Technology* **43**, 227-235.

Conceição, A.C., Gouveia, C., Vitorino, M.C., Henriques, L.R., Peres, M.F. 2009. Azeite "Galega Vulgar": evolução sensorial durante a maturação na campanha 2000/01. *Atas Portuguesas de Horticultura, n^o 13. III Simpósio Nacional de Olivicultura, Castelo Branco*, 221-226.

Coulter, T.P. 1984. Food: The chemistry of its components, *Royal Society of Chemistry*, 50, 53 e 173.

Criado, M.N., Romero, M.P., Casanovas, M., Motilva, M.J. 2008. Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **110**, 873-880.

Deiana, M., Rosa, A., Cao, C. F., Pirisi, F. M., Bandino, G., Dessi, M. A. 2002. Novel approach to study oxidative stability of extra virgin olive oils: Importance of α -tocopherol concentration. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 4442-4446.

- Decker, E. A., Warner, K., Richards, M. P., Shahidi, F. 2005. Measuring antioxidante effectiveness in food. *J. Agric. Food Chem.* **53** (10), 4303-4310.
- Del Barrio, A., Gutiérrez, F., Gutiérrez, R. 1981. Aplicación de la cromatografía gas-líquido, técnica de espacio de cabeza, al problema del atrojado de los aceites de oliva. *Grasas y Aceites* **32**, 155-161.
- Di Giovacchino, L., Constantini, N., Ferrantei, M.L., Serraiocco, A. 2002. Influence of malaxation time on olive paste oil: Extraction yields and chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a centrifugal decanter at water saving. *Grasas y Aceites* **53**, 179-186.
- Diez, M. J. G. F., Adamos, M. R. 1997. Table Olives. Chapman & Hall, London (UK), 67-109.
- Diraman, H., Dibeklioglu, H. 2009. Characterization of Turkish Virgin Olive Oils produced from early harvest olives. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **86**, 663-674
- El Riachy, M., Priego-Capote, F. León, L., Rallo, L., Castro, M.L. 2011. Hydrophilic Antioxidants of Virgin Olive Oil. Part 1: Hydrophilic Phenols: A Key Factor for Virgin Olive Oil Quality. *European Journal of Lipid Science and Technology* **113**(6), 678-91.
- Farhoosh, R., Hoseini-Yazdi, S-Z. 2014. Evolution of oxidative values during kinetic studies on olive oil oxidation in the rancimat test. *J Am Oil Chem Soc.* **91**, 281-293.
- Faria, A. A., Leles, M. I. G., Ionashiro, M. 2002. Estudo da estabilidade Térmica de Óleos e Gorduras Vegetais por TG/DTG e DTA. *Encicl. Química*, **27**, 111-119.
- Fortes, M.; Rosa, M., Pereira, H. 2004., *A Cortiça*. Lisboa, ISBN: 972-8469-33-0.
- Galeano Diaz Meras, T.D.; Sánchez Casas J., Franco, A.M. 2005. Characterization of virgin olive oils according to its triglycerids and sterol composition by chemometric methods. *Food Control*, **16**, 339-347.
- Gibson LJ, Easterling KE, Ashby MF 1981. The structure and mechanics of cork. *Proc R Soc Lond AA* **377**:99-117
- Gil, L. 2006. *A Cortiça e o Vinho*. Lisboa, ISBN: 972-676-201-4.
- Gómez-Alonso, S., Salvador, M.D. e Fregapane, G. 2004. Evolution of the oxidation process in olive oil triacylglycerol under accelerated storage conditions (40-60°C). *JAACS*. **81**: 177-184.
- Gómez-Alonso, S., Mancebo-Campos, V., Salvador, M.D., Fregapane, G. 2007. Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature. *Food Chemistry*. **100**: 36-42.
- Gómez-Gonzalez, S., J. Ruiz-Jimenez, Castro, M.D. 2011. Oil Content and Fatty Acid Profile of Spanish Cultivars During Olive Fruit Ripening. *Journal of the American Oil Chemists Society* **88**(11):1737-45
- Gordon, H. M., Paiva-Martins, F., Almeida, M. 2001. Antioxidant Activity of Hydroxytyrosol Acetate Compared with That of Other Olive Oil Polyphenols, *J. Agric. Food Chem.* **49**, 2480-2485.
- Gouveia, J. 1995. *Azeites Virgens do Alto Alentejo – Comportamento Químico, Tecnológico e Sensorial*. Tese de doutoramento. ISA/UTL. Lisboa.

Gross, J. 1991. Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids. New York: Van Nostrand Reinhold, p. 75-254.

Gunstone, F. 2002. *Vegetable oils in food technology: Composition, Properties and Uses*, 1^a Edition, Blackwell Publishing,

Gutierrez-Rosales, F., Arnaud, T. 2001. Contribution of polyphenols on the oxidative stability of virgin olive oil, *24 th World Congress and Exhibition of the ISF, Berlin*, Abstracts, 61-62.

Hamilton, R.J., Allen, J.C. 1999. *Rancidity in foods*. 3^o Edition. Aspen Publishers Incorporation. Maryland.

Henriques, L.R.; Conceição, A.C., Peres, M.F., Pinheiro-Alves, M.C. 2001. β -caroteno e pigmentos clorofilinos em azeites monovarietais da Beira Baixa, campanha 1998/99 *Revista das Ciências Agrárias*, 199-204.

Huie, R. E., Neta, P. 2002. Chemistry of Reactive Oxygen Species. In: *Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach*. Kluwer Academic Publishers, New York, 33-63.

Huang, D., Ou, B., Prior, R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **53** (6), 1841-1856.

Issaoui, M., Flamini, G., Hajajj, M.E., Cioni, P.L., Hammami, M. 2011. Oxidative Evolution of Virgin and Flavored Olive Oils Under Thermo-oxidation Processes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **88**, 1339-1350.

Kassouf, A., El Rakwe, M., Chebib, H., Ducruet, V., Rutledge, D.N., Maalouly, J. 2014. Independent components analysis coupled with 3D-front-face fluorescence spectroscopy to study the interaction between plastic food packaging and olive oil. *Analytica Chimica Acta*. **839**, 14-25.

Kıralan, M.; Bayrak, A. E Özkaya, M.T. 2009. Oxidation stability of virgin olive oils from some important cultivars in East Mediterranean area in Turkey. *Journal of American Oil Chemists' Society* **86**, 247-252.

Kiritsakis, A. 1992. *El aceite de oliva*. A. Madrid Vicente, Ediciones, Madrid.

Kiritsakis, A. 1998. *Olive oil: From the tree to the table*. Second Edition Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, USA.

Krichene, D., Allalout, A., Mancebo-Campos, V., Salvador, M.D., Zarrouk, M., Fregapane, G. 2010. Stability of virgin olive oil and behavior of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food Chemistry* **121**, 171-177.

Lehninger, A., Nielson, D. L., Cox, M. M. 1995. *Bioquímica*, 3a edição, New York: Worth Publisher.

Li, X., Zhu, H., Shoemaker, C.F., Wang, S.C. 2014. The effect of different cold storage conditions on the compositions of extra virgin olive oil. *J Am Oil Chem Soc.* **91**, 1559-1570.

López- Vilalta, L. C. 2008. *Obtención del aceite de oliva virgen*. Editorial Agrícola Española, S.A.

Maia, F. 2014. Estudos de estabilidade oxidativa em azeites monovarietais. *Dissertação de Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar*. ESA/IPCB. Castelo Branco.

- Mailer, R. J., Ayton, J. 2010. Harvest-timing, sensory analysis and shelf life for optimal olive oil quality. Rural Industries Research and Development Corporation. Canberra.
- Mailer, R. J., Beckingham, C. 2006. Testing olive oil quality: chemical and sensory methods. Primefact 231.
- Manai, H., Mahjoub-Haddada, F., Oueslati, I., Daoud, D., Zarrouk, M. 2008. Characterization of monovarietal virgin olive oils from six crossing varieties. *Scientia Horticulture*. **115**, 252-260.
- Méndez, A.I., Falqué, E. 2007. Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. *Food Control*. **18**, 521-529.
- Montedoro, G. F. 1972. I costituenti fenólichi presenti negli oli vergini de oliva. Nota1: identificazione di alcuni acidi fenocili e loro potere antiossidante, S. T. A3, 177-186.
- Montedoro, G., Servilli, M., Baldioli, M., Miniati, E. 1992. Simple and hydrolyzable compounds in virgin olive oil - Their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by (HPLC), *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1571-1576.
- Monteleone, E., Caporale, G., Carlucci, A. 1998. Optimization of extra virgin olive oil quality. *J. Sci. Food Agric.* **77**, 31-37.
- Morales, M. A., Przybylski, R. 2000. Olive Oil Oxidation. In Ed. Harwood J.; Aparicio R.; Aspen Publishers, *Handbook of Olive Oil –Analysis and properties.*, Inc. Gaithersburg, 459-490. ISBN: 0-8342-1633-7.
- Morales, M. T., Aparicio, R., Rios, J.J. 1994. Dynamic headspace gas chromatographic method for determining volatiles in virgin olive oil. *J. Chromatogr. A*. **668**, 455-462.
- Morales, M. T., Luna, G., Aparicio, R. 2005. Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*, **91**(2), 293–301.
- Morello, J.R., Motilva, M.J., Mascini, M., Tovar, M.J., Romero, M.P. 2004. Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, **85**, 357-364.
- Moretto, E., Fett, R. 1998. Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais., São Paulo: Varela, 150.
- Olias, J.M., Del Barrio, A., Gutierrez, R. 1977. Componentes volatiles en el aroma del aceite de oliva virgen. *Jornal de Grasas y Aceites*.
- Oliveira, M., Oliveira L. 2000. *A Cortiça*. ISBN: 972-95525-1-7.
- Paiva-Martins, F., Garcia, B., Magalhães, J., Fregapane, G., Salvador, M.D. 2012. Composição química e valor nutricional de azeites virgens monovarietais portuguesas. *Atas Portuguesas de Horticultura, nº 21. VI Simpósio Nacional de Olivicultura, Mirandela*, 351-359.
- Pereira H 1988. Chemical-composition and variability of cork from *Quercus Suber* L. *Wood Sci Technol* **22**(3), 211–218.
- Pereira H, Lopes F, Graça, J 1996. The evaluation of the quality of cork planks by image analysis. *Holzforchung*, **50**(2), 111–115.

Peres, F., Henriques, L., Simões-Lopes, P., Pinheiro-Alves, M. 2009. Azeites da “Galega Vulgar” – efeito do loteamento e do armazenamento. *Atas Portuguesas de Horticultura*, nº 13. 186-191.

Peres, F., Luz, J. P., Fragoso, P., Gouveia, C., Vitorino, C., Amaro, C., Henriques, L., Coutinho, J., Pintado, C., Peres, C. Ferreira, A. 2010. Integrated production and quality of Galega olive oil. Integrated Protection of Olive Crops, IOBC/wprs Bull. **53**, 145-149.

Peres, F., Jelén, H.H., Majcher, M.M., Arraias, M., Martins, L.L., Ferreira-Dias, S. 2013. Characterization of aroma compounds in Portuguese extra virgin olive oils from Galega Vulgar and Cobrançosa cultivars using GC-O and GC-ToFMS. *Food Research International*. **54**, 1979 – 1986.

Peres, F. 2015. Influence of Enzymes and Technology on the Composition of “Cobrançosa” and “Galega Vulgar” Virgin Olive Oils. Tese apresentada para obtenção do grau de doutor em engenharia alimentar. Instituto Superior de Agronomia.

Peres, F., Martins, L., Mourato, M., Vitorino, C., Antunes, P., Ferreira-Dias, S. 2016. Phenolic compounds of “Galega Vulgar” and “Cobrançosa” olive oils along early ripening stages. *Food Chemistry* **211**, 51-58.

Pires, D. 2005. Estudo de valorização comercial do azeite de Trás-os-Montes e Alto Douro. Jornada do Azeite de Trás-os-Montes. Mirandela.

Prior, R.L., Wu, X. Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* **53** (10), 4290-4302

Procida, G., Giomo, A., Cichelli, A., Conte, L.S. 2005. Study of volatile compounds of defective virgin olive oils and sensory evaluation: a chemometric approach. *J. Sci. Food Agric.* **85**, 2175-2183.

Roginsky, V., Lissi, E. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry* **92**, 235-254.

Roncero, A. V. 1978. Les polyphenols de l'huile d'olive et leur influence sur les caracteristiques de l'huile, *Rev. Fr. Corps Gras.*, **25**, 21-26.

Rovellini, P., Azzolini, M., Cortesi, N. 1997. Tocoferoli e tocotrienoli in oli e grassi vegetali mediante HPLC. - *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **74**, 1-5.

Salvador, M.D., Aranda, F., Gomez-Alonso, F.S., Fregapane, G. 2003. Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: A study of five crop seasons. *Food Chemistry*, **80**, 359–366.

Santos, M. 2009. A influência da utilização de gás inerte na estabilidade oxidativa dos azeites virgens nos depósitos de armazenamento. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar – Tecnologia dos Produtos Vegetais. ISA/UTL. Lisboa.

Serrano, A., Beltrán, G., Bejaoui, M.A., García, F., Jiménez, B. 2017. Estimación de la vida útil de un aceite de oliva virgen extra de enlace de campaña. Efecto del tipo de envase. Comunicaciones Científicas Symposium Expoliva. Jaén (España). ISBN. 978-84-946839-1-6.

Servili, M., Montedoro, G. 2002. Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **104**, 602-613.

Sheppard, A. J., Pennington, J. A. T., Weihrauch, J. L. 1993. Analysis and distribution of vitamin E in vegetable oils and foods, In: Packer, L. and Fuchs, J., (eds), *Vitamin E in Health and Disease*, pp.9-31. Marcel Dekker, Inc., New York.

Simões-Lopes, P., Peres, M.F., Pinheiro-Alves, M.C., Cordeiro, A. 2009. Composição esterólica e em ácidos gordos de azeites monovarietais provenientes das regiões de Elvas, Castelo Branco e Santarém. *Atas Portuguesas de Horticultura, nº 13 III Simpósio Nacional de Olivicultura, Castelo Branco*, 203-208.

Tsimidou M., Papadopoulos, G., Boskou, D. 1992. Phenolic Compounds and Stability of Virgin Olive Oil. *Food Chem.* **45**, 141-144.

Tsimidou M. 1998. Polyphenols and Quality of Virgin Olive Oil in Retrospect. *Ital. J. Food Sci.* **10**, 99-116.

Vaz-Freire, L., Gouveia, J., Freitas, A. 2008. Analytical characteristics of olive oils produced by two different extraction techniques, in the Portuguese olive variety "Galega Vulgar" *Grasas y Aceites*, 59 (3), 260-266, ISSN: 0017-3495.

Velasco, J., Dobarganes, C. 2002. Oxidative Stability of Virgin Olive Oil. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **104**, 661-676.

Wang, S., Li, X., Rodrigues, R., Flynn, D. 2014. Packaging influences on olive oil quality: a review of the literature. *UC Davis Olive Center.* **108**, 193-197.

9. Apêndice

Avaliação da preferência do consumidor relativamente ao tipo de vedante utilizado no fecho de garrafas de azeite

No âmbito de uma tese de mestrado estudou-se a influência do material utilizado no fecho das garrafas na qualidade final do azeite virgem extra.

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da utilização de rolha de cortiça natural, como sistema de fecho de garrafas de vidro, na qualidade do azeite virgem ao longo do tempo de armazenamento. Este estudo relaciona dois importantes clusters ibéricos, o azeite e a cortiça, e corresponde a uma solicitação direta do produtor para investigação.

Toda a informação recolhida é confidencial e apenas se destina a ser utilizada no âmbito deste estudo. O preenchimento completo do questionário demora menos de 3 minutos.

CONSUMO DE AZEITE

É consumidor de azeite? *

- Sim
- Não

Tem preferência por algum tipo de azeite? *

- Modo de produção biológica
- Produção nacional
- Indiferente

Se, para uma mesma marca, na altura da compra de uma garrafa de azeite puder escolher entre uma garrafa fechada com cápsula metálica e uma outra fechada com rolha de cortiça, por qual das soluções apresentadas optaria? *

- Garrafa fechada com cápsula metálica.
- Garrafa fechada com cápsula de cortiça.
- Garrafa fechada com outro tipo de cápsula.

Garrafas de azeite com diferentes tipos de vedante



Relativamente à IMAGEM da garrafa de azeite com os diferentes tipos de vedante, qual é para si o que corresponde à sua preferência? *

- Rolha de cortiça revestida com cera de abelha.
- Rolha de cortiça com cápsula bartop.
- Cápsula metálica.
- Não é relevante.

Relativamente à FUNCIONALIDADE na abertura da garrafa, qual é o tipo de vedante que corresponde à sua preferência? *

- Rolha de cortiça revestida com cera de abelha.
- Rolha de cortiça com cápsula bartop.
- Cápsula metálica.
- Não é relevante.

Tendo em consideração os seguintes pressupostos:

- os resultados preliminares da presente investigação mostram que os dois tipos de vedantes se comportam de forma muito semelhante na maioria dos parâmetros analisados, isto é, a qualidade do azeite não é influenciada pelo tipo de material; - a cortiça é um produto natural e nacional; - a indústria da cortiça não cria resíduos, é neutra do ponto de vista energético e sustenta um importante ecossistema; - o ciclo de vida das rolhas de cortiça natural produz significativamente menos emissões de CO₂ que o das cápsulas

metálicas (e o das rolhas de plástico) - o custo financeiro dos dois tipos de vedantes é semelhante (Campos, 2009);

Como avalia a sua preferência relativamente à compra de azeite em garrafa fechada com cápsula metálica. *

1 2 3 4

Não me satisfaz Totalmente satisfeito

Como avalia a sua preferência relativamente à compra de azeite em garrafa fechada com rolha de cortiça. *

1 2 3 4

Não me satisfaz Totalmente satisfeito

INFORMAÇÃO GERAL

Género *

- Masculino
- Feminino

Idade *

Habilitações literárias *

Concelho de residência *

Comentários