



CLASSIFICAÇÃO DO AZEITE DE OLIVA OBTIDO DE AZEITONAS EM DIFERENTES ÍNDICES DE MATURAÇÃO, PRODUZIDAS NA REGIÃO SUDESTE DO BRASIL

Camilla Hauschild de Aragão¹ ; Adriano Freitas Lima² ; Helena Teixeira Godoy³

¹Graduanda em Engenharia de Alimentos – FEA/Unicamp; e-mail: camillaharagao@gmail.com

²Doutorando em Ciência de Alimentos – FEA/Unicamp; e-mail: AdrianoFreitasLima@hotmail.com

³Professora Titular do Departamento de Ciências de Alimentos – FEA/UNICAMP; e-mail: helenatg@unicamp.br

1. OBJETIVO

Devido ao crescimento da produção de azeite de oliva no Brasil, tornou-se extremamente necessária a caracterização desses azeites nacionais, assim, o presente trabalho tem como objetivo caracterizar os azeites das cultivares Arbequina, Abosana e Koroneiki provenientes da região Sudeste do Brasil em diferentes pontos de maturação, avaliando o efeito do amadurecimento das azeitonas sobre as possíveis alterações no óleo obtido, ajustando uma data ótima de colheita, de forma a obter produtos de qualidade.

Para isso, obteve-se o azeite de oliva dos diferentes cultivares e diferentes pontos maturação, realizou-se análises de acidez livre, extinção específica no ultravioleta, teor de gordura e umidade total dos frutos e determinou-se o perfil de ácidos graxos do óleo obtido através de cromatografia gasosa com detector FID.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente, foram colhidos de forma aleatória frutos das cultivares Koroneiki, Arbequina e Arbosana, de produtores locais na cidade de Delfim Moreira, Minas Gerais em duas safras (2019 e 2020).

Após isso, determinou-se a umidade dos frutos pela metodologia descrita pela AOAC 925.40 (AOAC, 1995), em estufa a 100°C até peso constante e também determinou-se o teor de gordura total por extração à quente de Soxhlet, que é descrita pelo Regulamento (CEE) nº 2568/91 da Comissão Europeia, de 11 de Julho de 1991 e posteriores alterações, que consiste na colocação da amostra seca obtida na umidade em refluxo com éter de petróleo até que todo o óleo seja retirado da amostra.

Extraiu-se o azeite com um extrator de bancada, onde os frutos foram moídos e depois permaneceram em velocidade baixa a 25°C por 30 minutos, e então prensados para separar o líquido da pasta de azeitona obtida. Centrifugou-se o líquido a 5000 rpm por 5 minutos a 7°C, favorecendo a separação do azeite, e então o armazenou em frascos âmbar em temperatura de -20°C, evitando possíveis alterações no azeite obtido.

Após extraído o azeite, determinou-se a acidez livre pela metodologia oficial descrita no anexo II do Regulamento (CEE) nº 2568/91, através de titulação, utilizando KOH e indicador fenolftaleína. A solução de KOH utilizada foi padronizada.

Determinou-se também o coeficiente de extinção específica pela metodologia descrita no anexo IX do Regulamento (CEE) nº 2568/91. As amostras foram diluídas em iso-octano e então realizadas as leituras no espectrofotômetro.

Para determinar o perfil de ácidos graxos dos azeites obtidos, usou-se a metodologia descrita pelo Regulamento Europeu N. o 2568/91 da comissão de 11 de Julho de 1991, anexo XB, método A, utilizando uma transesterificação a frio por meio de uma solução metanólica de hidróxido de potássio. O azeite para extração foi dissolvido em hexano e na solução metanólica de KOH. Ácido tricosenoico (23:0) foi utilizado como padrão interno. O padrão interno é adicionado para que seja possível determinar a quantidade de cada um dos ácidos graxos.

Então, em um vial foi recolhido o sobrenadante e injetado, no modo Split (1:100), no cromatógrafo gasoso com detector por ionização em chama (FID) com coluna capilar de sílica fundida DB-23 ((50%-Cyanopropyl)-methylpolysiloxane). O injetor estava a 250°C, o detector a 280°C, usou-se H₂ como gás de arraste, a um fluxo de 1,0 mL min⁻¹ com uma taxa de fluxo de gás no detector de 30:30:300 mL min⁻¹

(H₂:N₂:ar sintético). Um rampa de temperatura programada foi utilizada para o procedimento, totalizando 39 min de corrida.

A identificação dos ácidos graxos e cálculo dos fatores de correção cromatográficos foram feitas a partir de uma mistura padrão de ácidos graxos (Supelco 37 – Fame Mix) e para a quantificação considerou-se a porcentagem relativa das áreas cromatográficas (g AG/100g de AG), bem como em massa de amostra extraída, levando em conta a massa de ácido tricosenoico adicionado (mg kg⁻¹).

Por fim, foi aplicada uma análise de variância (ANOVA) nos resultados das análises de umidade, gordura total, perfil de ácidos graxos e acidez total em diferentes cultivares e pontos de maturação, levando em conta o cumprimento ou não da homogeneidade de variâncias da ANOVA. Todos os testes foram realizados com um nível de significância de 5%.

Realizou-se, também, uma análise de componentes principais (PCA). A PCA foi aplicada de forma exploratória, para avaliar possíveis relações entre os teores de ácidos graxos nas cultivares e nas maturações, nos permitindo reconhecer padrões nos dados, os inserindo em um espaço multidimensional.

3. RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados das análises de umidade e acidez média encontram-se na tabela 1 abaixo. Os números das codificações representam o estágio de maturação, de forma que 3 é o primeiro, 4 o segundo e 5 o terceiro. As letras mostram o cultivar, ou seja, amostras com a letra K são do tipo Koroneiki, com a letra Q são do tipo Arbequina e com a letra S são do tipo Arbosana.

Tabela 1: Resultado das determinações de umidade e acidez (n = 3; média ± desvio padrão)

Amostra	Umidade Média do ano de 2019 (%)	Umidade média do ano de 2020 (%)	Acidez Média do ano de 2019	Acidez Média do ano de 2020
3K	68,418±0,090 ^{a,B}	74,290±1,201 ^{b,B}	0,19±0,00 ^{a,A}	0,18±0,01 ^{b,A}
4K	67,011±0,252 ^{a,A}	69,225±1,723 ^{a,A}	0,24±0,00 ^{b,B}	0,21±0,02 ^{a,B}
5K	72,350±0,152 ^{a,C}	68,299±0,839 ^{a,A}	0,29±0,00 ^{b,C}	0,19±0,00 ^{a,AB}
Valor de P	<0,001	0,003	<0,001	0,014
3Q	70,853±0,008 ^{c,A}	69,252±0,116 ^{a,AB}	0,19±0,00 ^{a,A}	0,15±0,00 ^{a,A}
4Q	75,321±0,052 ^{c,B}	71,365±2,070 ^{a,B}	0,19±0,00 ^{a,A}	0,20±0,00 ^{a,B}
5Q	76,970±0,106 ^{c,C}	66,968±0,785 ^{a,A}	0,19±0,00 ^{a,A}	0,19±0,01 ^{a,B}
Valor de P	<0,001	0,017	0,188	<0,001
3S	68,790±0,086 ^{b,A}	67,589±0,082 ^{a,B}	0,26±0,03 ^{b,A}	0,19±0,01 ^{a,A}
4S	69,492±0,058 ^{b,B}	68,811±0,033 ^{a,C}	0,29±0,03 ^{c,A}	0,19±0,00 ^{a,A}
5S	73,743±0,020 ^{b,C}	66,384±0,785 ^{a,A}	0,19±0,00 ^{a,A}	0,20±0,00 ^{a,A}
Valor de P	<0,001	0,002	<0,001	0,119

P > 0,05 através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtivos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA). As médias foram comparadas usando o teste de Tukey pois uma igualdade de variâncias pôde ser assumida; ^{A-C} Para cada valor de gordura, entre as maturações e na mesma cultivar, valores médios com letras maiúsculas diferentes diferem significativamente (P < 0,05); ^{a-c} Para cada valor de gordura, no mesmo ponto de maturação e entre as cultivares, valores médios com letras minúsculas diferentes diferem significativamente (P < 0,05).

A análise de umidade é muito importante pois trás como resultado uma característica do fruto que influenciará muito nos subprodutos obtidos. Pela tabela, vemos que tanto as amostras de 2019 quanto nas de 2020 tiveram amostras do tipo Arbequina como a de maior umidade. O teor de umidade dos frutos é influenciado pelas características deles e também pela região de colheita. Durante as safras de 2019 e 2020, a região apresentou grandes quantidades de chuva, que geram estresse hídrico no cultivo e por isso os frutos acumulam grandes quantidades de água. Quando for extraído o azeite, essa umidade excessiva será prejudicial, já que podem promover a hidrólise de alguns constituintes, que causará uma redução da concentração de compostos importantes, como os voláteis, que são responsáveis pelo aroma característico (SILVA et al., 2012).

O resultado da análise de acidez livre nos permite classificar o azeite nos parâmetros de qualidade, já que a hidrólise dos triacilgliceróis ocorre quando estes são submetidos à temperatura e/ou interação

com adulterantes. Observando os resultados obtidos, podemos caracterizar todos os azeites como azeites virgem extra de acordo com os limites de acidez livre estabelecidos pelo Regulamento (CE) número 1830/2015 de 8 de Julho de 2015.

Na figura 1 abaixo, fica claro que a evolução da maturação reduz o teor de gordura dos frutos, então caso o objetivo seja realizar a extração do azeite com melhor rendimento possível, é necessário se atentar isso. Porém, caso o objetivo seja obter um azeite com a melhor qualidade possível, o rendimento não se torna um fator decisivo e é necessário avaliar as características de qualidade do óleo extraído.

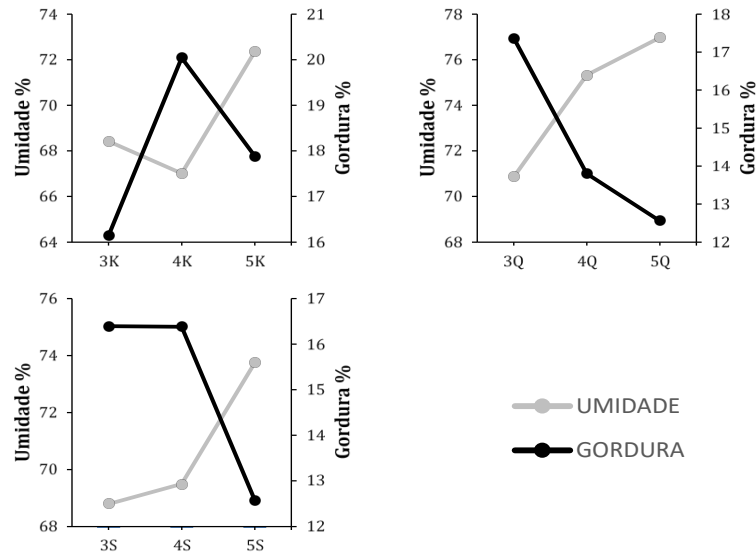


Figura 1 – Relação da Umidade e Gordura durante a maturação dos frutos (n = 3; média ± desvio padrão).

As análises em espectrofotômetro no UV a 232 e 268 (Tabela 2) fornecem informações sobre o estado de oxidação dos ácidos graxos majoritários no azeite, então conseguimos identificar adulterações e distinguir a categoria do azeite. Como os produtos de oxidação absorvem num comprimento de onda de 286 nm, uma elevada absorbância nesse comprimento de onda indica intensa oxidação ou estresse térmico. Os peróxidos formados na oxidação primária absorvem a 232nm. A legislação vigente classifica os azeites obtidos de acordo com os valores de K e ΔK como azeites de oliva extra virgem.

Tabela 2: Resultado do “Coeficiente de extinção” K_{268} , K_{232} e ΔK para azeites obtidos de amostras colhidas no ano de 2019 (n = 3; média ± desvio padrão)

Amostra	3K	4K	5K	3Q	4Q	5Q	3S	4S	5S
K_{268nm}	0,13±0,01	0,16±0,01	0,16±0,02	0,11±0,00	0,08±0,01	0,10±0,01	0,13±0,01	0,16±0,00	0,16±0,01
K_{232nm}	1,29±0,04	1,31±0,09	1,51±0,03	1,37±0,02	1,01±0,05	1,47±0,07	1,46±0,09	1,62±0,04	1,64±0,05
ΔK	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

Devemos analisar principalmente o perfil de ácidos graxos, isso porque alguns ácidos graxos são precursores de aromas nos azeites por conta da lipoxigenase que ocorre quando os ácidos graxos (principalmente os poli-insaturados, como linoleico e linolênico) entram em contato com as enzimas presentes na polpa e no caroço quando tritura-se o fruto para a obtenção do azeite, o que os transforma em hidroperóxidos, aldeídos e outros compostos voláteis que desempenham papel importante nos aspectos sensoriais do azeite (MALHEIRO; CASAL; RODRIGUES; RENARDC; PEREIRA, 2018).

A figura 2 abaixo mostra os níveis em ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) e polinsaturados (AGP) nos azeites em diferentes tipos de cultivar e níveis de maturação. Visivelmente nota-se uma maior composição em AGM para todas as amostras. Os AGP apresentaram maiores valores em níveis maiores de maturação, compensando uma queda no teor de AGM.

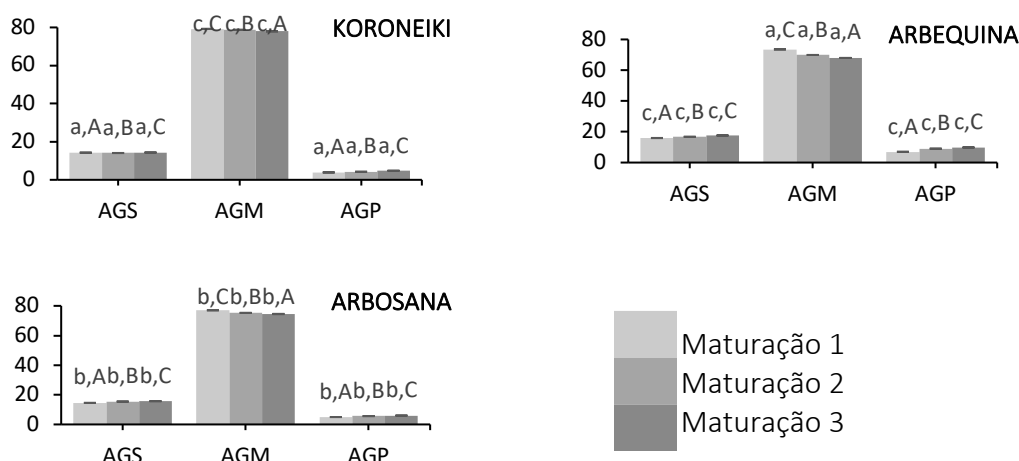


Figura 2 - Frações do perfil em ácidos graxos presentes nos azeites extra virgem nos diferentes pontos de maturação (n = 3; média \pm desvio padrão). Entre maturações e na mesma cultivar, valores médios com letras maiúsculas diferem significativamente (P < 0,05). Entre as cultivares, na mesma maturação, valores médios com letras minúsculas diferem significativamente (P < 0,05).

Pode-se observar, também, que a cultivar Koroneiki apresenta uma maior estabilidade dos teores de ácidos graxos durante o período de amadurecimento dos frutos, o que significa que ela é promissora quando se deseja realizar colheitas tardias, diferente das demais, que apresentaram quedas mais significativas nos teores de AGM.

O ácido graxo majoritário no azeite de oliva é o ácido oleico (C18:1) e apresentou diferenças significativas (P<0,05) quando analisado entre os cultivares e entre as maturações, sendo que seu maior teor foi no primeiro ponto de maturação da cultivar Koroneiki (78 g AG . 100g AG⁻¹) e a com menor teor foi o terceiro ponto de maturação do cultivar Arbosana. Observou-se, também, que com a evolução da maturação este ácido apresenta uma tendência a diminuir.

Enquanto isso, os níveis de ácido linoleico (C18:2) apresentaram um aumento com a evolução da maturação, sendo que a cultivar Koroneiki, que foi a com maior teor de ácido oleico, foi a que apresentou menor nível de C18:2 e a Arbosana, que teve menor teor de ácido oleico, apresentou o maior nível.

Pela análise de componentes principais (Figura 3) conseguimos visualizar essa diferenciação. Três grandes subgrupos são formados, e então torna-se claro que a Koroneiki apresentou menores distinções durante a maturação. Arbequina e Arbosana tiveram uma redução nos teores de ácido oleico, entretanto a Arbequina foi a cultivar que preservou os teores de C18:2.

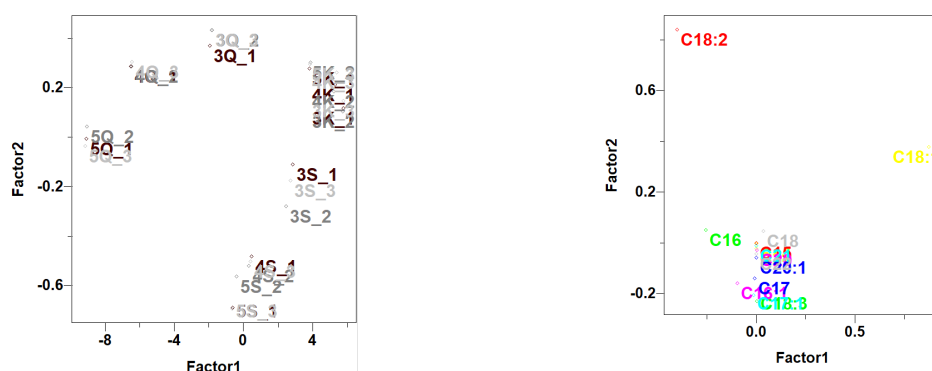


Figura 3 – Análise de Componentes Principais obtida a partir do perfil de ácidos graxos em diferentes cultivares e diferentes pontos de maturação. As componentes principais explicaram 99,27% da variância total dos dados.

4. CONCLUSÕES

Observou-se que a maturação das azeitonas é extremamente importante para a obtenção de azeites de oliva de qualidade superior, já que pode promover a formação de novos compostos aromáticos, entretanto diminuir o rendimento final do produto.

Avaliações mais profundas poderão indicar novos marcadores, que por sua vez podem ser decisivos na escolha do índice de maturação adequado.

5. REFERÊNCIAS

- AOAC. Official methods of analysis of AOAC International, 16th edition. **1995. AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International; Arlington; USA, 1995.**
- APARICIO, Ramón. **Caracterización del aceite de oliva: Procedimientos matemáticos aplicables en el análisis químico.** In: Manual del aceite de oliva: Madrid: MundiPrensa, 2003b. p.281- 344
- AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; MINAZZI RODRIGUES, R. S.; BADOLATO, E. S. G. **Azeite de oliva: incidência de adulterações entre os anos de 1993 a 2000.** Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 61, n. 2, p. 69-75, 2002
- BALLUS, C. A. et al. **A quantitative study on the phenolic compound, tocopherol and fatty acid contents of monovarietal virgin olive oils produced in the southeast region of Brazil.** Food Research International, v. 62, p. 74–83, ago. 2014.
- BARONI, Naiara Aparecida Franco. **Avaliação do potencial antioxidante in vitro de azeites de oliva identificados como extra virgem produzidos no Brasil.** 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos, Unicamp, Campinas, 2015. Disponível em: <<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/254636>>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- HERMOSO, M. et al. Elaboración de aceite de oliva de calidad. **Obtención por el sistema de dos fases. Informaciones técnicas,** v. 61, p. 98, 1991.
- JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. **Regulamento (CEE) nº 2568/91. Relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados,** 1991.
- JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA. **Regulamento (CEE) no 1830/2015. Relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados,** 2015.
- MALHEIRO, Ricardo; CASAL, Susana; RODRIGUES, Nuno; RENARDC, Catherine M.G.C.; PEREIRA, José Alberto. **Volatile changes in cv. Verdeal Transmontana olive oil: From the drupe to the table, including storage.** Food Research Internacional, Bragança, Portugal, p. 5-6, 2018
- MATIAS, A. C.; LASTA, F. D. **Calidad y estabilidad del aceite de oliva. Olivo: Estación Experimental Agropecuária Catamarca,** 2001. p. 118-123.
- MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. **Aspectos de azeites de oliva e de folhas de oliveira.** Alim. Nutr., Araraquara, v. 23, n. 4 , p. 537-548, out./dez. 2012
- PEIXOTO, Eliane R. M.; SANTANA, Djalva M. N.; ABRANTES, Shirley. **Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva - Proposta para atualização da legislação brasileira.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol. 18 n. 4 Campinas Oct./Dec. 1998. <Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000400017>. Acesso em: 11 de janeiro de 2020
- POPPITT, S. D., Kilmartin, P., Butler, P., & Keogh, G. F. (2005). **Assessment of erythrocyte phospholipid fatty acid composition as a biomarker for dietary MUFA, PUFA or saturated fatty acid intake in a controlled cross-over intervention trial.** *Lipids in Health and Disease*, 4, 30.
- Regulamento Europeu, **REGULAMENTO (CEE) N. o 2568/91 DA COMISSÃO de 11 de Julho de 1991,** anexo XB, método A
- SIMOPOULOS, A. P. (1999). **Essential fatty acids in health and chronic disease.** *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 560–569
- SILVA, Marco D.R. Gomes da et al. **Olive Oil Composition: volatile compounds.** Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties And Bioconversions, Évora, Portugal, p. 23-24, 1 fev. 2012. InTech.
- SOUTO, I. **Minas entra na rota da produção de azeite.** Disponível em: <https://www.em.com.br/app/noticia/agropecuario/2017/05/29/interna_agropecuario,872461/azeiton-as-de-minas-uai.shtml>. Acesso em: 27 de janeiro de 2020.

6. APOIO

