



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

**AVALIAÇÃO DA PUREZA E DE POSSÍVEIS ADULTERAÇÕES DE AZEITES DE OLIVA
COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

Natani de Paula Lima **Amaro**^{1a}; Ana Maria Rauen de Oliveira **Miguel**^{2b}; Claudia A. Silva
Almeida^{2b}; Silvia Amélia Verdiani **Tfouni**^{2b}; Sueli Regina **Baggio**^{2c}

¹Faculdade de Jaguariuna (FAJ); ²Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL)

RE13204

RESUMO: Foram avaliadas 72 amostras de azeite de oliva extra virgem, sendo 34 marcas com 2 lotes diferentes e 4 marcas com um único lote. As amostras foram coletadas no comércio da cidade de Campinas-SP. Foram feitas avaliações para detectar possíveis adulterações com outros óleos vegetais através da sua composição em ácidos graxos, determinação do teor de fitosteróis e determinação de absorvidade ou extinção específica. Em relação à extinção específica, 22% das amostras apresentaram valores acima dos limites tolerados pela legislação brasileira para os três parâmetros: K232, K270 e ΔK . Os resultados de fitosteróis indicaram que 33% do total das amostras avaliadas apresentaram teores de esteróis totais acima dos limites estabelecidos para azeite de oliva. Quanto aos ácidos graxos, 18% das amostras apresentaram resultados em desacordo com os limites de tolerância permitidos pela legislação brasileira (MAPA). Das amostras analisadas no presente trabalho, 19% apresentaram valores em desacordo com a legislação para todos os parâmetros avaliados, indicando possíveis adulterações com outros óleos vegetais.

Palavras-chaves: Azeite de oliva, pureza, adulteração, Brasil.

ABSTRACT: In the present study, 72 samples of extra virgin olive oil were evaluated (2 batches of 34 brands and other 4 brands in a single batch). Samples were commercially available in the city of Campinas-SP. Evaluations were performed to detect possible adulteration by addition of other vegetable oils through the fatty acid composition, determination of phytosterols and absorptivity, or specific extinction. Regarding specific extinction, 22% of the samples presented values above the limits permitted by Brazilian regulation for the three parameters: K232, K270 and ΔK . Results for total sterols indicate that 33% of the evaluated samples presented contents above the limits established for olive oil. As for fatty acid composition, 18% of the samples tested showed results that were not in accordance with the tolerances permitted by Brazilian regulation (MAPA). From the total of samples analyzed in the present work, 19% presented values that do not comply with regulations indicating possible adulteration with other vegetable oils.

Key-words: Olive oil, purity, adulteration, Brazil.

^aBolsista CNPq; Graduação em Engenharia de Alimentos; na.amaro.20@hotmail.com; ^bColaborador; ^cOrientador.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

1 INTRODUÇÃO

O azeite de oliva bruto é obtido do fruto da oliveira (*Olea europaea* L.) por esmagamento, prensagem ou centrifugação. O azeite bruto apresenta maior estabilidade oxidativa e reconhecidas propriedades nutricionais e terapêuticas, que se distinguem dos óleos vegetais comestíveis, sendo considerado mais nobre que todos os demais (Moreda, 2010). Em função disso, o valor comercial dos azeites de oliva cresceu bastante e adicionalmente aos maiores lucros obtido, uma maior produção de azeites de oliva demanda a existência de controle de qualidade mais rígido do produto que preserve seus atributos positivos durante toda a cadeia produtiva, desde colheita até as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Os controles aplicados também devem evitar a ocorrência de problemas de adulteração, cada vez mais críticos, principalmente no Brasil (Caponio et al., 2005). Vários trabalhos publicados comprovam a alta incidência de adulterações em azeite de oliva, sendo que no Brasil a mais comum é a adição de outros óleos vegetais de menor valor comercial, especialmente quando o produto importado é embalado no país (Badolato et al., 1981; Aued-Pimentel et al., 2002; Aued-Pimentel et al., 2008; Fasciotti & Pereira Neto, 2010). O objetivo desse trabalho foi analisar amostras de azeites de oliva, quanto à adulteração com outros óleos vegetais, através da sua composição em ácidos graxos, determinação do teor de fitosteróis e determinação de absorvidade ou extinção específica, comparando os resultados obtidos com os requisitos de classificação estabelecidos na Instrução Normativa IN 1/2012 – Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva do MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2012).

2 MATERIAL E MÉTODOS

- **Amostras:** Foram analisadas 72 amostras de azeite de oliva extra virgem, sendo 34 marcas com 2 lotes diferentes e 4 marcas com um único lote. As amostras foram coletadas no comércio da cidade de Campinas, SP.

- **Determinação da composição em ácidos graxos:** uma alíquota do extrato lipídico contendo aproximadamente 400 mg de lipídios foi seca em evaporador rotatório, seguida da transmetilação realizada de acordo com o método de Hartman & Lago (1973), usando solução de cloreto de amônia e ácido sulfúrico em metanol como agente esterificante. Análise cromatográfica: a técnica empregada foi a cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (CG-FID) utilizando



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

uma coluna capilar CP-SIL 88 (100 m x 0,25 mm i.d., 0,20 μ m de filme). A identificação dos ácidos graxos foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos ácidos graxos das amostras e padrões e co-cromatografia. A quantificação foi realizada por normalização de área e os resultados foram expressos em g/100g de amostra.

- **Absortividade ou extinção específica:** foi utilizado o método oficial da AOCS (Firestone, 2007). O azeite de oliva foi dissolvido em solvente apropriado e a determinação da extinção específica da solução foi medida em espectrofotômetro na região do ultravioleta, com comprimento de onda específico em relação ao solvente puro. Essa absorção foi expressa como extinção específica $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ (que corresponde a extinção de uma solução de óleo a 1% no solvente especificado na cubeta de 1 cm). Para a leitura foram utilizados os comprimentos de onda de 232 e 270 nm.

- **Determinação de fitosteróis:** o método utilizado foi de acordo com Almeida (2009). Uma alíquota de 0,3 g de amostra de azeite de oliva foi saponificada com 10 mL de KOH 3% alcoólico em banho-maria a 50°C por 3 horas. Após a saponificação, a amostra foi extraída quatro vezes com 10 mL de hexano. As frações de hexano foram coletadas em tubo de ensaio e o extrato foi seco completamente sob fluxo de nitrogênio comercial. Ao extrato seco foi adicionado 1 mL de padrão interno para posterior injeção no cromatógrafo. Análise cromatográfica: a técnica empregada foi a GC-FID utilizando uma coluna capilar fase estacionária 5% Fenil 95 % dimetilpolisiloxano, 30 m, 0,25 mm d.i., 0,25 μ m de filme. A identificação dos picos de fitosteróis foi por comparação dos tempos de retenção dos padrões com os tempos de retenção das amostras e por co-cromatografia. A quantificação foi realizada por padronização interna, utilizando dihidrocolesterol como padrão interno.

- **Análise dos resultados:** foram aplicados os tratamentos estatísticos média, desvio padrão, coeficiente de variação, valores máximos e mínimos para os resultados obtidos. Também foi feita uma comparação de dados com os requisitos mínimos de identidade e qualidade estabelecidos na Instrução Normativa IN 1/2012 do MAPA.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras analisadas no presente trabalho foram adquiridas como sendo de azeite de oliva extra virgem.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

A determinação da extinção específica é uma ferramenta importante para a avaliação do estado oxidativo de azeites e também pode auxiliar na detecção de possíveis adulterações e/ou fraudes em azeites de oliva.

A legislação brasileira estabelece, para os azeites de oliva extra virgem e virgem os seguintes limites de tolerância para a extinção específica no ultravioleta:

Extinção Específica	Azeite Extra virgem	Azeite Virgem
232 nm (K232)	$\leq 2,50$	$\leq 2,60$
270 nm (K270)	$\leq 0,22$	$\leq 0,25$
ΔK (coeficiente de variação)		$\leq 0,01$

Na tabela 1 encontram-se as variações dos resultados da extinção específica obtidos nas amostras de azeite extra virgem analisadas no presente trabalho.

Tabela 1. Teores de extinção específica em amostras de azeite de oliva.

Extinção Específica	Varição Média (DP)
K 232	1,76 (0,02) - 6,89 (0,08)
K 270	0,14 (0,00) - 3,93 (0,04)
ΔK	0,00 (0,00) - 0,61 (0,00)

Os resultados de extinção específica variaram para K232, K270 e ΔK , respectivamente, de 1,76 a 6,89, de 0,14 a 3,93 e de 0,00 a 0,61. Do total de amostras analisadas, 33% apresentaram valores acima do limite tolerado para K232, 43% para K270 e 22% para os três parâmetros: K232, K270 e ΔK . Esses resultados podem ser indicação de alterações no estado oxidativo dessas amostras, levando ao comprometimento da qualidade das mesmas. Também pode ser indicação de possível adulteração desses azeites pela adição de óleos vegetais refinados.

Referente aos ácidos graxos, o azeite de oliva é considerado uma das maiores fontes de ácidos graxos monoinsaturados na dieta humana.

Na sua composição encontramos 2,5 e 6 vezes a quantidade de ácidos graxos monoinsaturados presente em alimentos que também contêm alto teor desse ácido graxo como as



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

castanhas e o abacate, respectivamente, quando comparadas às mesmas quantidades de alimento.

Em média 55 a 83% do óleo está sob a forma de ácido oléico (C18:1, n-9), enquanto frações menores de ácidos graxos monoinsaturados estão representadas pelo ácido palmitoléico (C 16:1, n-7), heptadecenóico (C 17:1, n-10) e eicosenóico (C 20:1, n-11). O ácido linoléico (18:2, n-6) representa 3 a 21% do produto e o ácido α -linolênico (C 18:3, n-3) até 1%.

Na Tabela 2 estão expressos os limites de tolerância permitidos pela legislação brasileira (MAPA) para os ácidos graxos e as variações obtidas nas amostras analisadas no presente trabalho.

Tabela 2. Composição de ácidos graxos em azeites de oliva extra virgem e virgem.

Ácido graxo	Limites de Tolerância (%) (MAPA)	Varição obtida (%)
C 14:0	< 0,05	nd - 0,10*
C 16:0	7,5 - 20,0	7,60 - 15,14
C 16:1	0,3 - 3,5	0,13 - 1,93*
C 17:0	< 0,3	nd - 0,13
C 17:1	< 0,3	nd - 0,29
C 18:0	0,5 - 5,0	1,72 - 4,37
C 18:1	55,0 - 83,0	26,13 - 76,50*
C 18:2	3,5 - 21,0	4,03 - 46,81*
C 18:3	< 1,0	0,47 - 5,07*
C 20:0	< 0,6	0,26 - 0,47
C 20:1	< 0,4	0,16 - 0,85*
C 22:0	< 0,2	0,08 - 0,49*
C 24:0	< 0,2	nd - 0,17
<i>Trans fatty acids</i>		
C 18:1 T	< 0,05	nd - 0,10*
C 18:2 T + C 18:3 T	< 0,05	nd - 1,61*

*Amostras de azeite de oliva extra virgem com valores divergentes quanto aos limites estabelecidos pela legislação brasileira (MAPA).



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Algumas amostras apresentaram divergências quanto aos limites estabelecidos pela legislação brasileira para os ácidos graxos C14:0, C16:1, C18:1, C18:2, C18:3, C20:1, C22:0 e os isômeros *trans* C18:1*T* e C18:2*T* + C18:3*T* (*). Os resultados mostraram que 21% do total das amostras analisadas apresentaram valores abaixo dos limites mínimos para o C16:1 e C18:1 e 21% apresentaram valores acima dos limites máximos para C14:0, C18:2, C18:3, C20:1, C22:0 e os isômeros *trans* C18:1*T* e C18:2*T* + C18:3*T*. Do total de amostras, 18% apresentaram valores abaixo e acima dos limites mínimos e máximos estabelecidos pela legislação brasileira.

As alterações observadas nos limites de tolerância para os parâmetros de ácidos graxos em várias amostras de azeite de oliva extra virgem podem ser indicação de possíveis adulterações desses azeites com outros tipos de óleos vegetais.

Na tabela 3 encontram-se as variações dos resultados de fitosteróis obtidos nas amostras de azeite extra virgem analisadas no presente trabalho.

Tabela 3. Teores de fitosteróis (mg/kg) obtidos em azeites de oliva extra virgem.

Fitosteróis	Varição (mg/kg) Média (DP)
Campesterol	28,4 (1,3) - 340,67 (10,28)
Estigmasterol	29,89 (0,95) - 592,23 (18,37)
B-Sitosterol	1.010,1 (25,0) - 2.682,1 (29,2)
Esteróis Totais	1.074,7 - 2.836,0

Segundo a Instrução Normativa Nº 1, de 30 de janeiro de 2012 (MAPA), o valor mínimo para os esteróis totais é de 1.000 mg/kg para azeite de oliva virgem, azeite de oliva e azeite de oliva refinado. Para o óleo de bagaço de oliva o valor mínimo é de 1.600 mg/kg e para o óleo de bagaço de oliva refinado é de 1.800 mg/kg.

Das amostras analisadas, vinte e três amostras apresentaram teores de esteróis totais na faixa de classificação para óleos de bagaço de oliva, enquanto que uma amostra apresentou teor abaixo de 1.000 mg/kg. Portanto, esses resultados mostraram que 33% do total das amostras de azeite de oliva extra virgem podem estar adulterados com outros tipos de óleos vegetais.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos 19% das amostras de azeite de oliva extra virgem analisadas no presente trabalho apresentaram valores em desacordo com a legislação brasileira para os parâmetros avaliados, extinção específica (K232, K270 e ΔK), composição de ácidos graxos e esteróis totais. Portanto, esses resultados indicam possíveis adulterações de azeite de oliva extra virgem com óleos vegetais refinados.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica e a FAPESP (Processo 2011/10966-4) pelos recursos concedidos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, C.A.S. **Avaliação dos principais fitosteróis em óleos vegetais e azeites**. Campinas – SP, 2009. 100p. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

Aued-Pimentel, S.; Takemoto, E.; Minazzi-Rodrigues, R.S.; Badoloto, E.S.G. Azeite de oliva: incidência de adulterações entre os anos de 1993 a 2000. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.61 n.2, p. 69-75, 2002.

Aued-Pimentel, S.; Takemoto, E.; Kumagai, E.E.; Cano, C.B. Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicerídeo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. **Química Nova**, v.31, n.1, p. 31-34, 2008.

Badoloto, E.S.G.; Durante, F.; Almeida, M.E.W.; Silveira, N.V. Óleo de oliva – Avaliação de sua qualidade. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.41, n.1, p. 63-70, 1981.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa 1, de 30 de janeiro de 2012. Regulamento Técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 01 de fevereiro de 2012.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

Caponio, F. et al. Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage. **European Food Research Research And Technology**, v.221, n.1/2, p. 92-98, 2005.

Fascioti, M.; Pereira Neto, A.D. Optimization and application of methods of triacylglycerol evaluation for characterization of olive oil adulteration by soybean oil with HPLC-APCI-MS-MS. **Talanta**, v.81, p. 1116-1125, 2010.

Firestone, D. (Ed.). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society. 5th ed. rev. Champaign: **AOCS. 2007**. met. Ce 1e - 91, Ce 1f - 96, Ce 1- 62. Current through Revision 1, 2008.

Hartman, L.; Lago, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.8, p. 475-481, 1973.

Moreda, W. Aceite de oliva: caracterización, calidad y control de fraude. SIMPÓSIO INTERNACIONAL TENDÊNCIAS E INOVAÇÕES EM TECNOLOGIA DE ÓLEIOS E GORDURAS, 5., 2010, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, 2010.