



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE
TECNOLOGIA, INFRAESTRUTURA E
TERRITÓRIO (ILATIT)**

ENGENHARIA QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS AZEITES
EXTRAVIRGEM COMERCIALIZADOS NA TRÍPLICE FRONTEIRA**

LETICIA MARIA SIMIÃO SANTOS

Foz do Iguaçu
2020

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS AZEITES
EXTRAVIRGEM COMERCIALIZADOS NA TRÍPLICE FRONTEIRA**

LETICIA MARIA SIMIÃO SANTOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Tecnologia, Infraestrutura e Território da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcela Boroski
Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Nepomoceno Kapp

LETICIA MARIA SIMIÃO SANTOS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS AZEITES
EXTRAVIRGEM COMERCIALIZADOS NA TRÍPLICE FRONTEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto Latino-Americano de Tecnologia,
Infraestrutura e Território da Universidade
Federal da Integração Latino-Americana, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcela Boroski
Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Nepomoceno
Kapp

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcela Boroski
UNILA

Prof^a. Dr^a. Marlei Roling Scariot
UNILA

Prof^a. Dr^a. Aline Theodoro Toci
UNILA

Foz do Iguaçu, 17 de dezembro de 2020.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha Orientadora Prof^a. Dr^a. Marcela Boroski, por todo incentivo e por todas as oportunidades e projetos que foram disponibilizados ao decorrer deste período acadêmico, com certeza levarei para a vida todos os momentos compartilhados e todo o conhecimento transmitido.

Agradeço ao meu coorientador Prof. Dr. Marcelo Nepomoceno Kapp, por ter entrado neste projeto e ter colaborado de maneira ímpar com a pesquisa.

À toda minha família, por acreditarem no meu potencial e não deixarem os momentos de tristeza me abalarem, sempre com uma visão positiva, comemorando cada vitória junto comigo. Em especial à minha mãe Adriane Cristina Simião, por sempre estar ao meu lado dando todo suporte, carinho maternal, e todas as condições necessárias para que o sonho da faculdade se tornasse realidade.

Aos meus colegas da faculdade, em especial meu querido amigo Cristian Acker Godoy, por todo conhecimento compartilhado, todos os momentos de risada em meio a correria do dia a dia, e pela amizade de sempre.

Agradeço ao meu companheiro Guilherme Buzzi, por sempre me escutar e dar os melhores conselhos em todos os momentos.

Agradeço imensamente à Deus, por ter me concedido saúde, força, determinação e tranquilidade para passar por todos os momentos, e aprender um pouco mais com cada um deles.

Desta forma, meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram de alguma forma na minha trajetória acadêmica, vocês foram essenciais em cada passo dado para chegar até esse momento.

RESUMO

Sabe-se que a fraude alimentar é uma das principais ameaças à saúde pública, podendo assumir proporções consideráveis na economia, sociedade, política e na saúde dos consumidores. Diante desse contexto, a credibilidade na identidade dos produtos alimentícios é de extrema importância, desde a matéria-prima até a sua comercialização. Este trabalho teve como objetivo estabelecer metodologias analíticas para a identificação da presença de adulteração em azeites de oliva extravirgem e aplicá-las na avaliação da qualidade de azeites de oliva extravirgem comercializados na região da tríplice fronteira. Foram realizadas análises de determinação da composição e qualidade dos azeites de oliva extravirgem, sendo elas o índice de acidez e determinação do coeficiente de extinção específica por absorção na região do ultravioleta. Os perfis de ácidos graxos foram determinados por cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) e os compostos orgânicos voláteis extraídos por microextração em fase sólida (MEFS) seguido de análise por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Foram avaliadas 22 amostras de azeite de oliva extravirgem e 14 amostras de óleos de origem animal e vegetal, para avaliação de possíveis fontes de adulteração. Para as marcas de azeites de oliva extravirgem avaliadas, o índice de acidez encontra-se fora do padrão estabelecido pela legislação para 13,6% das amostras. Para os valores de extinção específica das amostras, foi constatado que somente 36% das amostras apresentaram resultados em concordância com o preconizado pela legislação brasileira. A análise de perfis de ácidos graxos indicou que o ácido oléico (C18:1n-9c) é o ácido graxo presente em maior concentração nas amostras de azeite de oliva extravirgem não adulteradas, mostrando um comportamento inverso com relação aos ácidos linolênico (C18:2n-6c) e linoleico (C18:3n-3). A análise de ácidos graxos fornece a informação mais confiável com relação a presença de adulteração, e considerando os resultados obtidos, 31,8% das amostras avaliadas encontram-se adulteradas, possivelmente com a adição de óleo de soja. Esta hipótese foi levantada em razão dos valores elevados do ácido linolênico (C18:2n-6c), encontrado em todas as amostras adulteradas. A análise dos componentes principais dos dados de compostos orgânicos voláteis indicou um agrupamento das amostras adulteradas e não adulteradas, de acordo com o seu país de origem, confirmando um padrão existente nas amostras.

Palavras-chave: Perfil de ácidos graxos; compostos orgânicos voláteis; azeite extravirgem; adulteração.

Abstract

It is known that food fraud is one of the main threats to public health, and can take on considerable proportions in the economy, society, politics and in the health of consumers. In this context, credibility in the identity of food products is of utmost importance, from the raw material to its commercialization. This study aimed to establish analytical methodologies for identifying the presence of adulteration in extra virgin olive oils and then in assessing the quality of extra virgin olive oils marketed in the triple border region. Analyzes were carried out to determine the composition and quality of extra virgin olive oils, which are the acidity index and determination of the specific extinction coefficient by absorption in the ultraviolet region. The fatty acid profiles were determined by gas chromatography with flame ionization detector (CG-DIC) and the volatile organic compounds extracted by solid phase microextraction (MEFS) followed by analysis by gas chromatography coupled with mass spectrometry (CG-MS). Twenty two samples of extra virgin olive oil and 14 samples of oils of animal and vegetable origin were evaluated to evaluate possible sources of adulteration. For the brands of extra-virgin olive oils evaluated, the acidity index is outside the standard established by legislation for 13.6% of the samples. For the specific extinction values of the samples, it was found that only 36% of the samples presented results in accordance with the recommendations of Brazilian legislation. The analysis of fatty acid profiles indicated that oleic acid (C18: 1n-9c) is the fatty acid present in higher concentration in unadulterated extra-virgin olive oil samples, showing an inverse behavior in relation to linolenic acids (C18: 2n-6c) and linoleic (C18: 3n-3). The analysis of fatty acids provides the most reliable information regarding the presence of adulteration, and considering the results obtained, 31.8% of the evaluated samples are adulterated, possibly with the addition of soybean oil. This hypothesis was raised due to the high values of linolenic acid (C18: 2n-6c), found in all adulterated samples. The analysis of the main components of the volatile organic compounds data indicated a grouping of the adulterated and unadulterated samples, according to their country of origin.

Keywords: Fatty acid profile; volatile organic compounds; extra virgin olive oil; adulteration.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	7
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
2.1	AMOSTRAS.....	11
2.2	CARACTERIZAÇÃO DOS AZEITES.....	13
2.2.1	Extinção específica no Ultravioleta (UV).....	13
2.2.2	Acidez livre em ácido oleico.....	14
2.2.3	Esterificação e análise dos ácidos graxos por CG-DIC.....	14
2.2.4	Análise dos compostos orgânicos voláteis por (CG-EM).....	16
2.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	17
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
3.1	COEFICIENTE DE EXTINÇÃO ESPECÍFICA E ÍNDICE DE ACIDEZ...	17
3.2	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS.....	21
3.3	POSSÍVEIS FONTES DE ADULTERAÇÃO.....	24
3.4	ANÁLISE DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS.....	26
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos, tem-se abordado em uma dimensão cada vez maior o contexto de fraude alimentar. A exigência do consumidor diante da qualidade dos produtos alimentares que consome se acentuou, crescendo com isso sua consciência e preocupação com os intervenientes na cadeia alimentar (SPINK; MOYER, 2011). De acordo com Spink e Moyer (2011), entende-se como fraude alimentar o "termo coletivo utilizado para abranger a substituição deliberada e intencional, à adição, alteração ou adulteração de alimentos, ingredientes alimentares ou embalagens de alimentos; declarações falsas ou enganosas feitas sobre um produto, para o ganho econômico."

Sabe-se que a fraude alimentar é uma das principais ameaças à saúde pública, podendo assumir proporções consideráveis na segurança nacional, sociedade, economia, política e principalmente na saúde dos consumidores. Diante desse contexto, o conhecimento das propriedades funcionais dos alimentos tem estreitado a relação entre os hábitos saudáveis de alimentação e a diminuição do risco de doenças crônicas (KAEFER; MILNER, 2008).

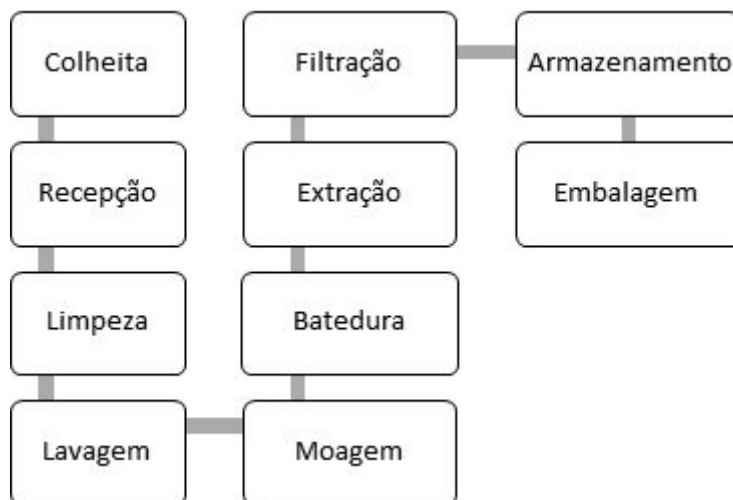
Considerando o aumento notável da demanda por azeite de oliva extravirgem, seu custo se torna alto quando comparado a outros óleos, tornando necessário o controle de qualidade no produto, para que casos de substituição ou adulteração por produtos de menor custo não venham a ocorrer, implicando em danos potenciais à saúde dos consumidores (BOSKOU, 2006).

Partindo da azeitona, fruto da *Olea europea L.*, mais conhecida como oliveira, o azeite de oliva extravirgem pode ser extraído de várias formas, sendo a mais comum a extração por prensa mecânica. Durante o processo de extração, as enzimas presentes na azeitona começam a ter reações específicas com os compostos presentes na azeitona, resultando em diversos produtos finais responsáveis pelo aroma e sabor do azeite de oliva (CAETANO, 2019). Muitos fatores podem influenciar a qualidade do azeite e sua composição aromática, como a região geográfica de origem, o clima da região, o tipo de extração, o armazenamento e a qualidade do fruto (PERSURIC et al., 2018).

A produção do azeite de oliva extravirgem possui diversas etapas, que

envolvem desde a colheita das azeitonas até o armazenamento do azeite, passando por transformações que irão assegurar a qualidade do produto (FERNANDES, 2014). O método mais utilizado nas indústrias para a extração do azeite de oliva baseia-se em um processo contínuo, conforme demonstrado no fluxograma a seguir (Tabela 1).

Tabela 1 - Fluxograma do processo de extração do azeite de oliva extravirgem.



Fonte - Adaptado de Campos, 2013.

Os azeites de oliva extravirgem são óleos de excelente qualidade nutricional, são ricos em antioxidantes naturais, trazendo diversos benefícios à saúde humana (ROHMAN, 2016). Portanto, é de extrema importância o controle de qualidade com a finalidade de avaliar a qualidade do azeite de oliva extravirgem como matéria prima para outros produtos, para que seus benefícios e suas qualidades sejam preservados até o consumo final.

O valor nutritivo do azeite aumenta proporcionalmente com os níveis de alguns compostos fenólicos e de alguns ácidos graxos, destacando-se o ácido oleico (C18:1n-9c). Alguns componentes minoritários do azeite também garantem propriedades nutricionais ao azeite de oliva extravirgem, tais como fitoesteróis, esqualeno e compostos antioxidantes, se enquadrando nos antioxidantes os tocoferóis e, em particular, compostos fenólicos (BACCOURI et al, 2008). O aroma único característico dos azeites de oliva extravirgem é um tanto quanto complexo, mais de cem substâncias voláteis já foram identificadas, pertencentes a diferentes

grupos funcionais, como álcoois, cetonas e aldeídos, sendo um atrativo para as indústrias, pois podem ser adicionadas em diversos produtos. Estes compostos voláteis são produzidos a partir da oxidação dos ácidos graxos presentes no azeite, contribuindo essencialmente para o perfil sensorial do azeite de oliva extravirgem (BRILHANTE, 2019).

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeia longa que podem ser classificados em saturados, monoinsaturados e polinsaturados (ARAÚJO, 2004). A composição do azeite de oliva é caracterizada pelo alto teor de ácidos graxos monoinsaturados, sendo o ácido oleico (C18:1n-9) o principal (MORETTO; FETT, 1998). Em pequena quantidade se encontram os ácidos graxos poli-insaturados (linoleico – C18:2n-6 – e alfa linolênico C18:3n-3) e ácidos graxos saturados (quadro 1). Por constituírem as unidades básicas dos lipídeos, a determinação do perfil de ácidos graxos se faz fundamental, sendo utilizado como padrão de identidade e qualidade para os azeites de oliva, que podem apresentar alterações segundo seu grau de decomposição oxidativa (COI, 2013).

O fato de cada um dos óleos vegetais apresentarem diferentes características torna a análise da composição dos ácidos graxos um dos parâmetros em estudos de verificação de adulteração. Ácidos graxos podem ser determinados e analisados a partir dos ésteres metílicos, auxiliando no estudo de fraudes e na avaliação nutricional de óleos e de gorduras de origem vegetal e animal. A análise do perfil de ácidos graxos e quantificação têm sido extensamente realizadas empregando a cromatografia em fase gasosa acoplado ao detector de ionização chama (CG-DIC) (AGUIAR et al., 2011; BONAFAE et al., 2017; BONAFAE et al., 2011; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2018).

Dentre as técnicas analíticas, a cromatografia em fase gasosa é a mais difundida para a análise do perfil de ácidos graxos em amostras de óleo comestível. No entanto, para evitar as desvantagens analíticas devido ao seu alto ponto de ebulição, antes da análise pela técnica de cromatografia em fase gasosa, os triacilgliceróis são hidrolisados em uma etapa e transesterificados em seus monoésteres metílicos de ácidos graxos voláteis (SIANO; VASCA, 2020).

De acordo com a legislação brasileira, para ser classificado como azeite de oliva virgem, extra virgem ou lampante (não destinado à alimentação humana), o

alimento deve apresentar determinada faixa de tolerância na composição de ácidos graxos, apresentada no quadro 1 (BRASIL, 2012).

Quadro 1 - Limite de tolerância para composição de ácidos graxos em azeites de oliva.

Composição de ácidos graxos (%)		
Grupo	Azeite de Oliva Virgem	
Tipo	Virgem/Extra Virgem	Lampante
C14:0	Menor ou igual a 0,05	
C16:0	7,5 – 20,0	
C16:1	0,3 – 3,5	
C17:0	Menor ou igual a 0,3	
C17:1	Menor ou igual a 0,3	
C18:0	0,5 – 5,0	
C18:1n-9c	55,0 – 83,0	
C18:2n-6c	3,5 – 21,0	
C18:3n-3 (LNA)	Menor ou igual a 1,0	
C20:1	Menor ou igual a 0,4	
C22:0	Menor ou igual a 0,2	Menor ou igual a 0,3
C24:0	Menor ou igual a 0,2	

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2012; INMETRO, 2015; CODEX, 2003.

Os tópicos de qualidade do azeite estão ganhando interesse entre fabricantes e clientes, também despertando o interesse direto de órgãos reguladores. Embora existam métodos confiáveis para um controle de qualidade eficaz fornecidos pelo International Olive Council (COI, 2013), a caracterização do azeite de oliva extravirgem continua a ser um enorme desafio. Tendo em vista que o azeite de oliva extravirgem possui de fato um valor agregado mais alto, sem o desenvolvimento de métodos de caracterização apropriados, a possibilidade de fraudes são evidentes. Para isso, faz-se necessária a avaliação da qualidade dos azeites de oliva extravirgem quanto a acidez livre, que expressa a quantidade de ácidos graxos livres na amostra e a extinção específica no ultravioleta, que avalia o grau de oxidação do azeite de oliva extravirgem. Para a fiscalização de adulterações, a análise do perfil de ácidos graxos é uma metodologia importante na caracterização dos azeites, indicando quais ácidos graxos compõem a amostra.

De acordo com esta problemática, uma metodologia adicional usualmente empregada é a análise de compostos orgânicos voláteis por cromatografia em fase

gasosa acoplada ao detector de massas (CG-EM), utilizando uma técnica não destrutiva denominada microextração em fase sólida (SPME) (BELMONTE-SÁNCHEZ et al., 2018). Esta técnica de amostragem sem solvente, reduz as etapas de extração, limpeza e concentração para um único passo, pois possui uma qualidade superior às técnicas tradicionais, podendo identificar marcadores que causam a oxidação em azeites (ZHANG & PAWLISZYN, 1993).

Quando considerada a região da tríplice fronteira formada pelas cidades de Foz do Iguaçu (Brasil), Ciudad del Este (Paraguai) e Puerto Iguazu (Argentina) há uma facilidade da mobilidade dos consumidores entre as fronteiras, promovendo uma lucratividade significativa do comércio dessas regiões, pois os produtos disponíveis em seus mercados e feiras são consumidos e comercializados nos três países. Devido a esta facilidade da obtenção dos produtos na região transfronteiriça, os óleos vegetais e os azeites produzidos nessas regiões chegam em grande quantidade até a cidade de Foz do Iguaçu. Assim, este estudo teve por objetivo definir uma metodologia para o controle de qualidade da etapa final deste processo de produção, sendo esta, os azeites de oliva extravirgem de diferentes origens já embalados e expostos em prateleiras de mercados, feirinhas e diversos tipos de comércio alimentício.

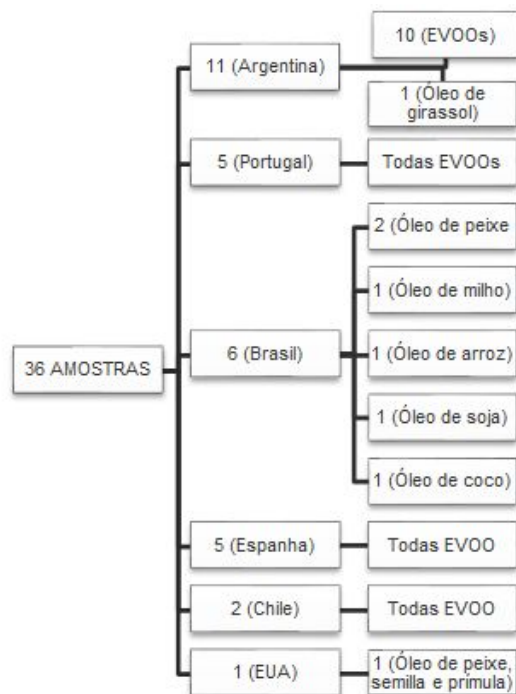
Desta forma, a presente pesquisa caracterizou os azeites de oliva extra virgens quanto aos parâmetros de acidez e seus valores de extinção no ultravioleta e avaliou a presença de adulteração em azeites de oliva extravirgem comercializados na região da tríplice fronteira (Argentina, Brasil e Ciudad Del Este), por meio da análise do perfil de ácidos graxos e dos compostos orgânicos voláteis.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

As amostras foram adquiridas no comércio da região da tríplice fronteira, sendo as localizações, Brasil - (Foz do Iguaçu) - Argentina (Puerto Iguazu) - Paraguai (Ciudad Del Este), no segundo semestre de 2018 e primeiro semestre de 2019, num total de 36 amostras. Deste conjunto de amostras, 11 amostras foram

provenientes da Argentina, sendo 1 amostra de óleo de girassol e 10 amostras de azeites de oliva extravirgem, 5 amostras foram provenientes de Portugal, todas de azeite de oliva extravirgem, 6 provenientes do Brasil, sendo 2 de cápsulas de óleo de peixe, 1 de óleo de milho, 1 de óleo de arroz, 1 de óleo de soja e 1 de óleo de coco. Outras 5 amostras foram provenientes da Espanha e 2 do Chile, todas de azeite de oliva extravirgem. A amostra proveniente dos Estados Unidos é um suplemento alimentar contendo óleo de peixe, semilla e primula. No total, 22 amostras de azeite de oliva extravirgem foram analisadas, como demonstra o fluxograma a seguir. As amostras de diferentes tipos de óleo foram analisadas para testes comparativos com as amostras de azeite de oliva extravirgem. Amostras de óleo de fritura e banha de porco foram analisadas somente para visualização de testes laboratoriais, portanto não se enquadram no fluxograma das amostras compradas. As amostras foram fracionadas e mantidas sob refrigeração a -20°C , protegidas da luz.



Fluxograma do conjunto de amostras analisadas.

Fonte: A autora (2020).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS AZEITES

Os azeites de oliva extravirgem selecionados para a presente pesquisa foram caracterizados quanto aos parâmetros de qualidade dos índices de acidez livre, e coeficientes de extinção específica, e também quanto aos parâmetros de identidade, sendo determinadas suas composições em ácidos graxos e análise qualitativa de compostos orgânicos voláteis.

2.2.1 Extinção específica no Ultravioleta (UV)

A extinção específica no UV pode ser determinada pela medida da absorbância na região do ultravioleta. A absorção em 232 e 270 nm, é devida à presença de dienos e trienos conjugados.

Trinta miligramas de cada amostra (0,030 g) de azeite foram pesadas diretamente em um tubo de centrífuga tipo falcon e diluídas no solvente n-octano grau cromatográfico (Sigma-Aldrich), completando um volume de 3 mL, e homogeneizadas, sendo nomeadas como solução A, tendo sua absorbância medida em 270 nm. Posteriormente, 600 µL desta solução e 2,40 mL de n-octano foram transferidos para um outro tubo tipo falcon e, sendo esta denominada de solução B, com absorbância medida no comprimento de onda de 232 nm. Os valores de absorbância devem estar compreendidos entre 0,1 e 0,8. O solvente n-octano foi usado como solvente de referência (branco), em espectrofotômetro previamente calibrado. Para análise, foi utilizado um espectrofotômetro da marca Thermo Scientific modelo Evolution 200 Series UV-Vis.

Os resultados foram calculados de acordo com a Equação 1, e expressos em porcentagem.

$$\frac{A_{\lambda}}{c \times l} = K_{\lambda} = E_{1\%}^{1\text{cm}} \quad (1)$$

Onde:

K_{λ} = extinção específica no comprimento de onda λ ;

A_λ = absorvância medida no comprimento de onda λ ;

c = concentração da solução em g/100 mL;

l = caminho óptico da cubeta em cm = 1 cm.

2.2.2 Acidez livre em ácido oleico

Para a determinação da acidez, as amostras foram previamente homogeneizadas e estavam completamente líquidas. A metodologia baseou-se na titulação com hidróxido de sódio (NaOH) e indicador fenolftaleína, de acordo com a técnica do Instituto Adolfo Lutz (2008), sendo o resultado expresso em % de ácido oleico (m/m), como mostra a equação 2.

$$\%Ac\ Oleico = \frac{M_{N/et} \times V_{g\ N/et} \times PM_{ac.oleico}}{P_m} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

$M_{N/et}$: Concentração de NaOH/etanol, padronizado (mol L⁻¹)

$V_{g\ N/et}$: Volume de NaOH/etanol gastado na titulação (L)

$PM_{ac. oleico}$: Peso molecular de ac. oleico (g mol⁻¹)

P_m : Peso da amostra (g)

2.2.3. Esterificação e análise dos ácidos graxos por CG-DIC

A metodologia de esterificação dos ácidos graxos foi realizada de acordo com Santos et al., 2014. Para a solução esterificante foram pesados 10,00 ± 0,01 g de NH₄Cl e transferidos para um becker de 500 mL. Mediu-se em uma proveta 300 mL de CH₃OH e transferiu-se ao becker. Foram medidos em uma proveta 15 mL de H₂SO₄ e transferidos vagarosamente na solução anterior. Homogeneizou-se e

transferiu-se para um frasco âmbar e foram rotulados. Uma proporção de 1:30:1.5 (m/v/v) foi mantida, com o cloreto de amônio, metanol e ácido sulfúrico.

De acordo com Hartman e Lago (1973), em tubo foram pesadas $0,025 \pm 0,001$ g da amostra. A metilação foi realizada em tubos cônicos de centrifuga, tipo falcon de 50 mL com a adição de 4 mL da solução de NaOH em metanol a $0,50 \text{ mol L}^{-1}$. Após fechar os tubos, estes foram colocados durante 6 min em banho ultrassom à temperatura ambiente (20 a 25 °C). Adicionou-se 5 mL de reagente esterificante (cloreto de amônio, metanol e ácido sulfúrico). A seguir, o tubo foi fechado e a mistura permaneceu em banho ultrassom durante 5 min para a reação de catálise ácida, a temperatura ambiente. Para a separação de fases, adicionou-se 4 mL de solução saturada de cloreto de sódio, sendo agitada por 30 segundos em vortex. Foram adicionados 2,0 mL de isooctano, e agitados por 30 segundos em vortex. A mistura ficou em repouso na geladeira a temperatura de -20 °C durante 24 h para separação de fases. Cada uma das amostras foram esterificadas em triplicada, e a fase orgânica (parte superior) foi retirada e submetida à análise cromatográfica.

As análises dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) foram realizadas em um cromatógrafo em fase gasosa (CG-FID) (modelo TR-1310, Thermo Scientific), equipado com a coluna TR-FAME (120 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 μm) e detector de ionização em chama, operando em modo split com fluxo de 120 mL min^{-1} . Os fluxos dos gases foram de 30 mL min^{-1} para o gás de arraste H_2 , 40 mL min^{-1} para o gás auxiliar N_2 e 300 mL min^{-1} ar sintético, respectivamente. As temperaturas do injetor e do detector foram de 230 e 225 °C, respectivamente. As injeções foram realizadas em triplicatas e o volume de injeção de 1 μL . A temperatura da coluna foi iniciada em 180 °C durante 12 min, seguido de aquecimento até 210 °C a uma taxa de 5°C / min , sendo mantida nesta temperatura por 1 min, e posterior aquecimento até 240°C a uma taxa de $2,5^\circ\text{C / min}$, sendo preservada esta temperatura durante 14 min, num total de 45 min de corrida.

Os ácidos graxos das amostras de azeite de oliva extravirgem e dos demais óleos vegetais foram identificados pela comparação com os tempos de retenção

entre os constituintes das substâncias em relação ao padrão de ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco® 37 Component FAME Mix, Sigma Aldrich, St. Louis, EUA). As áreas dos picos foram determinadas por meio do software Chromeleon 7, e os resultados expressos em porcentagem de área relativa (%m/m).

2.2.4 Análise dos compostos orgânicos voláteis por (CG-EM)

A análise dos compostos orgânicos voláteis foi determinada de acordo com Peršurić, Saftić, Mašek e Pavelić (2018). Duas colunas foram testadas neste estudo, para separação dos compostos orgânicos voláteis, ambas da ThermoScientific. A coluna TR-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 μ m), que tem a fase estacionária da coluna com característica não polar e sua composição é de 5% fenil polisilfenileno-siloxano e a coluna TR-WAX (30m x 0,25mm x 0,25 μ m), que tem a fase estacionária composta por polietilenoglicol (PEG).

Foram analisadas somente as amostras de azeite de oliva extravirgem. Cinco gramas (5,00 g) de cada uma das amostras analisadas foram colocadas em vials, sendo aquecidas em um termobloco a 60 °C. Após 20 minutos, tempo para atingir o equilíbrio térmico, introduziu-se a agulha SPME (fibra Car/PDMS/DVB) para a adsorção dos compostos orgânicos voláteis que estavam presentes no vial, e então a fibra foi exposta ao headspace da amostra (3 cm) por um período de 50 minutos. A amostra foi agitada a 750 rpm usando um agitador magnético durante o processo de equilíbrio e extração. A fibra foi retirada após o tempo de extração (50 minutos), e os compostos orgânicos voláteis coletados foram termicamente dessorvidos na porta de injeção do sistema cromatográfico, onde ocorreu sua separação e detecção.

A identificação dos compostos orgânicos voláteis foi realizada por cromatografia em fase gasosa, com um sistema cromatográfico TRACE 1300 *Gas Chromatograph* (ThermoScientific) acoplado a analisador de massas do tipo quadrupolo ISQ *Single Quadrupole MS* (ThermoScientific).

O gradiente de temperatura da separação cromatográfica foi programado de modo: 40 °C (8 min), 4 °C min⁻¹ à 200 °C (5 min), 50 °C min⁻¹ à 250 °C (4 min). Para a separação e identificação dos compostos orgânicos voláteis, a injeção foi

efetuada no modo splitless, empregando o gás hélio como gás de arraste, a um fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹. O espectrômetro de massas foi operado por impacto eletrônico com energia de ionização de 70 eV. A linha de transferência foi mantida a uma temperatura de 250°C. A aquisição de dados foi realizada em modo SCAN e tanto para aquisição quanto para o tratamento de dados foi utilizado o software ThermoXcalibur versão 2.2 (ThermoScientific).

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os compostos orgânicos voláteis dos azeites de oliva extravirgem foram analisados qualitativamente. Com o objetivo de visualizar os dados em diferentes dimensões (2D e 3D), o cálculo da PCA para os voláteis foi realizado pela função PCA da biblioteca scikit-learn com parâmetros de números de componentes desejáveis configurados para 2 e 3, respectivamente. Finalmente, o ajuste foi realizado por meio da função PCA.fit_transform.

Os dados do perfil de ácidos graxos também foram explorados através da análise de componentes principais (PCA). A utilização da PCA tem por objetivo reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original, preservando a maior quantidade de informação (variância) possível. A análise exploratória foi realizada com as amostras de azeite de oliva extravirgem e dos óleos vegetais, sendo os dados analisados em conjunto com o software PAST (Hammer et al., 2001).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 COEFICIENTE DE EXTINÇÃO ESPECÍFICA E ÍNDICE DE ACIDEZ

A tabela 1 apresenta os resultados dos coeficientes de extinção específicos para amostras de azeite de oliva extravirgem. De acordo com estes resultados, 63,6% das amostras apresentaram valores fora destes limites estabelecidos, indicando um alto teor de cetonas insaturadas e dienos conjugados, sendo estes produtos da auto-oxidação de hidroperóxidos (BOSKOU, 2006), mantendo-se fora da especificação para azeites de oliva extravirgem. As amostras de azeite de oliva

extravirgem devem apresentar absorbâncias a 270 nm e 232 nm menores ou igual a 0,22 e 2,5, respectivamente (BRASIL, 2015; COI, 2013).

Considerando o teor de acidez, dentre as 30 amostras analisadas, 22 continham em seu rótulo a determinação de azeite de oliva extravirgem, cujo nível de acidez permitido pela legislação brasileira e pelo COI é de no máximo 0,8% (BRASIL, 2012). Porém, de acordo com a tabela 1, para os azeites de oliva extravirgem avaliados, 13,6% das amostras resultaram em altos índices de acidez, que não se adequaram à legislação, indicando uma possível ação de enzimas hidrolíticas e/ou lipolíticas, decorrentes de falta de controle durante a colheita, armazenamento e/ou transporte (BOSKOU, 2006).

Tabela 1 - Coeficiente de extinção específica e índice de acidez em azeites de oliva extravirgem.

Amostras	País/Cidade	K232 nm	K270 nm	Acidez em Ácido Oleico (g/100g)
1	Argentina	0,77±0,12	0,20±0,01	0,82±0,00
2	Portugal	0,50±0,02	3,62±0,17	0,32±0,40
3	Argentina	1,16±0,21	1,03±0,05	20,49±5,06
4	Argentina	0,87±0,02	1,28±0,08	1,00±0,00
5	Portugal	0,42±0,03	0,20±0,03	0,42±0,06
7	Espanha	0,43±0,03	0,20±0,01	0,12±0,00
10	Espanha	1,06±0,50	0,27±0,00	0,20±0,03
14	Argentina/ Mendoza	2,70±0,27	1,81±0,02	0,63±0,01
15	Argentina/ Mendoza	1,84±0,04	1,81±0,05	0,80±0,01
16	Argentina	1,74±0,06	2,21±0,33	0,69±0,00
17	Argentina	1,85±0,05	1,50±0,06	0,69±0,01
20	Espanha	0,55±0,06	0,28±0,00	0,19±0,00
21	Chile	0,55±0,11	0,20±0,03	0,28±0,02
22	Chile	0,66±0,18	0,20±0,02	0,35±0,03
23	Argentina	0,86±0,01	1,42±0,04	1,30±0,02
24	Argentina	0,42±0,02	0,14±0,01	0,23±0,03
25	Argentina/ Mendoza	0,58±0,01	0,16±0,01	0,3±0,03
26	Portugal	0,47±0,03	0,20±0,01	0,31±0,00
27	Espanha	0,58±0,04	0,27±0,01	0,33±0,05
28	Portugal	0,84±0,08	1,15±0,06	0,24±0,00
29	Espanha	0,56±0,03	0,44±0,16	0,173±0,01
30	Portugal	0,44±0,06	0,31±0,05	0,27±0,00

Fonte: A autora, 2020.

(*) Valores expressos como média ± desvio padrão de duas replicatas. As amostras destacadas em vermelho correspondem a valores superiores ao estabelecido pela legislação brasileira (Brasil, 2012).

Os índices de acidez apresentados na tabela para os azeites de oliva extravirgem avaliados, indicam que os valores demarcados em vermelho são provenientes das amostras que estão fora das especificações exigidas pelas legislações brasileira e internacional, sendo os demarcados em preto os valores adequados à legislação. Portanto, ao observar as amostras da tabela 1 com relação ao seu índice de acidez, pode-se perceber que os resultados encontrados para as amostras 3, 4, 15, 23 sugerem que essas amostras não podem ser classificadas como sendo do tipo extravirgem.

A tabela 2 apresenta a análise dos coeficientes de extinção e de acidez livre para amostras de outros tipos de óleos vegetais como: girassol, soja, prímula, côco, arroz, milho e peixe. Estas amostras foram analisadas para uma posterior comparação com os resultados das amostras de azeite de oliva extravirgem.

Tabela 2 - Coeficiente de extinção específica e índice de acidez em óleos vegetais variados.

Amostras	País/ Cidade	Tipos de amostra	K232 nm	K270 nm	Acidez em Ácido Oleico (g/100g)
6	Brasil	Óleo de peixe - Ômega 3, 100mg	2,76±0,02	2,23±0,03	0,55±0,02
8	Brasil	Óleo de milho	1,08±0,10	1,61±0,05	0,13±0,00
9	Brasil	Óleo de arroz	2,01±0,01	1,33±0,02	0,12±0,00
11	Brasil	Óleo de coco	0,54±0,19	0,15±0,02	0,09±0,04
12	Argentina	Óleo de girassol	0,92±0,00	2,05±0,06	0,15±0,04
13	Brasil	Óleo de soja	1,29±0,06	3,37±0,04	0,15±0,04

Fonte: A autora, 2020.

(*) Valores expressos como média ± desvio padrão de duas replicatas.

3.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Na tabela 3, apresentam-se as áreas relativas dos ácidos graxos quantificados nas amostras que traziam como informação “azeite de oliva extravirgem” no rótulo, e que são indicados nas normativas. A lista completa dos ácidos graxos presentes nas amostras, pode ser observada no Anexo I. De acordo com a legislação vigente do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2012), existe um limite de tolerância para composição de ácidos graxos em azeites de oliva extravirgem. Baseando-se nos limites estabelecidos, as amostras dos azeites que apresentaram conteúdo de ácido linolênico (C18:2n-6c) e linoleico (C18:3n-3) acima do estipulado, não atingindo o conteúdo mínimo de 55% para o ácido oleico, confirmam uma possível adulteração. Essas amostras seguem um padrão de adulteração, apresentando valores acima do estipulado para o ácido mirístico ($C14 \leq 0,05\%$) e para o ácido behênico ($C22:0 \leq 0,02$), e abaixo do estipulado para o ácido palmitoleico (0,3 a 3,5%).

Das 22 amostras caracterizadas comercialmente como azeite de oliva extravirgem, 7 encontram-se adulteradas, representando 31,8% das amostras.

Tabela 3 - Composição dos ácidos graxos (%) das amostras de azeites de oliva extravirgem.

Amostras	C14:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1n-9c	C18:2n-6c	C18:3n-3 (LNA)	C20:1	C22:0	C24:0
A1	0,02±0,00	13,91±0,22	1,31±0,06	0,06±0,00	n.d	2,24±0,06	67,54±0,39	13,39±0,24	1,14±0,02	0,23±0,01	0,09±0,01	0,05±0,00
A2	0,01±0,00	10,02±0,25	0,68±0,02	0,10±0,00	n.d	2,77±0,05	74,74±0,48	10,29±0,31	1,09±0,00	0,27±0,02	0,10±0,00	0,05±0,00
A3	0,05±0,01	9,46±0,34	0,71±0,04	0,05±0,00	n.d	3,27±0,14	51,87±0,77	32,93±0,52	0,76±0,08	0,18±0,02	0,45±0,02	0,17±0,00
A4	0,05±0,00	9,09±0,10	0,70±0,04	0,06±0,00	n.d	3,29±0,06	51,27±1,45	33,03±0,23	0,72±0,02	0,18±0,01	0,46±0,01	0,17±0,01
A5	0,01±0,00	13,00±0,04	1,02±0,02	0,08±0,00	n.d	2,70±0,02	72,33±0,17	9,27±0,09	1,06±0,02	0,24±0,00	n.d	0,06±0,00
A7	0,02±0,00	13,41±0,13	1,19±0,07	0,10±0,00	n.d	2,46±0,06	72,19±0,39	9,02±0,22	1,10±0,03	0,23±0,01	0,11±0,01	0,06±0,00
A10	0,01±0,00	10,62±0,04	0,75±0,01	0,06±0,00	n.d	3,11±0,01	78,26±0,06	5,74±0,03	1,04±0,00	0,20±0,00	0,08±0,00	0,04±0,00
A14	0,08±0,01	11,74±0,06	0,36±0,03	0,08±0,01	n.d	3,93±0,26	27,13±0,74	51,02±0,82	3,66±0,17	0,16±0,02	0,30±0,03	0,12±0,01
A15	0,07±0,00	10,44±0,12	0,17±0,00	0,08±0,00	n.d	4,43±0,08	22,76±0,13	0,02±0,00	3,59±0,04	0,20±0,01	0,40±0,01	0,15±0,00
A16	0,07±0,00	09,83±0,01	0,16±0,00	0,08±0,00	n.d	4,32±0,02	26,77±0,07	52,64±0,08	4,83±0,02	0,18±0,00	0,38±0,00	0,14±0,00
A17	0,07±0,00	11,41±0,25	0,28±0,01	0,08±0,00	n.d	4,28±0,24	28,47±0,69	49,58±0,96	3,86±0,19	0,21±0,01	0,35±0,02	0,13±0,02
A20	0,01±0,00	10,71±0,16	0,78±0,03	0,05±0,01	0,09±0,00	2,86±0,06	77,99±1,34	6,00±0,72	0,95±0,01	0,20±0,04	n.d	0,00±0,00
A21	0,01±0,00	10,34±0,09	0,53±0,01	0,04±0,00	0,08±0,00	1,89±0,03	79,53±1,17	5,99±0,56	0,90±0,06	0,24±0,00	0,10±0,01	0,04±0,00
A22	0,02±0,00	10,81±0,03	0,63±0,02	0,04±0,00	0,10±0,01	1,86±0,03	78,27±0,40	6,89±0,36	0,94±0,05	0,24±0,00	0,10±0,01	0,04±0,01
A23	0,06±0,01	9,53±0,12	0,45±0,01	0,06±0,00	0,05±0,00	3,37±0,00	36,51±0,59	46,48±0,16	2,26±0,03	0,15±0,00	0,38±0,01	0,13±0,00
A24	0,01±0,00	13,59±0,06	1,13±0,05	0,08±0,00	0,17±0,00	2,04±0,04	73,43±0,26	8,24±0,19	0,93±0,02	0,21±0,01	0,12±0,00	0,05±0,00
A25	0,01±0,00	13,92±0,08	1,21±0,01	0,06±0,00	n.d	1,77±0,01	71,09±0,03	10,63±0,06	0,95±0,01	0,25±0,01	0,08±0,01	0,04±0,011
A26	0,01±0,00	10,74±1,25	0,84±0,07	0,05±0,01	0,09±0,01	2,52±0,37	72,23±0,16	5,85±0,64	0,86±0,09	0,17±0,03	0,08±0,02	0,03±0,02
A27	0,02±0,00	14,3±0,15	1,42±0,07	0,09±0,00	n.d	2,05±0,03	69,80±0,06	11,06±0,18	0,92±0,01	0,21±0,01	0,09±0,01	0,04±0,01
A28	0,01±0,00	10,85±0,08	0,78±0,02	0,06±0,00	n.d	2,52±0,06	78,33±0,21	6,22±0,06	0,91±0,00	0,20±0,01	0,08±0,01	0,04±0,00
A29	0,01±0,00	11,38±0,17	0,87±0,05	0,09±0,00	0,09±0,00	2,79±0,03	75,92±0,81	7,40±0,67	1,09±0,16	0,21±0,03	n.d	0,04±0,01
A30	0,02±0,00	13,86±0,13	1,13±0,03	0,10±0,00	n.d	2,17±0,06	70,20±1,17	10,26±0,52	1,05±0,04	0,22±0,00	0,10±0,02	0,05±0,01

Fonte: A autora, 2020.

(*) Valores expressos como média ± desvio padrão de duas replicatas. As amostras destacadas em vermelho correspondem a valores superiores ao estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2012, Codex Alimentarius (CODEX, 2003), COI (COI, 2013) e INMETRO (2015).

Conforme pode ser visualizado na tabela 3, o ácido graxo presente em maior concentração nas amostras de azeite de oliva extravirgem não adulteradas foi o ácido oléico (C18:1n-9c), constituído de 67,54 a 78,33% da composição dos ácidos graxos das amostras.

Nas amostras 3 e 4 o ácido oleico (C18:1n-9c) estava abaixo do permitido pela legislação (51,3 - 51,8%), mas nas amostras 14 a 17 e 23 o teor de ácido oleico decaiu significativamente (22,7 - 36,5%), estando muito abaixo do limite permitido pela legislação brasileira, cujos valores variam de 55 a 83%, pelo Codex

Alimentarius (CODEX, 2003), COI (COI, 2013) e INMETRO (2015).

As amostras provenientes do Chile apresentaram os maiores índices de ácido oleico, mostrando um comportamento inverso às amostras adulteradas, que apresentaram valores de ácido oleico inferiores ao limite da legislação, e valores superiores de ácidos linolênico (C18:2n-6c) e linoleico (C18:3n-3).

De acordo com o Codex Alimentarius (CODEX, 2003), quantidades superiores a 21% de ácido linoleico (C18:2n-6c) pode ser um indício de fraude com outros óleos, principalmente o de soja, condição que foi observada nas amostras 3, 4, 14, 16, 17 e 23, apresentando variações de 32,9 a 52,6%. Altos níveis de ácido linolênico (C18:3n-3) foram encontrados nas amostras 14 a 17 e 23 (2,26 - 4,83%), ultrapassando o limite estipulado de 1%.

3.3 POSSÍVEIS FONTES DE ADULTERAÇÃO

Para avaliar uma possível fonte de adulteração, os perfis de ácidos graxos das amostras adulteradas foram comparados aos teores de ácidos graxos de outros óleos vegetais (Tabela 4).

Tabela 4 - Composição dos ácidos graxos (%) das amostras de óleos vegetais variados.

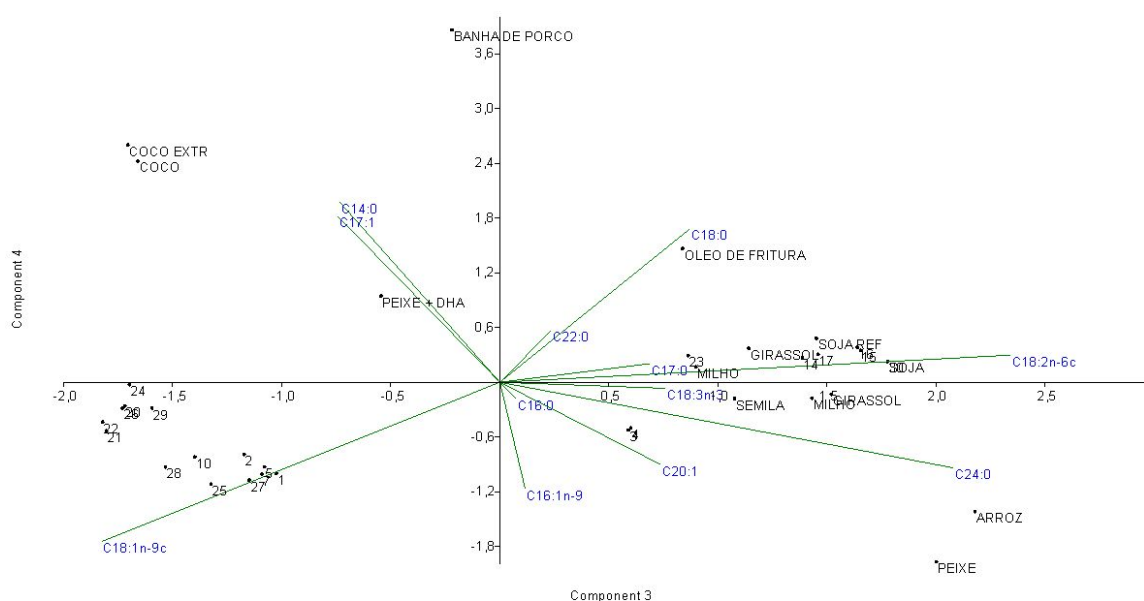
Ácidos Graxos	C14:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1n-9c	C18:2n-6c	C18:3n-3 (LNA)	C20:1	C22:0	C24:0
Óleo de peixe (A6)	1,48±0,06	16,82±0,16	7,37±0,16	0,50±0,01	n.d	4,73±0,18	12,92±0,23	2,11±0,01	1,59±0,01	5,83±0,10	n.d	0,08±0,01
Óleo de milho (A8)	0,06±0,00	9,61±0,00	0,11±0,01	0,06±0,00	n.d	2,97±0,04	34,61±0,14	49,85±0,19	1,48±0,00	0,19±0,00	0,39±0,01	0,18±0,00
Óleo de arroz (A9)	0,25±0,01	19,06±0,34	0,17±0,00	0,03±0,00	n.d	1,51±0,03	38,73±0,82	35,54±0,69	2,30±0,04	0,46±0,01	0,22±0,00	0,39±0,00
Óleo de coco (A11)	16,31±0,16	5,56±0,06	n.d	n.d	n.d	1,62±0,03	3,63±0,02	0,80±0,01	0,04±0,00	0,01±0,00	n.d	n.d
Óleo de girassol (A12)	0,07±0,00	5,8±0,13	0,14±0,00	0,04±0,00	n.d	3,32±0,06	37,65±0,88	51,15±0,44	0,63±0,56	0,18±0,07	0,63±0,04	0,20±0,01
Óleo de soja (A13)	0,08±0,00	10,48±0,03	0,08±0,00	0,08±0,00	n.d	3,58±0,10	24,28±0,30	53,92±0,33	6,29±0,11	0,19±0,01	0,42±0,02	0,16±0,01
Óleo de semilla, peixe e primula (A18)	1,26±0,04	6,81±0,15	1,84±0,01	0,12±0,01	n.d	2,35±0,12	12,89±0,36	13,69±0,13	46,02±0,74	1,89±0,05	0,55±0,01	n.d
Óleo de peixe (DHA) (A19)	0,03±0,00	0,05±0,01	0,02±0,00	n.d	0,03±0,00	0,09±0,01	0,96±0,09	0,62±0,00	0,81±0,04	1,33±0,04	5,37±0,21	n.d
Óleo de soja refinado (A37)	0,08±0,00	10,34±0,11	0,08±0,00	0,07±0,00	0,04±0,00	3,44±0,23	25,09±0,92	54,78±1,13	4,80±0,16	0,17±0,01	0,37±0,05	0,13±0,01
Óleo de coco extravirgem (A38)	17,71±0,43	6,72±0,65	0,01±0,00	n.d	n.d	1,74±0,25	3,81±0,44	0,86±0,07	0,04±0,01	0,02±0,00	n.d	n.d
Óleo de milho (A39)	0,05±0,01	11,36±0,14	0,09±0,01	0,06±0,01	0,03±0,01	2,34±0,15	29,93±0,31	53,08±0,71	1,93±0,07	0,19±0,02	0,18±0,02	0,10±0,00
Óleo de girassol (A40)	0,04±0,00	4,28±0,29	0,05±0,00	0,03±0,00	0,02±0,00	2,59±0,14	25,04±1,71	60,71±3,77	0,27±0,02	0,09±0,01	0,37±0,04	0,10±0,02
Banha de porco (A41)	1,30±0,07	25,14±0,25	1,84±0,08	0,40±0,02	0,34±0,01	11,82±0,24	46,50±0,70	10,12±0,24	0,54±0,00	0,60±0,03	0,22±0,01	n.d
Óleo de fritura (A42)	0,54±0,02	15,74±0,14	0,82±0,02	0,18±0,01	0,15±0,01	5,80±0,07	33,44±0,12	36,68±0,18	3,45±0,03	0,38±0,01	0,34±0,01	0,10±0,00

Fonte: A autora, 2020.

(*) Valores expressos como média ± desvio padrão de duas replicatas.

Para uma análise minuciosa, devido a quantidade de dados, a melhor maneira para comparação entre as amostras de azeite de oliva extravirgem e as amostras dos óleos vegetais, foi através da análise de componentes principais (PCA), que está apresentada na figura 1. Foram feitas 5 PCA's, onde a PC3 x PC4 representou 90% dos resultados. Nas análises dos demais componentes principais, não observou-se uma boa separação entre as amostras, fazendo com que os dados ficassem sobrepostos, dificultando a visualização. Desta forma, somente foi possível observar boa separação entre as amostras no biplot PC3 x PC4.

Figura 1 - Biplot PC3 x PC4 com as amostras de azeites de oliva extravirgem e outros óleos vegetais.



Fonte: A autora, 2020.

A partir da figura 1 foi possível observar que as amostras agrupadas no terceiro quadrante são as amostras com a maior concentração de ácido oleico (C18:1n-9c). A análise de ácidos graxos por CG-DIC permitiu confirmar que tratam-se de azeite de oliva extravirgem. As amostras agrupadas próximo ao ácido graxo linoleico (C18:2n-6) e alfa linolênico (18:3n-3) são presentes em óleos vegetais como o óleo de soja, de milho e girassol, estando as amostras adulteradas próximas a estes óleos.

Segundo Lardini (2012), as amostras do primeiro e segundo quadrante,

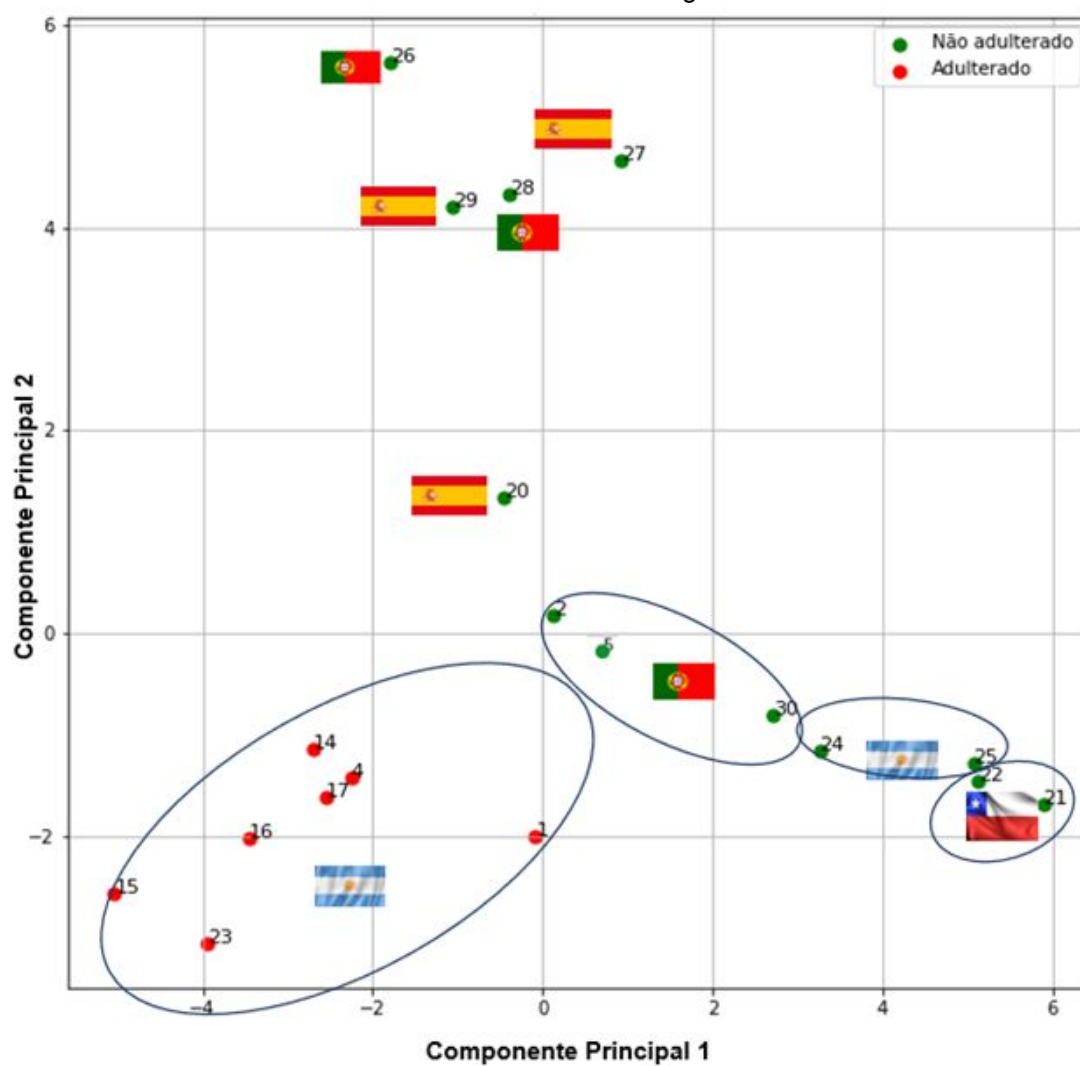
agrupadas ao redor dos óleos linolênico e linoleico, indicam uma maior concentração destes ácidos, podendo ser consideradas adulteradas por outros óleos vegetais, como óleo de milho, girassol e principalmente soja. As amostras de óleo de coco tendem a formar um grupo distante do restante dos óleos analisados, o qual pode se justificar por sua composição.

A análise de ácidos graxos por CG-DIC mostrou-se uma análise importante na caracterização dos azeites, pois indica quais ácidos graxos compõem a amostra. Este é um parâmetro de identidade normalmente utilizado para que se possa fiscalizar se o produto é azeite de oliva ou se tem mistura com outros óleos. No caso deste trabalho, 36 amostras foram analisadas, sendo 22 amostras caracterizadas comercialmente como azeite de oliva extravirgem e outras 14 amostras sendo outros óleos vegetais ou misturas de outros tipos de óleos.

3.4 ANÁLISE DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS

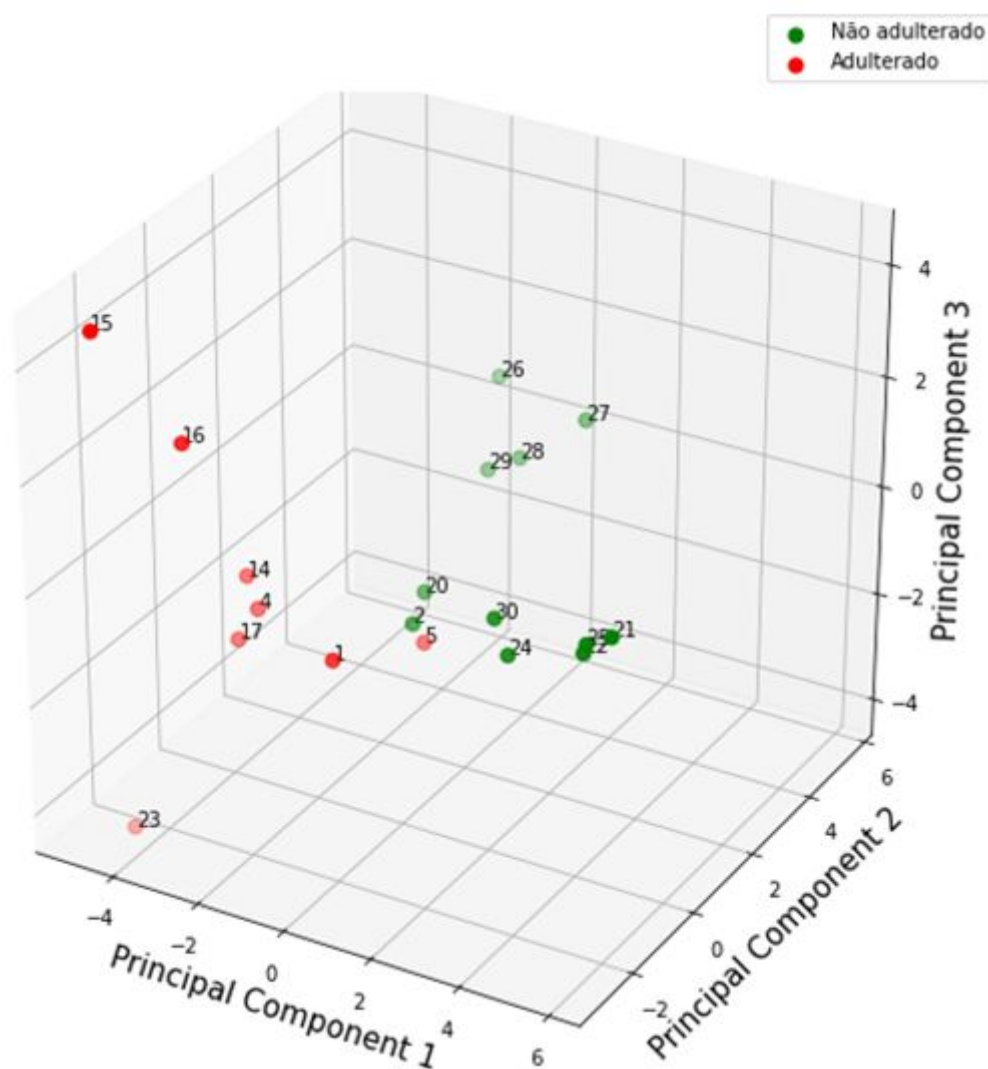
Para investigar as semelhanças e diferenças no perfil de compostos orgânicos voláteis das 22 amostras de azeites de oliva extravirgem produzidos a partir de diferentes variedades e nacionalidades, a análise de componentes principais (PCA) foi realizada (figura 2). Duas PCAs foram aplicadas. Ambas para permitir visualização em 2D e 3D das amostras. A primeira, baseada em apenas 2 componentes (figura 2), enquanto a segunda (figura 3), 3 componentes.

Figura 2 - Análise dos componentes principais (2D) dos compostos orgânicos voláteis das amostras de azeite de oliva extravirgem.



Fonte: A autora, 2020.

Figura 3 - Análise dos componentes principais (3D) dos compostos orgânicos voláteis das amostras de azeite de oliva extravirgem.



Fonte: A autora, 2020.

De acordo com a análise principal de componentes pode-se observar que as amostras foram agrupadas de acordo com as regiões que foram produzidas, expondo que dentre as amostras não adulteradas, as amostras 21 e 22 são de origem chilena, a 24 e 25 de origem argentina (região de Mendoza) e o restante de origem europeia. As amostras agrupadas provenientes da Argentina foram adquiridas em feiras populares na tríplice fronteira sendo, em sua maioria, adulteradas. As amostras que não foram representadas na PCA foram removidas por apresentarem comportamentos outliers.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo avaliou-se a presença de adulteração em azeites de oliva extravirgem comercializados na região da tríplice fronteira (Argentina, Brasil e Ciudad Del Este), por meio da análise do perfil de ácidos graxos, dos compostos orgânicos voláteis, acidez e os valores de extinção no ultravioleta (dienos conjugados). Dentre as vinte e duas amostras de azeites de oliva comercializadas como extravirgem na região da tríplice fronteira, 7 estavam adulteradas com óleo vegetal de menor valor comercial, principalmente óleo de soja, não podendo ser consideradas como azeites extravirgem.

Os valores dos índices de acidez indicaram que 13,6% das amostras não se adequaram aos parâmetros da legislação. Os valores dos coeficientes de extinção específica indicaram que 63,6% das amostras estavam fora dos limites estabelecidos pela legislação vigente, porém a maioria das adulterações observadas foi detectada pelo perfil de ácidos graxos, por fornecer uma informação confiável a respeito da presença de adulteração. Comprovou-se através da análise dos componentes principais dos compostos orgânicos voláteis um agrupamento das amostras adulteradas e não adulteradas, demonstrando forte influência do ambiente para variação do perfil lipídico.

De maneira geral, este projeto contribuirá para estudos de estabilidade, análises de adulterações e caracterização de origem, para que exista uma rigorosidade maior com esses parâmetros de qualidade, evitando a comercialização de produtos fraudados, dando lugar a produtos seguros e nutricionais.

REFERÊNCIAS

- Aguiar, A. C.; Cottica, S. M.; Boroski, M.; Oliveira, C. C.; Bonafé, E. G.; França, P. B.; Souza, N. E.; Visentainer, J. V. Quantification of essential fatty acids in the heads of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with linseed oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 22, 2011, p.643 - 647.
- Aguiar, A. C.; Cottica, S. M.; Boroski, M.; Cyléia, S. C.; do Prado, I. N.; Bonafé, E. G.; França, P. B.; de Souza, N. E.; Visentainer, J. V. Effects of the flaxseed oil on the fatty acid composition of tilapia heads. **European Journal of Lipid Science and Technology** (Print), 113, 2011, p.269 - 274.
- Araújo, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. 335 p.
- Belmonte-Sánchez, José Raúl *et al.* Rum classification using fingerprinting analysis of volatile fraction by headspace solid phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, [S.L.], v. 187, p. 348-356, set. 2018. Elsevier BV.
- Bonafe, E.; Aguiar, A. de; Boroski, M.; Monteiro, J.; Souza, N.; Matsushita, M.; Visentainer, J. Quantification of EPA and DHA in seafood of the south coast of Brazil. **Nutrition & Food Science**, 41, 2011, p.401 - 411.
- Bonafé, G. E.; Figueiredo, L. C.; Martins, A. F.; Monteiro, J.; Junior, O.; Canesin, E.; Maruyama, S.; Visentainer, J. Incorporation of conjugated fatty acids into Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Science Food and Agriculture**, 97, 2017, 3469–3475.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº1, 30 de janeiro de 2012. Regulamento técnico do Azeite de Oliva e do Óleo de Bagaço de Oliva. Brasília, 2012. Disponível em: <<http://www.gpp.pt/GlobalAgriMar/acesso/docs/instrumentos/2012InstrucaoNormativaN1AzeiteBrasil>>. Acesso em: 31 de outubro de 2020.
- Brilhante, Nathália Simon. **Perfil de compostos voláteis dos azeites extra virgens produzidos no rio grande do sul e em minas gerais a partir de oliveiras da cultivar koroneik**. 2019. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.
- Caetano, Lucas Soares. **Identificação dos compostos voláteis presentes em azeite de oliva via microextração em fase sólida por headspace (HS-SPME) e cromatografia acoplada a espectrometria de massas (GC-MS)**. 2019. 27 f. Monografia - Curso de Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.
- Campos, V. M. C. **Resposta Técnica: Extração de azeite de oliva**. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais – CETEC, 2013. 6 p.

CODEX Alimentarius Commission. **Codex Standards for olive oils, and olive pomace oils**, CODEX STAN 33, 1981. Roma: FAO/WHO, 2001. (Revisão 2001).

COI (2013) Norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva Consejo Oleícola Internacional COI/T.15/NC no. 3/Rev. 7

Fernandez, M. D. L. A.; Assof, M.; Jofre, V.; Silva, M. F. Volatile Profile Characterization of Extra Virgin Olive Oils from Argentina by HS-SPME/GC-MS and Multivariate Pattern Recognition Tools. **Food Analytical Methods**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 2122-2136, 17 abr. 2014. Springer Science and Business Media LLC.

García-González, A.; Velasco, J.; Velasco, L.; Ruiz-Méndez, V. An Analytical Simplification for Faster Determination of Fatty Acid Composition and Phytosterols in Seed Oils. **Food Analytical Methods**, 11, 2018, 1234–1242.

Hammer, Øyvind, Harper, David A.T., and Paul D. Ryan, 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, vol. 4, issue 1, art. 4: 9pp., 178 kb.

Hartman, L., & Lago, R. C. A. (1973). Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, 22(7), 475–476.

Indelicato, S.; Bongiorno, D.; Pitonzo, R.; Di Stefano, V.; Calabrese, V.; Indelicato, S.; Avellone, G. Triacylglycerols in edible oils: Determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations. **Journal of Chromatography A**, 1515, 2017, 1–16.

Instituto Adolf Lutz (IAL). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo: IMESP, 2005. p. 595-596.

Kaefer, C. M.; Milner, J. A. The role of herbs and spices in cancer prevention. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 19(6), 2008, 347-361.

Mahesar, S. A.; Sherazi, S. T. H.; Khaskheli, A. R.; Kandhroc, A. A.; Uddin, S. Analytical approaches for the assessment of free fatty acids in oils and fats. **Analytical Methods**, 6, 2014.

Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial INMETRO. **Relatório sobre análise de Gordura e Colesterol: Azeite de Oliva e Dendê**. Rio de Janeiro. 2010. Relatório.

Moretto, Eliane; Fett, Roseane. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais nas indústrias de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998.

Oliveira, M.C. de; Ramos, J.D.; Pio, R.; Cardoso, M. G. Características fenológicas e físicas e perfil de ácidos graxos em oliveiras no sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.47, n.1, p.30-35, 2012.

Persurić, Ž.; Saftić, L.; Mašek, T.; Pavelić, S. K. Comparison of triacylglycerol analysis by MALDI-TOF/MS, fatty acid analysis by GC-MS and non-selective analysis by NIRS in combination with chemometrics for determination of extra virgin olive oil geographical origin. A case study. **Lwt**, [S.L.], v. 95, p. 326-332, set. 2018. Elsevier BV.

Rohman, Abdul. Infrared spectroscopy for quantitative analysis and oil parameters of olive oil and virgin coconut oil: a review. **International Journal Of Food Properties**, [S.L.], v. 20, n. 7, p. 1447-1456, 8 set. 2016. Informa UK Limited.

Santos, O. O., Montanher, P. F., Bonafé, E. G., Do Prado, I. N., Maruyama, S. A., Matsushita, M., & Visentainer, J. V. (2014). A simple, fast and efficient method for transesterification of fatty acids in foods assisted by ultrasound energy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 25(9), 1712–1719.

Siano, F; Vasca, E. GC-FID Analysis to Evaluate the Possible Adulteration of Extra Virgin Olive Oil with Different Vegetable Oils. **Journal Of Chemical Education**, set. 2020. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c00278>.

Spink, J.; Moyer, D. C. Defining the Public Health Threat of Food Fraud. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 76, n. 9, p. 157-163, nov. 2011.

Zhang, Z.; Yang, M. J.; Pawliszyn, J. Solid-phase microextraction. A solvent-free alternative for sample preparation. **Analytical chemistry**, v. 66, n. 17, p. 844A-853A, 1994.

Zenebon, O.; Pascuet, N. S.; Tiglea, P. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed., 1. ed. digital. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 2008.