

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

CLÉDINA DE OLIVEIRA STIEGEMAIER DOS SANTOS

**AZEITE DE OLIVA CONDIMENTADO COM DIFERENTES FORMAS DE
APRESENTAÇÃO DE ALHO (*Allium sativum*).**

PINHALZINHO, SC

2021

CLÉDINA DE OLIVEIRA STIEGEMAIER DOS SANTOS

**AZEITE DE OLIVA CONDIMENTADO COM DIFERENTES FORMAS
DE APRESENTAÇÃO DE ALHO (*Allium sativum*).**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Linha de Pesquisa Propriedades e Segurança dos Alimentos, da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Andréia Zílio Dinon

**Pinhalzinho, SC
2021**

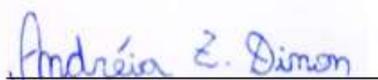
CLÉDINA DE OLIVEIRA STIEGEMAIER DOS SANTOS

**AZEITE DE OLIVA CONDIMENTADO COM DIFERENTES FORMAS
DE APRESENTAÇÃO DE ALHO (*Allium sativum*).**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Banca examinadora:

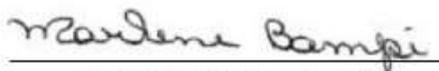
Orientadora:



Prof.ª Dr.ª Andréia Zilio Dinon

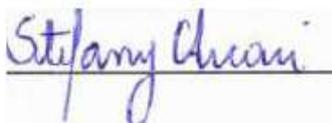
UDESC-SC

Membros:



Prof.ª Dr.ª Marlene Bampi

UDESC-SC



Prof.ª Dr.ª Stefany Grützmänn Arcari

IFSC-SC

Pinhalzinho, 2021.

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CEO/UDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Santos, Clédina de Oliveira Stiegemaier
Azeite de oliva condimentado com diferentes formas de
apresentação de alho (*Allium sativum*) / Clédina de Oliveira
Stiegemaier Santos. -- 2021.
68 p.

Orientador: Andréia Zilio Dinon
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, Chapecó, 2021.

1. *Olea europaeae* L. 2. *Allium sativum*. 3. Antioxidante. 4.
Azeite de oliva. I. Zilio Dinon, Andréia . II. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do
Oeste, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Alimentos. III. Título.

DEDICATÓRIA

Primeiramente a Deus pela oportunidade de estar aprendendo e podendo contribuir com o desenvolvimento científico.

Aos meus pais, Onofre e Juçara, pelos ensinamentos recebidos, os quais são a base de tudo em minha vida

Ao meu esposo, Marcos pelo apoio incondicional nas escolhas que fiz, sempre me apoiando durante toda essa fase e me incentivando a ir em busca dos meus sonhos.

Às minhas filhas, Heloísa e Marjorie, pela paciência e compreensão durante as várias horas em que estava estudando e muitas vezes não podendo fornecer a toda a atenção que elas necessitavam.

A Taline Laura Bortolossi, estagiária do Laboratório de Química de Alimentos, que foi essencial durante os experimentos, foram horas e horas compartilhadas no laboratório, algumas vezes comemorando e outras vezes precisando repetir várias vezes uma análise até conseguir.

A minha orientadora Dra. Andréia Zílio Dinon pela dedicação, amizade, paciência, confiança e por compartilhar muito conhecimento durante este período, suas contribuições foram essenciais.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, e a todos os professores pelos seus ensinamentos.

Enfim, minha eterna gratidão, a todas as pessoas que de alguma forma me ajudaram durante este processo de aprendizagem, e que mesmo não mencionadas aqui serão eternamente lembradas.

EPÍGRAFE

“A mente que se abre a uma
nova ideia jamais retornará ao seu tamanho
original”.

(Albert Einstein)

RESUMO

O azeite de oliva é um produto amplamente utilizado na culinária mediterrânea e muito apreciado em diversos países por suas comprovadas propriedades organolépticas, nutricionais e medicinais. A adição de condimentos ao azeite de oliva é uma prática industrial e artesanal que pode afetar as características físico-químicas originais do azeite, dependendo da matéria prima adicionada. O alho (*Allium sativum*) é popularmente utilizado para condimentar azeite de oliva, possui altos teores de alicina e selênio com capacidade antioxidante, além de perfil fenólico composto principalmente pelos ácidos *p*-cumárico e cafeico. Assim, o presente trabalho avaliou a qualidade do azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado e *in natura*, ambos na proporção de 10 g/L durante infusão permanente por 50 dias à 60 ± 2 °C. Foram realizadas análises para determinar a atividade antioxidante, o conteúdo de compostos fenólicos totais, a estabilidade oxidativa e os principais parâmetros de qualidade pela determinação do índice de acidez, índice de peróxidos, coeficiente de extinção específica por absorção UV, *A_w*, teor de clorofilas e carotenoides. Os resultados demonstraram que a infusão permanente das formas desidratada (AOEVD) e *in natura* (AOEVIN) de alho ao azeite de oliva aumentou a capacidade antioxidante dos tratamentos avaliados, contribuiu para a manutenção do teor de compostos fenólicos totais ao longo do armazenamento e retardou o processo de degradação das clorofilas. Ainda, em relação a amostra controle, sem infusão de alho, o tratamento AOEVIN apresentou o maior índice de acidez; o AOEVD apresentou a menor *A_w*; o AOEVD e AOEVIN reduziram o índice de peróxidos. O índice de peróxidos foi reduzido apenas na fase inicial do experimento e não apresentou redução desejável para impedir a peroxidação lipídica ao longo do armazenamento. Todos os tratamentos apresentaram uma perda no teor de carotenoides superior ao observado no teor de clorofilas. Sendo assim, a adição de 10 % de alho desidratado ou *in natura* de forma permanente pode aumentar a capacidade antioxidante, o teor de compostos fenólicos totais e retardar a degradação de clorofilas no azeite de oliva.

Palavras-chave: *Olea europaea L.*, *Allium sativum*, antioxidante, azeite de oliva.

ABSTRACT

Olive oil is a product widely used in Mediterranean cooking and is highly appreciated in many countries for its proven organoleptic, nutritional and medicinal properties. Adding spices to olive oil is a common industrial and artisanal practice that can affect the original physicochemical characteristics of the oil, depending on the Aw material added. Garlic (*Allium sativum*) is used to flavor olive oil, it has high levels of allicin and selenium with antioxidant capacity, in addition to a phenolic profile composed mainly of *p*-coumaric and caffeic acids. Thus, the present work evaluated the quality of extra virgin olive oil seasoned with garlic, dehydrated and in natura, individually, both in the proportion of 10g/L during permanent infusion for 50 days at 60 ± 2 °C. Analysis were carried out to determine antioxidant activity, content of total phenolic compounds, oxidative stability, and quality parameters by determining acidity, peroxide value, specific extinction by UV absorption, Aw, chlorophylls and carotenoids content. The results showed that the permanent infusion of dehydrated (AOEVD) and in natura (AOEVIN) forms of garlic in olive oil increased the antioxidant capacity of the evaluated treatments, contributed to the maintenance of the total phenolic compounds content during storage and delayed the chlorophylls degradation process. Moreover, in relation to the control sample, without garlic infusion, the AOEVIN treatment showed the highest acidity index; the AOEVD had the lowest Aw; AOEVD and AOEVIN reduced the peroxide content. The peroxide index was reduced only in the initial phase of the experiment and showed no desirable variation to prevent lipid peroxidation during storage. All treatments showed a loss for carotenoids content greater than that observed for chlorophylls content. Therefore, the permanent addition of garlic 10% dehydrated or in natura can increase the antioxidant capacity, the phenolic content and delay the degradation of chlorophylls in olive oils.

Keywords: *Olea europaeae L.*, *Allium sativum*, antioxidant, olive oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Fases do processo de produção do azeite de oliva	21
Figura 2	Fluxograma do processo industrial de produção do EVOO	22
Figura 3	Bulbilhos e planta de alho (<i>Allium sativum</i>)	31
Figura 4	Estrutura química da alicina	32
Figura 5	Atividade de água para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias	44
Figura 6	Índice de peróxidos para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias	45
Figura 7	Extinção em ultravioleta - valores de K_{232} , K_{270} e ΔK para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias	48
Figura 8	Teores de clorofila e carotenoides para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias	50
Figura 9	Alho <i>in natura</i> e alho desidratado antes da infusão (esquerda) e após a infusão e tratamento em estufa a 60 ± 2 °C por 50 dias (direita) em azeite extravirgem	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais parâmetros químicos para classificação do azeite de oliva	23
Tabela 2	Composição de ácidos graxos do azeite de oliva	25
Tabela 3	Composição fenólica do azeite de oliva	26
Tabela 4	Índice de acidez titulável para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias	43
Tabela 5	Atividade de água para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias	65
Tabela 6	Índice de peróxidos para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C em 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.....	66
Tabela 7	Extinção específica no ultravioleta para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.....	67
Tabela 8	Teores de clorofila e carotenoides para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliados pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.....	68
Tabela 9	Curvas analíticas utilizadas para a determinação do teor fenólico total e capacidade antioxidante.....	52
Tabela 10	Compostos fenólicos totais para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 30 e 50 dias.....	53
Tabela 11	Atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de <i>Schaal</i> a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 30 e 50 dias.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade Antioxidante
ABTS	Radical livre estável 1,1- difenil-2-picrilhidrazil
AOEVD	Azeite extravirgem condimentado com alho desidratado
AOEVIN	Azeite extravirgem condimentado com alho <i>in natura</i>
AOEVP	Azeite extravirgem puro
AGLs	Ácidos graxos livres
ANOVA	Análise de variância
Aw	Atividade de água
BHT	Hidroxitolueno-2-butilado
CEE	Comunidade Econômica Europeia
CFT	Compostos fenólicos totais
COI	Conselho Oleícola Internacional
COVs	Compostos orgânicos voláteis
DAUSA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
DG	Diacilgliceróis
DPPH	Radical 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6- ácido sulfônico)
EVOO	Azeite de oliva extravirgem
IA	Índice de acidez
IP	Índice de peróxidos
LA	Ácido linoleico
LnA	Ácido linolênico
LOX	Via da lipoxigenase
mEq	Miliequivalente
NAOH	Hidróxido de sódio
O ₂	Oxigênio
ox-TG	Triacilgliceróis oxidados
RSC	Sequestro de radicais livres
T0	Tempo zero
T10	10 dias
T20	20 dias
T30	30 dias

T40	40 dias
T50	50 dias
TGP	Triacilglicerol
UV	Ultravioleta
μl	Microlitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	CARACTERÍSTICAS GERAIS DA OLIVEIRA (<i>Olea europaea</i> L.)	18
3.1.1	Composição química das azeitonas	19
3.2	AZEITE DE OLIVA	20
3.2.1	Produção do azeite de oliva	20
3.2.2	Composição química do azeite de oliva	24
3.3	BENEFÍCIOS DO AZEITE DE OLIVA PARA SAÚDE	27
3.4	AZEITE DE OLIVA CONDIMENTADO	28
3.4.1	Azeite de oliva condimentado com alho (<i>Allium sativum</i>)	30
3.5	OXIDAÇÃO DE AZEITES	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1	MATÉRIAS-PRIMAS	35
4.2	PREPARO DO AZEITE CONDIMENTADO	35
4.3	ANÁLISES DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA	35
4.3.1	Acidez livre	35
4.3.2	Análise do coeficiente de extinção específica em ultravioleta	36
4.3.3	Índice de peróxidos	37
4.4	TESTE DE ESTABILIDADE TÉRMICA	38
4.5	ANÁLISES DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	38
4.5.1	Capacidade de sequestro do radical ABTS	39
4.5.2	Capacidade de sequestro do radical DPPH	39
4.6	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	39
4.7	DETERMINAÇÃO DE CLOROFILA E CAROTENOIDES	40
4.8	ATIVIDADE DE ÁGUA	41
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	PREPARO DO AZEITE CONDIMENTADO	41
5.2	ÍNDICE DE ACIDEZ E ATIVIDADE DE ÁGUA	42

5.3	ÍNDICE DE PERÓXIDOS	45
5.4	EXTINÇÃO ESPECÍFICA NO ULTRAVIOLETA	47
5.5	TEORES DE CLOROFILA E CAROTENOIDES	49
5.6	TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	52
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
	REFERÊNCIAS	58
	APÊNDICE A	65
	APÊNDICE B	66
	APÊNDICE C	67
	APÊNDICE D	68

1 INTRODUÇÃO

O azeite de oliva representa a principal fonte de lipídios da dieta de países mediterrâneos, conhecido como ingrediente essencial na dieta das populações com impacto na saúde e no bem-estar (PERESTRELO *et al.*, 2017). Os benefícios nutricionais devidos ao consumo do azeite de oliva estão relacionados principalmente à sua composição de ácidos graxos, ao alto teor de ácido oleico e à razão equilibrada de ácidos graxos saturados e poli-insaturados (MAKNI *et al.*, 2015).

Os benefícios do azeite na saúde humana são atribuídos principalmente aos compostos fenólicos e a capacidade antioxidante, importantes na prevenção de muitas doenças, como câncer, distúrbios inflamatórios, degeneração neurológica, doenças coronárias e diabetes *mellitus* tipo 2 (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018; PERESTRELO *et al.*, 2017; SACCHI *et al.*, 2017). Também são atribuídos aos polifenóis do azeite de oliva as propriedades antialérgicas, antiaterogênicas, antitrombóticas, antimutagênicas, anticâncer, antiangiogênicas, antiapoptóticas e antimicrobianas (GORZYNIK-DEBICKA *et al.*, 2018; GUO *et al.*, 2018).

Diante da demanda crescente de azeites de oliva extravirgem no Brasil, que está entre os dez maiores importadores do mundo, e com a identificação de regiões com condições edafoclimáticas propícias à olivicultura, a produção de azeites de oliva a partir de azeitonas cultivadas no país tem crescido nos últimos anos (VILLA; OLIVEIRA, 2012).

O azeite de oliva extra virgem é um produto resultante da extração lipídica por processos físicos e mecânicos e possui um alto valor comercial agregado definido por parâmetros de qualidade mínimos e máximos, expressos em legislação específica, como teor de acidez, índice de peróxidos, índice de extinção em ultravioleta e composição de ácidos graxos (COSTA; MELLONI; FERREIRA, 2019).

No caso de azeites de oliva condimentados, uma diversidade de matérias-primas podem ser adicionadas (MANNINA *et al.*, 2012; YILMAZER *et al.*, 2016), sendo os produtos condimentados comercializados sem maiores informações sobre as alterações que a condimentação exerce no azeite. A adição destas matérias-primas durante o processo de extração ou mesmo diretamente no azeite obtido, pode ser feita na forma de óleo essencial, produto seco, *in natura* ou em diferentes

combinações (BAIANO *et al.*, 2009, BAIANO *et al.*, 2016, PERESTELO *et al.*, 2017; SACCHI *et al.*, 2017).

Entre os condimentos utilizados, destaca-se o alho (*Allium sativum*), comumente utilizado para temperar e condimentar alimentos em sua forma *in natura* ou em combinações com outros ingredientes. O alho possui alto teor de alicina com propriedades antimicrobianas e considerável teor de selênio com ação antioxidante (FELIX; MEDEIROS; MEDEIROS, 2018; FONSECA *et al.*, 2014; SHAFER; KASCHULA, 2014). Pode ser consumido ou utilizado nas suas diferentes formas de apresentação: *in natura*, inteiro, triturado, em pasta, em pó, seco ou também como óleo essencial.

Observa-se que os antioxidantes são as substâncias mais eficazes na indústria de alimentos para a produção, armazenamento, transporte e comercialização de gorduras vegetais e alimentos que contenham gordura, retardando o efeito do oxigênio atmosférico em temperaturas normais, evitando a deterioração dos alimentos para um determinado período de tempo (AYDIN; KAHYAOGU, 2020). Devido aos efeitos cancerígenos dos antioxidantes sintéticos (Bravi *et al.*, 2016; RAHILA *et al.*, 2017), o interesse pelos antioxidantes naturais aumentou, os quais são utilizados na indústria de alimentos para diversos fins devido ao seu extenso perfil de bioatividade (NADEEM *et al.*, 2014).

Ademais, existe pouca informação encontrada na literatura científica sobre azeites de oliva extravirgem condimentados pela adição de alho de forma permanente, ou seja, em contato direto e permanente com o azeite ao longo da sua vida útil. Essa pesquisa faz-se necessária para avaliar a composição físico-química do azeite após a condimentação, visando compreender o papel da aromatização nas mudanças do perfil oxidativo, perfil antioxidante e físico-químico dos azeites de oliva, além de verificar a eficiência, as vantagens e as desvantagens das propriedades bioativas da matéria-prima adicionada.

Este estudo aborda uma revisão bibliográfica sobre a produção, composição e parâmetros físico-químicos do azeite de oliva extravirgem, ação de antioxidantes e estabilidade oxidativa. Em seguida são apresentados os dados relacionados ao estudo de condimentação do azeite de oliva extravirgem com alho desidratado e *in natura* e as principais alterações dos parâmetros físico-químicos em relação a condimentação do azeite.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da adição de alho desidratado e *in natura* sobre a qualidade do azeite de oliva extravirgem.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros físico-químicos do azeite de oliva extravirgem com e sem condimentação;
- Identificar qual a forma de apresentação do alho é a mais vantajosa para a adição nos azeites de oliva pesquisados;
- Determinar se a forma de apresentação do alho adicionado interfere na capacidade antioxidante do azeite de oliva condimentado;
- Verificar se a vida útil dos azeites condimentados tem alteração ao longo do tratamento em estufa a $60 \pm 2^\circ\text{C}$.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA OLIVEIRA (*Olea europaea* L.)

A *olea europaea* L., comumente conhecida como oliveira, é nativa da região mediterrânea e constitui uma das espécies de árvores mais antigas cujos frutos são usados para a produção de azeite de oliva e serviram historicamente como base da alimentação para populações indígenas (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018; ÖZCAN; MATTHÄUS, 2017).

Oliveiras são cultivadas especialmente na região do Mediterrâneo, Ásia-Pacífico, América do Norte e do Sul (GUO *et al.*, 2018). Na América do Sul, a Argentina e o Chile são os principais produtores e exportadores de azeitonas e azeite de oliva (SILVA *et al.*, 2012). A olivicultura foi introduzida no Brasil por volta do século XIX, em regiões com condições ambientais propícias, como as regiões Sul e Sudeste (COSTA; MELLONI; FERREIRA, 2019).

A oliveira é um arbusto perene, podendo atingir uma altura entre três e quinze metros e são reconhecidas seis subespécies de oliveiras selvagem, sendo elas: *Olea cuspidata*, *Olea europaea*, *Olea laperrinei*, *Olea maroccana*, *Olea cerasiformis* e *Olea guanchica* (KASSA; KONRAD; GEBUREK, 2019).

Suas flores são brancas e pequenas, geralmente produzidas no mês de maio e seus frutos são drupas, conhecidas como azeitonas (KANIEWSKI *et al.*, 2012). Suas folhas são em formato de lança com comprimento variando entre seis e oito centímetros. Seus frutos são drupas caracterizadas por um endocarpo lignificado contendo uma semente, um mesocarpo carnoso que contém óleo e um epicarpo fino (PORTARENA *et al.*, 2015).

Os frutos da oliveira são comumente usados para produzir azeite e azeitonas de mesa, além de outros subprodutos. Após o surgimento das drupas, as azeitonas crescem rapidamente por um período de trinta a quarenta dias. As azeitonas são encontradas em várias formas e tamanhos, tendo em média de dois a três centímetros de largura, sendo que o comprimento e o peso total de uma azeitona variam de cinco até vinte gramas (HABIBI *et al.*, 2015).

No estágio de amadurecimento, as azeitonas mudam de cor devido a uma diminuição progressiva do teor total de clorofila e carotenoides, seguido pelo aparecimento de antocianinas (GUO *et al.*, 2018). Assim, azeitonas verdes produzem

óleo esverdeado, devido ao alto teor de clorofila e as azeitonas maduras produzem óleo amarelado devido a presença de carotenoides.

O principal produto da oliveira são os frutos, contudo as folhas da oliveira são utilizadas popularmente desde a antiguidade como erva medicinal (ÖZCAN; MATTHÄUS, 2017) e como alimento de animais (GUO *et al.*, 2018).

3.1.1 Composição química das azeitonas

A azeitona e seus produtos relacionados, especialmente o azeite extravirgem, possuem aroma e sabor característicos, que os diferenciam de outros produtos similares (YILMAZER *et al.*, 2016).

Os principais constituintes da polpa de azeitona são a água (60 a 75%) e os lipídios (10 a 25%). As azeitonas têm um teor mais baixo de açúcar (2–5%) e um teor mais alto de gordura (10-25%) do que outras drupas (GUO *et al.*, 2018). Pasquale *et al.* (2014) demonstraram que a fração lipídica da azeitona inclui uma mistura complexa de oligopolímeros de triacilglicerol (TGP), triacilglicerois oxidados (ox-TG) e diacilglicerois (DG).

Além de serem fontes de lipídios, as azeitonas também possuem quantidades consideráveis de minerais e vitaminas, incluindo cálcio, ferro, potássio, sódio, vitamina E e vitamina K (GUO *et al.*, 2018).

As azeitonas contêm compostos fenólicos hidrofílicos, incluindo compostos fenólicos simples (ácido vanílico, ácido gálico, ácido cumárico e ácido cafeico, hidroxitirosol e tirosol) e compostos complexos como secoiridoides (incluindo oleuropeína e ligstrosídeo) e lignanas (como 1-acetoxipinoresinol e pinoresinol) (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018).

A oleuropeína e a sua forma aglicônica, são os principais responsáveis, entre os compostos fenólicos, pelo sabor amargo das azeitonas frescas e do azeite virgem (CIAFARDINI; ZULLO, 2018). As azeitonas também contêm quantidades consideráveis de flavonoides como apigenina, quercetina-3-rutinosídeo (rutina) e antocianinas (GUO *et al.*, 2018).

3.2 AZEITE DE OLIVA

3.2.1 Produção do azeite de oliva

O azeite de oliva extravirgem é extraído do fruto da oliveira exclusivamente por métodos mecânicos e/ou físicos, sem usar etapas de refino químico (PERESTRELO *et al.*, 2017). Após a colheita na fase inicial do amadurecimento, as azeitonas são separadas das folhas e galhos, submetidas à lavagem e finalmente processadas usando moinhos trituradores tradicionais ou moinhos contínuos caracterizados por duas ou três fases (CIAFARDINI; ZULLO, 2018; ORTEGA *et al.*, 2016).

Os sistemas contínuos, conhecidos como sistemas bifásicos ou trifásicos, substituíram quase completamente o sistema tradicional pois possuem maior capacidade de trabalho (CIAFARDINI; ZULLO, 2018). As azeitonas processadas nos moinhos de óleo contínuos são primeiramente esmagadas com moinhos de martelo e, posteriormente, a pasta é submetida a malaxação em um termomisturador onde é desemulsificada. Posteriormente, esta pasta é centrifugada em uma centrífuga horizontal de alta velocidade separadora ou decantadora para separar o óleo das fases sólida e aquosa (CIAFARDINI; ZULLO, 2018; ORTEGA *et al.*, 2016).

Alternativamente, a pasta é adicionada de uma pequena quantidade de água e centrifugada usando um decantador de baixa velocidade para separar o sólido da fase líquida e, finalmente, o azeite é separado da fração aquosa em um separador de centrifuga vertical (CLODOVEO, 2012). A seguir pode ser filtrado e envasado.

Os processos mecânicos utilizados para extrair o azeite da fruta (Figura 1) incluem o esmagamento das azeitonas, a malaxação das pastas resultantes e a separação da fase oleosa, essencialmente por pressão ou centrifugação e a filtração (AMIRANTE *et al.*, 2010; ORTEGA *et al.*, 2016). A malaxação da pasta de azeitona é essencial para a produção do azeite de oliva virgem (VOO). É importante extrair a quantidade máxima de azeite, com a quantidade adequada de antioxidantes e preservar o melhor sabor possível (CLODOVEO, 2012). A fase de malaxação resulta na liberação de compostos fenólicos presentes na própria massa de azeitonas que exercem uma forte pressão seletiva sobre os microrganismos contaminantes com

capacidade de eliminar algumas bactérias, bem como certos grupos de leveduras (CIAFARDINI; CIOCCIA; ZULLO, 2017).

Figura 1 - Fases do processo de produção do azeite de oliva.



Fonte: adaptado de ORTEGA *et al.*, 2016.

Durante o armazenamento em condições adequadas, as características físico-químicas do azeite melhoram devido à sedimentação do material em suspensão e à hidrólise de moléculas fenólicas complexas (CIAFARDINI; ZULLO, 2018).

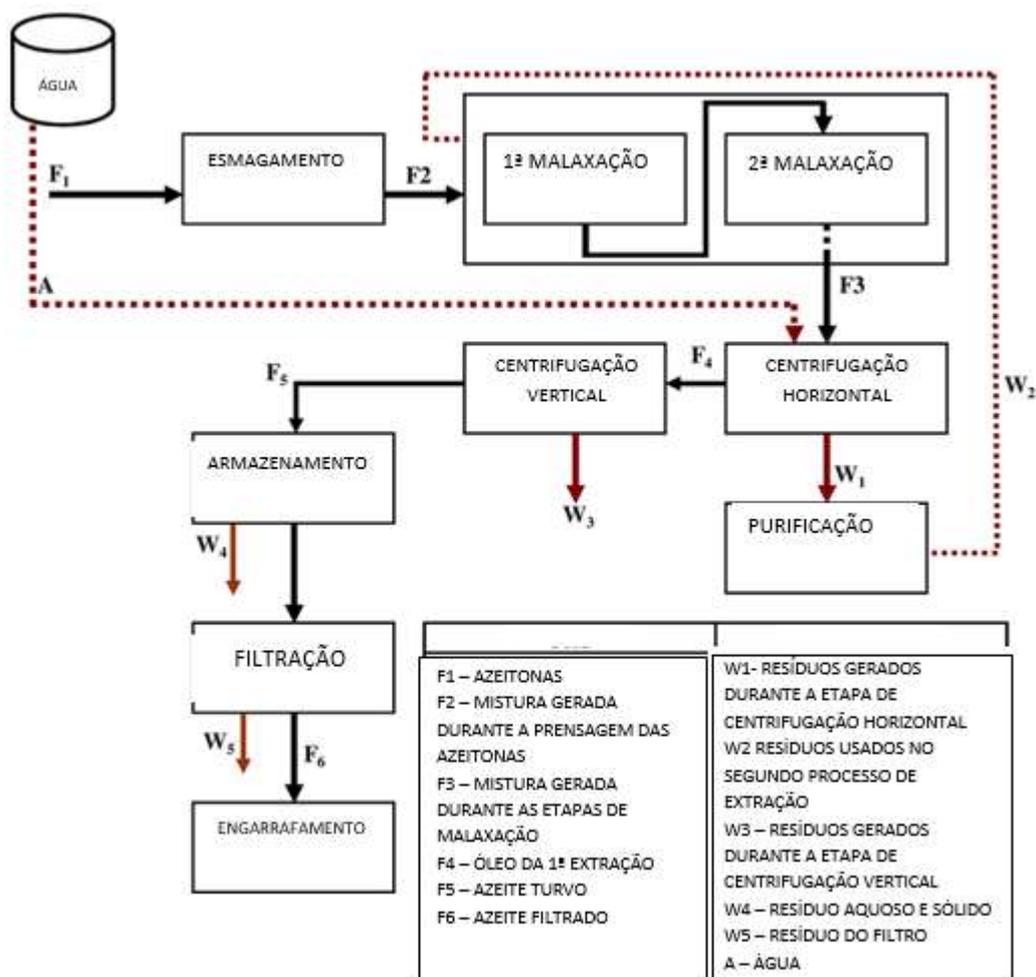
Segundo Frankel *et al.*, (2013) são gerados uma grande quantidade de subprodutos a partir dos diferentes tipos de processamento (Figura 2), em geral o primeiro resíduo é gerado durante o processo de centrifugação horizontal, o segundo ocorre durante o processo da extração do azeite, o terceiro durante a centrifugação vertical. O primeiro subproduto dos resíduos líquidos é conhecido como água residual de moinho de azeitona. O segundo subproduto é um resíduo sólido chamado bagaço ou orújo, proveniente do filtro.

As azeitonas, em geral, são muito sensíveis a danos físicos durante a colheita, armazenamento, pós-colheita e fatores que resultam no crescimento de leveduras, bactérias e fungos, que podem ser responsáveis por defeitos sensoriais do azeite de oliva durante as fases de extração (CIAFARDINI; ZULLO, 2018). Além disso, cada variedade de azeitona deve ser colhida no momento ideal para obter o azeite de alta qualidade ou com o mais alto teor fenólico, o que depende de fatores endógenos e exógenos (GUO *et al.*, 2018).

A qualidade do azeite virgem é definida de acordo com seus parâmetros químicos, incluindo teor de ácidos graxos livres, valores de peróxidos, coeficiente de extinção específico por UV (K_{232} e K_{270}) e características sensoriais (CIAFARDINI, ZULLO, 2018). No ponto de vista sensorial, a classificação do azeite é baseada na

detecção de certos atributos negativos (por exemplo, empoeirados, mofados, vinagres e barrentos) e medições da intensidade de três atributos positivos (por exemplo, frutado, amargor e pungência).

Figura 2 - Fluxograma do processo industrial de produção do EVOO.



Fonte: adaptado de FRANKEL *et al.*, 2013

O Conselho Oleícola Internacional (COI), o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (DAUSA) e a Comunidade Econômica Europeia (CEE) fiscalizam e classificam os padrões de azeites de oliva atualmente disponíveis no mercado (Tabela 1).

O azeite extravirgem surge da primeira prensagem de azeitonas frescas, normalmente dentro de 24 horas após a colheita. É extraído por meios mecânicos não induzidos quimicamente, sem o uso de aquecimento excessivo, pois as temperaturas de extração são inferiores a 28 °C. Seu perfil de ácido graxo livre ou nível de acidez

deve ser menor ou igual a 0,8%, com sabor e odor ideais (CIAFARDINI, ZULLO, 2018; FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018). O azeite virgem também surge da primeira prensagem de azeitonas, mas possui níveis de acidez menores ou iguais a 2% (CIAFARDINI, ZULLO, 2018; FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018).

Tabela 1 – Principais parâmetros químicos para classificação do azeite de oliva.

Categoria	Acidez (%)*	Índice de peróxidos (mEq O ₂ / kg)	K ₂₃₂		Delta-K
				268 ou K ₂₇₀	
1. Azeite extra virgem	≤0,80	≤20,0	≤2,50	≤0,22	≤0,01
2. Azeite virgem	≤2,0	≤20,0	≤2,60	≤0,25	≤0,01
3. Azeite lampante	≤2,0				
4. Azeite refinado	≤0,30	≤5,0		≤1,25	≤0,16
5. Azeite (constituído por azeites refinados e azeites virgens)	≤1,00	≤15,0		≤1,15	≤0,15
6. Óleo de bagaço de azeitona bruto					
7. Óleo de bagaço de azeitona refinado	≤0,30	≤5,0		≤2,00	≤0,20
8. Óleo de bagaço de azeitona	≤1,00	≤15,0		≤1,70	≤0,18

Fonte: adaptado de CEE, 2019; CIAFARDINI, ZULLO, 2018.

O óleo de oliva possui uma qualidade inferior ao azeite e é constituído por uma mistura de azeite de oliva virgem e óleo de oliva refinado pelo uso de agentes como ácidos, bases e calor para extrair o máximo de óleo possível da polpa de azeitona que permanece após o final da primeira prensagem. O óleo lampante é um azeite virgem que não é adequado ao consumo humano porque possui um sabor indesejável proveniente de azeitonas com baixo grau de qualidade (AUED-PIMENTEL *et al.*, 2013).

O óleo de bagaço é um subproduto da produção do azeite extravirgem. A pele, as sementes e a polpa da azeitona são aquecidas e o óleo restante é extraído usando o hexano como solvente. O resultado desse processo, ou seja, o óleo de bagaço de oliva, é posteriormente refinado. O óleo de bagaço tem efeitos limitados na

saúde humana, pois possui baixa atividade antioxidante e funcional (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018).

3.2.2 Composição química do azeite de oliva

A composição química do azeite de oliva varia de acordo com a variedade, região, altitude, tempo de colheita, processo de extração e composição da microbiota do produto (AGIOMYRGIANAKI; PETRAKIS; DAIS, 2012). Também pode ser afetada pelo grau de maturação dos frutos, período de colheita, condições climáticas, técnicas de processamento e condições de armazenamento, as cultivares e suas misturas ou misturas de frutos (PERESTRELO *et al.*, 2017; ROMANIELLO; BAIANO, 2018).

Baiano *et al.* (2016) comprovaram em seus estudos que os parâmetros analíticos de qualidade do azeite de oliva extravirgem, como valor de peroxidase, índices espectrofotométricos, perfis fenólicos e atividade antioxidante, diferem entre cultivares e também para uma mesma cultivar em diferentes locais de cultivo.

O azeite de oliva é composto por dois grupos principais: os compostos saponificáveis, que representam quase 98% da composição química, incluindo triglicerídeos, ésteres de ácidos graxos, ácidos graxos não esterificados livres, esteróis e fosfatídeos, e os compostos insaponificáveis, que representam 2% de toda a composição do azeite, formado por componentes menores, como hidrocarbonetos (esqualeno), fitoesteróis (β -sitosterol, estigmasterol e campesterol), tocoferóis, carotenóides, pigmentos (clorofilas), álcoois alifáticos e triterpênicos, ácidos triterpênicos, compostos fenólicos, flavonóides e compostos orgânicos voláteis (PERESTRELO *et al.*, 2017; SERRELI; DEIANA, 2018).

A fração saponificável é caracterizada por alta proporção de lipídios insaturados e baixa proporção de lipídios saturados (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018). O ácido graxo predominante presente nos triacilgliceróis do azeite de oliva é o ácido oléico (55 a 83%), seguido pelos ácidos graxos linoleico (3,5-21%), palmítico (7,5-20%), esteárico (0,5-5%) e palmitoleico (0,3-3,5%) (TONIN *et al.*, 2018; GORZYNIK-DEBICKA *et al.*, 2018). Os ácidos mirístico (C14:0), heptadecanoico e eicosanoico são encontrados em quantidades traço (SERRELI; DEIANA, 2018). O percentual de ácidos graxos presentes nos azeites pode ser observado na Tabela 2.

Na fração insaponificável do azeite, os compostos orgânicos voláteis (COVs) são responsáveis pelo aroma enquanto os compostos não voláteis, como os compostos fenólicos, determinam a qualidade que permite distinguir o azeite de outros óleos vegetais comestíveis (APARICIO-RUIZ *et al.*, 2016). Os tocoferóis, os carotenoides, os esteróis e os compostos fenólicos são os antioxidantes naturais mais importantes do azeite e com efeitos funcionais benéficos à saúde (ASENSIO; NEPOTE; GROSSO, 2013).

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos do azeite de oliva.

Ácido graxo	Percentagem (%) no total de ácidos graxos
C14:0 – Mirístico	≥ 0,05
C16:0 – Palmítico	7,50 a 20,0
C16:1 – Palmitoleico	0,3 a 3,5
C17:0 – Margárico	≥ 0,3
C17:1 – Heptadecenoico	≥ 0,3
C18:0 – Esteárico	0,5 a 5,0
C18:1 – Oleico	55,0 a 83,0
C18:2 – Linoleico	3,5 a 21,0
C18:3 – Linolênico	≥ 1,0
C20:0 – Araquídico	≥ 0,6
C20:1 – Eicosenoico	≥ 0,4
C22:0 – Behênico	≥ 0,2
C24:0 – Lignocérico	≥ 0,2

Fonte: BRASIL, 2018; COI, 2018.

Entre os tocoferóis, a vitamina E compreende 90% do conteúdo total de tocoferol presente no azeite de oliva na concentração de 100 a 380 mg/kg (GONÇALVES; MARÇO; VALDERRAMA, 2015). A maior parte da clorofila presente está na forma α e, em menor quantidade na forma β . Os principais carotenóides encontrados são a luteína e o β -caroteno, seguidos por compostos menores como violaxantina, neoxantina, luteoxantina, antheraxantina, mutatoxantina e β -criptoxantina (SERRELI; DEIANA, 2018).

Além do hidroxitirosol (2- (3,4-di-hidroxifenil) etanol, HT) e do tirosol (2- (4- hidroxifenil) etanol, Tyr), mais de 30 compostos fenólicos foram encontrados. Estes

compostos são os principais responsáveis pelas propriedades organolépticas características do azeite virgem, principalmente pelo sabor amargo. Também contribuem para a adstringência e resistência a oxidação (CIAFARDINI; ZULLO, 2018, GORZYNIK-DEBICKA *et al.*, 2018). O teor de antioxidantes do azeite exibe um papel fundamental para a maioria das suas atividades biológicas e para o valor nutricional do produto final (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018; GUO *et al.*, 2018).

O azeite de oliva não filtrado preserva polifenóis adicionais de polaridade mais alta, os quais normalmente são perdidos após a adição de água antes da centrifugação e também são removidos após a filtração. Assim, devido aos processos tecnológicos utilizados, o conteúdo final de polifenóis pode variar no azeite de oliva (GORZYNIK-DEBICKA *et al.*, 2018).

Os compostos fenólicos ocorrem na forma de ácidos fenólicos ou álcoois, derivados da oleuropeína, lignanas e flavonoides. Servili *et al.* (2009) afirmam que as principais classes de polifenóis do azeite de oliva extravirgem são os secoiridoides, os feniletanoides, os ácidos fenólicos, os flavonoides, os hidroxí-isocromanos e as lignanas (Tabela 3).

Tabela 3 – Composição fenólica do azeite de oliva.

ÁCIDOS FENÓLICOS E DERIVADOS	FLAVONAS	SECORIDOIDES
Ácido vanílico	Apigenina	Dialdeído do ácido elenólico descarboximetil ligado 3,4-DHPEA (3,4-DHPEA-EDA)
Ácido siríngico	Luteolina	Dialdeído do ácido elenólico descarboximetil ligado 3,4-p-HPEA (3,4-p-HPEA-EDA)
Ácido p-cumárico		Aglicona de oleuropeína (3,4-DHPEA-EA)
Ácido o-cumárico		Aglicona de ligstrosídeo
Ácido gálico		Oleuropeína
Ácido cafeico		p-HPEA-derivados
Ácido protocatecuico		Dialdeído de aglicona oleuropeína
Ácido p-hidroxibezoico		Dialdeído de aglicona ligstrosídeo
Ácido ferúlico		
Ácido anâmico		
4- (atoxietil) -1,2-di-hidroxibenzeno		
Ácido benzoico		
LIGNANAS	HIDROXI-ISOCROMANOS	ÁLCOOIS FENÓLICOS
Acetoxipinoresinol		(3,4-di-hidroxifenil) etanol (3,4 DHPEA)
Pinoresinol		(P-hidroxifenil) etanol (p-HPEA)
		(3,4-di-hidroxifenil) etanol-glicosídeo

Fonte: adaptado de SERVILI *et al.*, 2009.

Conforme Bajoub *et al.* (2015), o perfil volátil do azeite é composto por mais de 100 componentes identificados, sendo que a maioria deles possui concentrações muito baixas (ppm ou menos), o que inclui aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres, compostos de furano, hidrocarbonetos terpênicos saturados e insaturados, mas apenas uma pequena fração contribuiu para o aroma geral do azeite (PERESTRELO *et al.*, 2017). A fração volátil do azeite virgem é caracterizada por compostos de baixo peso molecular que vaporizam à temperatura ambiente (PROCIDA, 2016).

As vias envolvidas na produção de compostos voláteis no azeite virgem desempenham um papel importante na qualidade do azeite. O dímero de hexanol, 3-hexenol, 2-hexenal e penteno é produzido enzimaticamente a partir de ácidos graxos poli-insaturados através de diferentes ramos da via da lipoxigenase (LOX): o hexanol possui ácido linoleico (LA) como precursor, 3-hexenol e 2-hexenal derivam do ácido linolênico (LnA), enquanto os dímeros de penteno são gerados pela dimerização dos radicais 1,3-penteno. A via LOX é o processo mais importante para a geração de compostos voláteis em azeites obtidos de frutos maduros e saudáveis processados adequadamente (PIZARRO *et al.*, 2011).

3.3 BENEFÍCIOS DO AZEITE DE OLIVA PARA SAÚDE

O azeite de oliva representa a principal fonte de lipídios da dieta de países mediterrâneos, conhecido como ingrediente essencial na dieta das populações, e com grande impacto na saúde e no bem-estar (PERESTRELO *et al.*, 2017).

Os benefícios nutricionais estão relacionados principalmente à composição de ácidos graxos, devido ao alto teor de ácido oleico e também à razão equilibrada de ácidos graxos saturados e poli-insaturados (MAKNI *et al.*, 2015).

Os benefícios do azeite na saúde humana foram atribuídos principalmente aos compostos fenólicos e a capacidade antioxidante, importantes na prevenção de muitas doenças, como câncer, distúrbios inflamatórios, degeneração neurológica, doenças coronárias e diabetes mellitus tipo 2 (FOSCOLOU; CRITSELIS; PANAGIOTAKOS, 2018; PERESTRELO *et al.*, 2017; SACCHI *et al.*, 2017). Também são atribuídos aos polifenóis do azeite de oliva as propriedades antialérgicas, antiaterogênicas, antitrombóticas, antimutagênicas, anticâncer, antiangiogênicas,

antiapoptóticas e antimicrobianas (GORZYNIK-DEBICKA *et al.*, 2018; GUO *et al.*, 2018).

Os efeitos benéficos dos polifenóis do azeite de oliva extravirgem estão diretamente relacionados ao hidroxitirosol e ao tirosol e seus derivados secoiridoides como a oleuropeína que estão fortemente relacionados à capacidade da molécula de eliminar radicais livres, de ativar sistemas antioxidantes endógenos e desenvolver uma atividade quimiopreventiva através da modulação do sistema imunológico humano (SERRELI; DEIANA, 2018). Assim, afetam a proliferação dos glóbulos brancos e a produção de citocinas, bem como neutralizam metabólitos potencialmente cancerígenos (FABIANI, 2016; GORZYNIK-DEBICKA *et al.*, 2018).

Estudos *in vitro* demonstraram que os metabólitos fenólicos são capazes de exercer efeitos benéficos, modulando a sinalização intracelular. Em nível cardiovascular e gastrointestinal, os metabólitos mostraram a capacidade de melhorar a condição fisiológica e prevenir o aumento da inflamação e do estresse oxidativo (SERRELI; DEIANA, 2018).

3.4 AZEITE DE OLIVA CONDIMENTADO

Azeites condimentados, aromatizados ou *gourmet* são obtidos por adição de vegetais, condimentos, ervas ou frutas em uma das etapas do processo de produção do azeite, com o objetivo de melhorar as propriedades sensoriais, nutricionais e a vida útil do produto final (CLODOVEO *et al.*, 2016; ROMANIELLO; BAIANO, 2018).

O aumento na produção e no consumo de azeite aromatizado tem importância na indústria de alimentos para atender aos consumidores que buscam produtos com diferentes gostos, aromas, propriedades e sabores (YILMAZER *et al.*, 2016; MANNINA *et al.*, 2012; BAIANO *et al.*, 2016). Também se destaca o interesse dos consumidores sobre os efeitos nutricionais das ervas e especiarias adicionadas, uma vez que elas são consideradas fontes de antioxidantes naturais (CLODOVEO *et al.*, 2016). Assim, essas características podem ser usadas pelos produtores para elaborar azeites de alta qualidade, que contribuem para a valorização econômica do produto (PERESTRELO *et al.*, 2017). Além disso, os azeites aromatizados são apreciados por seu sabor exclusivo e a possibilidade de diferentes usos culinários.

Plantas aromáticas podem ser adicionadas no azeite de oliva e contribuir com óleos essenciais além de compostos com propriedades antimicrobianas e antioxidantes com o objetivo de melhorar o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante (CLODOVEO *et al.*, 2016). Entre as matérias primas usadas na condimentação do azeite de oliva, destacam-se: óleos essenciais (hortelã, tomilho); frutas (maçã, banana, laranja, limão, tangerina); ervas aromáticas (manjeriço, erva-doce, zimbro, louro, lavanda, hortelã, orégano, alecrim, sálvia, tomilho); cogumelos (cogumelos Porcini e outras espécies); nozes (amêndoas, avelãs, pinhões); especiarias (cravo, gengibre, nóz-moscada); e legumes (tomate seco, alho, pimentas, cebola, pepino), entre outros (CIAFARDINI; ZULLO, 2018; MANINA *et al.*, 2012; SACCHI *et al.*, 2017; SOUSA *et al.*, 2015). Podem também ser adicionados três tipos de aromas: aromas naturais, extraídos diretamente das plantas; aromas idênticos aos naturais, obtidos em laboratório; e aromas artificiais, que não existem na natureza, mas reproduzem o mesmo aroma, cheiro ou sabor dos produtos correspondentes (MANNINA *et al.*, 2012).

Os principais métodos de condimentação do azeite de oliva compreendem a infusão e a adição de especiarias durante a prensagem ou malaxação. A infusão consiste em colocar o material aromatizante em contato com o azeite, geralmente à temperatura ambiente, sob agitação constante. A adição de ervas, especiarias ou vegetais ocorre durante o processamento diretamente ao material submetido a prensagem/trituração ou na etapa de malaxação (BAIANO *et al.*, 2016; MANNINA *et al.*, 2012; ROMANIELLO; BAIANO, 2018; SOUSA *et al.*, 2015; YILMAZER *et al.*, 2016). Contudo, na etapa de trituração das azeitonas, não é fácil ajustar a concentração de planta aromática adicionada devido à distribuição não homogênea de folhas, peças lenhosas e tempo limitado de contato (YILMAZER *et al.*, 2016).

Clodoveo *et al.* (2016) descreve um terceiro método que é a utilização do ultrassom antes da formação da pasta de azeitona na malaxação. Em seus estudos o ultrassom inibiu a polifenoloxidase da azeitona, a enzima endógena responsável pela oxidação do fenol do azeite. Este tratamento de pasta de azeitona misturada com ervas antes da malaxação foi identificado como o método mais favorável devido à melhor eficiência, menor consumo de tempo e melhoria da qualidade do azeite aromatizado. No entanto, esses métodos apresentam algumas desvantagens, como turbidez, super dosagem e co-extração de constituintes indesejáveis. Além disso,

alguns componentes indesejáveis, como as ceras ou alguns micro-organismos podem ser co-extraídos juntamente com compostos aromatizantes e, conseqüentemente, modificar as características sensoriais e a estabilidade do produto (MANNINA *et al.*, 2012).

O azeite aromatizado obtido com infusões de óleo/vinagre preparadas e filtradas promove o risco de instabilidade física do produto, pois é uma dispersão de óleo em água (SACCHI *et al.*, 2017). A fim de evitar reações hidrolíticas, os materiais aromatizantes devem ser adicionados preferencialmente após a remoção da umidade. As modificações do método de infusão, projetadas para reduzir o tempo de produção, incluem a aplicação de condições de vácuo ou atmosfera de nitrogênio e a extração assistida por aquecimento ou por micro-ondas (BAIANO *et al.*, 2016).

Nos azeites aromatizados, a variabilidade das características físicas, químicas e sensoriais é aumentada pelo tipo e quantidade de agente aromatizante e pelo método de aromatização (CAPONIO *et al.*, 2016; BAIANO *et al.*, 2016). A adição de aromatizantes no azeite melhora características sensoriais, mas a concentração deve ser mantida em níveis baixos ou moderados para garantir a aceitabilidade sensorial pelos consumidores (SOUSA *et al.*, 2015). Além disso, os azeites aromatizados são afetados diretamente pela presença de agentes aromatizantes, pois o valor da acidez depende do material alimentar adicionado no processo (SACCHI *et al.*, 2017).

Especiarias e ervas, após a infusão em azeite de oliva virgem, geralmente promovem um aumento da concentração biofenólica, devido à migração de compostos fenólicos, flavonoides e tocoferóis para o azeite (SACCHI *et al.*, 2017). Assim, a qualidade, a estabilidade e a vida útil dos azeites podem ser afetadas pelos compostos antioxidantes e/ou pró-oxidantes adicionados (SOUSA *et al.*, 2015).

3.4.1 Azeite de oliva condimentado com alho (*Allium sativum*)

A condimentação de azeites de oliva extravirgem com alho é uma prática conhecida. A adição alho *in natura* ou seco ao azeite extravirgem antes do processo de malaxação é o método mais utilizado (BAIANO *et al.*, 2009). Porém, a infusão com alho seco 10% (CAPONIO *et al.*, 2016; BAIANO *et al.*, 2016; ROMANIELLO; BAIANO, 2018), alho "*in natura*" triturado nas concentrações de 1% (CIAFARDINI; ZULLO, 2018;

SOUSA *et al.*, 2015) e 5% (CIAFARDINI; ZULLO, 2018) seguido de filtração também são utilizadas.

O alho (*Allium sativum*) é uma espécie vegetal não endêmica do Brasil e de origem asiática, porém cultivada mundialmente para aplicações como condimento alimentar e para fins medicinais (BURIAN; SACRAMENTO; CARLOS, 2017). É uma planta herbácea que pertencente à família Amaryllidaceae e contém mais de 700 espécies (FONSECA *et al.*, 2014). O bulbo é subgloboso, composto por 6 a 20 bulbilhos (dentes-de-alho), de diferentes tamanhos, reunidos sob um invólucro comum de várias folhas protetoras escamosas, esbranquiçadas ou rosadas, inteiras e membranáceas, que se destacam facilmente. Os bulbilhos (Figura 3) estão inseridos em um pequeno caule, discoide, achatado, que apresenta em sua porção mediana superior um prolongamento que corresponde ao escapo. Na face inferior do caule partem numerosas raízes adventícias fibrosas, amarelo-esbranquiçadas (VIEIRA, 2012).

Figura 3 – Bulbilhos e planta de alho (*Allium sativum*).

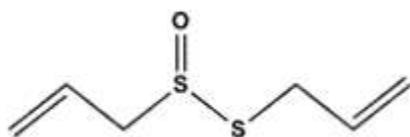


Fonte: VIEIRA, 2012.

O bulbilho tem coloração esbranquiçada, rósea ou violácea, é ovoide, comprimido lateralmente, ligeiramente arqueado, assimétrico, com três a quatro lados, com a face externa convexa, as faces laterais planas e a face interna plano-côncava; sendo que a porção inferior mostra a cicatriz de sua inserção no caule. Cada bulbilho é envolvido por um prófalo escarioso e protetor, que circunda um catáfilo de reserva carnoso e suculento (ANVISA, 2019).

A estrutura química do alho é muito complexa e talvez seja feita como uma forma de autoproteção contra microrganismos e outras ameaças principalmente presentes no solo (BURIAN; SACRAMENTO; CARLOS, 2017). A alicina (Figura 4) é o principal componente do alho, sendo atribuída a ela a maior parte das suas atividades biológicas, como as ações bactericida, antifúngica e antiviral. Porém, outros compostos do alho apresentam atividade antioxidante, hipocolesterolemiantes, vasodilatadora, ação imunomoduladora e protetora contra diversos tipos de cânceres (ASLANI *et al.*, 2011; BURIAN; SACRAMENTO; CARLOS, 2017; FONSECA *et al.*, 2014).

Figura 4- Estrutura química da alicina.



Fonte: SHAFER; KASCHULA, 2014.

A alicina não tem uma estrutura estável o que permite a conversão rápida em compostos sulfurosos que possuem alta atividade oxidante (AYDIN; KAHYAOGU, 2020). Os compostos organossulfurados mais abundantes foram o metil-sulfinil-sulfanil-metano, 3-metil-sulfinil-sulfanil-propeno e 3- metil-sulfanil-sulfinil-propeno (ASLANI *et al.*, 2011). Alguns compostos sulfurados presentes no alho possuem atividade hipotensora, hipoglicemiante, hipocolesterolêmica e antiagregante plaquetária, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (FONSECA *et al.*, 2014).

Além da alicina e dos compostos sulfurados, o extrato de alho possui como metabólitos secundários, taninos, alcaloides, cumarinas e flavonoides, os quais podem também estar relacionados à sua atividade capacidade antioxidante e antimicrobiana (FELIX; MEDEIROS; MEDEIROS, 2018; SHAFER; KASCHULA, 2014).

Os compostos fenólicos predominantes identificados no alho fresco foram os ácidos *p*-cumárico e cafeico (ASLANI *et al.*, 2011). Estes compostos fenólicos apresentam propriedades antioxidantes com o efeito de elementos como a formação de complexos com íons metálicos, eliminação de radicais livres e interrupção ou redução da formação de oxigênio singlete, fornecendo o hidrogênio no anel aromático para prevenir a oxidação de lipídios, proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos, pelos radicais livres (AYDIN; KAHYAOGU, 2020).

O alho também possui considerável teor de selênio que possui capacidade antioxidante (FONSECA *et al.*, 2014). O selênio previne a produção de radicais livres de forma mais eficaz do que a vitamina E, assim, a presença simultânea de selênio, *B*-caroteno e fenois em um alimento, como o EVOO, pode aumentar substancialmente sua atividade antioxidante (D'AMATO *et al.*, 2014).

3.5 OXIDAÇÃO DE AZEITES

A oxidação lipídica produz hidroperóxidos a partir de ácidos graxos livres que se decompõem em produtos de reação secundária, como aldeídos, cetonas, ácidos e álcoois, que afetam adversamente o sabor, o aroma e a qualidade nutricional do produto final (DE BOER *et al.*, 2018; ETHERTON; OMAJE, 2015; KERAMAT *et al.*, 2016).

Alguns aspectos afetam diretamente a estabilidade oxidativa dos lipídios, como a presença de ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, metais, clorofilas, carotenoides, tocoferóis, fosfolipídios, temperatura, luz, oxigênio, assim como os métodos de processamento e embalagem (KANAVOURAS; COUTELIERIS, 2017).

A estabilidade oxidativa dos lipídios pode ser afetada por dois fatores: o teor de ácidos graxos insaturados e a presença de compostos antioxidantes (ETHERTON; OMAJE, 2015). Os lipídios mais propensos à oxidação possuem a maior quantidade de ácidos graxos insaturados (ETHERTON; OMAJE, 2015; MOSCA *et al.*, 2013).

O azeite de oliva contém um alto conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados (55-88%), como ácido oleico e baixo conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados (2-21%). Embora o ácido oleico tenha uma ligação dupla que possa ser oxidada, sua taxa de oxidação é muito menor que os grupos divinil-metano nos ácidos graxos poli-insaturados. Os produtos monohidroxilados gerados durante a oxidação

do ácido oleico e outros ácidos graxos monoinsaturados são mais estáveis e menos propensos à oxidação subsequente (ETHERTON; OMAYE, 2015; GONÇALVES; MARÇO; VALDERRAMA, 2015).

Além disso, o azeite de oliva virgem é mais resistente à oxidação do que outros óleos comestíveis porque contém grande quantidade de compostos fenólicos antioxidantes que podem inibir a produção de hidroperóxidos. Contudo, a presença de compostos minoritários no azeite, como os ácidos graxos livres fotossensíveis possuem ação pró-oxidante (GONÇALVES; MARÇO; VALDERRAMA, 2015; KERAMAT *et al.*, 2016).

O alto teor de polifenóis antioxidantes (hidroxitirosol, oleuropeína e tocoferol) torna o azeite virgem relativamente estável e resistente à oxidação, minimizando o risco de formação de produtos da peroxidação lipídica no armazenamento (GORZYNIK-DEBICKA *et al.*, 2018). Tanto os tocoferóis quanto os polifenóis têm afinidade com as fases polares e alcoólicas, e isso pode ser utilizado para obter o enriquecimento de uma amostra lipídica com antioxidantes e aumentar sua estabilidade oxidativa (CABRAL *et al.*, 2018)

Etherton e Omaye, (2015), sugerem que os antioxidantes podem agir sinergicamente para evitar a oxidação. Assim, estudos científicos têm se concentrado na estabilidade oxidativa de azeites enriquecidos com ervas e especiarias (KERAMAT *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2015). Outro fator que afeta os processos oxidativos do azeite de oliva é a atividade de certas leveduras da microbiota do azeite porque elas podem prejudicar sua qualidade pela atividade lipolítica e oxidação de compostos fenólicos e hidrólise de triacilglicerol (CIAFARDINI; ZULLO, 2018).

Durante o armazenamento a oxidação lipídica pode ser medida pela determinação analítica de parâmetros de qualidade físico-química (KORIFI *et al.*, 2016). Vários fatores afetam a auto-oxidação lipídica, incluindo a presença de pró e antioxidantes, a pressão parcial de oxigênio, a superfície exposta ao ar, as condições de armazenamento e, principalmente, a exposição à luz, o que desencadeia a transição do oxigênio para o estado singlete, promovendo o início da auto-oxidação no meio lipídico (CECCHI *et al.*, 2019).

Sendo assim, o estudo do efeito da condimentação com alho no perfil oxidativo dos azeites de oliva extravirgem é de grande relevância, a fim de contribuir na determinação da qualidade desse produto.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS-PRIMAS

Foram utilizados para os experimentos, amostras de azeite de oliva extravirgem, bulbilhos de alho *in natura* e o alho em pó desidratado adquiridos no comércio local de Chapecó-SC, Brasil. O azeite de oliva extravirgem utilizado foi da safra de 2020, da marca “OUROGAL EQUILIBRIUM”, da variedade Galega e Cobrançosa. O alho *in natura* utilizado foi da safra de 2020, da marca “ALDEZ”. O alho desidratado utilizado era da marca “KI-FORTE”, em formato de granulado.

4.2 PREPARO DO AZEITE CONDIMENTADO

O alho em pó desidratado 10% (m/m) e o alho *in natura* 10% (m/m) foram adicionados, individual e separadamente, em cada amostra de azeite de oliva extravirgem. Os azeites condimentados foram armazenados em frascos de vidro âmbar protegidos da exposição à luz. Os condimentos foram misturados ao azeite com inversão manual dos frascos, nos tempos 0, 12 e 24 horas e permaneceram em contato com o azeite ao longo de todo o experimento.

4.3 ANÁLISES DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Os azeites de oliva extravirgem com e sem condimentos, foram analisados conforme a metodologia da AOAC (2016) para determinação da acidez livre, valor de extinção específica no ultravioleta (UV) e determinação do índice de peróxidos (IP).

4.3.1 Acidez livre

O índice de acidez é definido como a quantidade necessária de hidróxido de potássio para neutralizar os ácidos graxos livres da amostra (MORETTO; FETT, 1998; AOAC, 2016). Foi determinado a partir de 2 g da amostra, adicionados de 25

mL da solução neutra de éter etílico: álcool etílico (2:1, v/v), sob agitação. A seguir, foram adicionadas duas gotas de indicador fenolftaleína e titulados com solução de NaOH 0,1 N até coloração rósea.

As análises foram realizadas em triplicata.

O índice de acidez foi expresso em % de ácido oleico, conforme a Equação 1.

$$\text{Acidez em ácido oleico (\%, p/p)} = \frac{V \times f \times 100 \times 0,282}{p} \quad (1)$$

Onde:

V: volume em mL de solução de NaOH 0,1 N gasto na titulação;

f: fator de correção da solução de NaOH 0,1 N;

P: massa em gramas da amostra;

0,282: equivalente grama do ácido oleico.

4.3.2 Análise do coeficiente de extinção específica em ultravioleta

A análise espectrofotométrica no UV ou valor de extinção no UV dos óleos e gorduras pode fornecer informações quanto à sua qualidade. O grau de oxidação do azeite de oliva foi avaliado com leituras específicas nos comprimentos de onda de 232 e 270 nm. O valor da absorvância em 270 nm revela a presença de cetonas insaturadas, presença de óleos adulterantes e também pode confirmar a autenticidade do azeite (AOAC, 2016; AUED-PIMENTEL *et al.*, 2008).

As absorvâncias específicas nos comprimentos de onda de 232, 266, 270 e 274 nm foram determinadas a partir de 0,02 a 0,03 g das amostras de azeites pesadas em balão volumétrico de 25 mL. O volume foi completado com ciclohexano e os valores de absorvância foram medidos em espectrofotômetro UV (Quimis, UV Microprocessado, São Paulo, Brasil). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em coeficiente de extinção e calculados conforme a Equação 2.

$$K_{232} = \frac{A_{232}}{c \times l}$$

$$K_{270} = \frac{A_{270}}{c \times l}$$

$$\Delta K = K_{270} \frac{A_{266} + A_{274}}{2}$$

(2)

Onde:

A_{232} , A_{266} , A_{270} e A_{274} - são as absorvâncias;

c - concentração lipídica em g/ 100 mL;

l - caminho ótico percorrido (1 cm).

4.3.3 Índice de peróxidos

O índice de peróxidos (IP) é definido como o número de miliequivalente (mEq) de oxigênio ativo (O_2) ou peróxidos por quilograma de óleo ou gordura. Determina todas as substâncias, peróxidos ou produtos similares que oxidam o iodeto de potássio a iodo (MORETTO; FETT, 1998; AOAC, 2016).

O IP foi determinado a partir de $5,00 \pm 0,05$ g de amostra de azeite adicionada de 30 mL de uma mistura de ácido acético:clorofórmio (3:2, v/v) e agitado até a dissolução completa da amostra. Logo após, foi adicionado exatamente 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio e incubado por um minuto no escuro com agitação ocasional. A seguir, foi adicionado 30 mL de água destilada e titulado com solução de tiosulfato de sódio 0,1 N, até obter a cor levemente alaranjada. Após foi adicionado 0,5 mL de solução aquosa de amido a 1% e prosseguiu-se a titulação até o desaparecimento da cor azul. Paralelamente, foi conduzido um ensaio em branco, sem amostra.

As análises foram realizadas em triplicata e o IP foi calculado conforme a Equação 3.

$$(3) \quad \text{Índice de peróxidos (mEq / Kg de amostra)} = \frac{(A-B) \times N \times f \times 1000}{P}$$

Onde:

A: volume em mL da solução titulante gasta para a amostra;

B: volume em mL da solução titulante para o branco;

N: normalidade da solução titulante;

P: massa em gramas da amostra;

F: fator de correção da solução de tiosulfato de sódio 0,1 N ou 0,01N.

4.4 TESTE DE ESTABILIDADE TÉRMICA

A estabilidade térmica foi determinada pelo método de *Schaal oven test* conforme adaptado de Yang et al. (2016) e consistiu em manter por 50 dias a $60 \pm 2^\circ\text{C}$ em estufa com circulação constante de ar (CIENLAB, modelo CE - 220/150), as amostras de azeite extravirgem puro (AOEVP), azeite extravirgem condimentado com alho *in natura* (AOEVIN) e azeite extravirgem condimentado com alho desidratado (AOEVD) envasadas em frascos âmbar (60 mL).

As amostras foram analisadas a cada 10 dias, quanto ao IP, IA, extinção específica no ultravioleta, teor de clorofila, teor de carotenoides e A_w . Também foram avaliadas no tempo zero (T0), após trinta dias (T30) e cinquenta dias (T50) quanto ao conteúdo fenólico total (CFT) e pela determinação da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS (BORGES; SILVA; FERREIRA, 1999; AOAC, 2016; HILL, 1994). Em geral, observa-se que 1 dia de armazenamento sobre as condições de *Schaal* é equivalente a 1 mês de armazenamento em temperatura ambiente (MALCONSON et al., 1994).

4.5 ANÁLISES DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Na determinação da atividade antioxidante dos azeites foram realizadas as análises da capacidade de sequestro do radical 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-

6- ácido sulfônico) (ABTS) e da capacidade de sequestro do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH·).

4.5.1 Capacidade de sequestro do radical ABTS

Foi determinada de acordo com o procedimento descrito por Re et al. (1999), com modificações. Inicialmente, radical ABTS•+ foi formado por meio da reação de ABTS 7 mM e persulfato de amônio 2,45 mM ao abrigo da luz, em temperatura ambiente durante um período de aproximadamente 16 h. Antes do uso, esta solução foi diluída com etanol para resultar em uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm. Uma alíquota de 30 µL da solução do extrato foi misturada com 3 mL da solução diluída de ABTS e a absorvância foi medida a 734 nm, após 6 minutos em repouso ao abrigo da luz.

As análises foram realizadas em triplicata. A quantificação foi conduzida usando uma curva analítica Trolox e os resultados foram expressos como mmol de equivalentes Trolox por Kg de amostra (mmol TE. Kg⁻¹).

4.5.2 Capacidade de sequestro do radical DPPH

A capacidade de sequestro de radicais livres (RSC) foi avaliada usando o ensaio do radical DPPH, conforme descrito por Kouka et al. (2017). Uma alíquota de 3,9 mL de uma solução metanólica de 72 µmol. L⁻¹ de DPPH• foi misturada com 100 µL de extrato da amostra. A leitura da absorvância do DPPH• foi realizada a 515 nm, depois de uma hora ao abrigo da luz em temperatura ambiente.

As análises foram realizadas em triplicata. O metanol foi utilizado como controle. A atividade antioxidante foi determinada pela curva analítica Trolox e, os resultados foram expressos em milimol de equivalentes Trolox por Kg de amostra (mmol TE. Kg⁻¹).

4.6 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Para a determinação de CFT, realizou-se primeiramente o preparo do extrato alcoólico da amostra conforme descrito por Alessandri; Ieri; Romani (2014). Foram pesados aproximadamente 2,5 g da amostra em tubo de polipropileno,

adicionado 5 mL de n-Hexano e homogeneizado em vórtex durante 1 min. Na sequência foi adicionado 5 mL de solução metanol/água 60:40 (v/v) e homogeneizado em vórtex durante 2 min. Após a mistura foi centrifugada durante 5 min a 5000 rpm e o sobrenadante foi separado e filtrado.

Na determinação dos CFT, utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu, de acordo com Singleton *et al.*, (1999). Transferiu-se uma alíquota de 0,5 mL do extrato da amostra para um balão volumétrico de 25 mL, protegido da luz, adicionou-se 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu a 10 % (v/v) e 2 mL de solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 7,5 % (m/v). O volume do balão foi complementado com água destilada e a mistura foi homogeneizada. Os frascos foram mantidos em repouso, na ausência de luz, por 2 horas e, posteriormente, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (KASUAKI, modelo IL-226) a 760 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata e o branco foi obtido substituindo-se o volume de amostra por etanol. Os resultados foram calculados usando uma curva analítica de ácido gálico e expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por Kg de amostra (mg GAE. Kg⁻¹).

4.7 DETERMINAÇÃO DE CLOROFILA E CAROTENOIDES

O teor de clorofila e carotenoides foi determinado segundo os procedimentos de Minguez-Mosquera *et al.* (1991). Foram pesados aproximadamente 7,5 g de azeite de oliva em um balão volumétrico de 25 mL e completou-se o volume com ciclohexano. A fração de clorofilas foi medida em espectrofotômetro UV (KASUAKI, IL - 226) a 670 nm e a fração de carotenoides a 470 nm. As análises foram realizadas em triplicata e a concentração de pigmentos foi expressa usando as equações 5 e 6:

$$\frac{(A_{670}) \times 10^6}{613 \times 100 \times \text{densidade}} = \text{Clorofila (mg/Kg)} \quad (5)$$

$$\frac{(A_{470}) \times 10^6}{2000 \times 100 \times \text{densidade}} = \text{Carotenoides (mg/Kg)} \quad (6)$$

Onde:

A₆₇₀ e A₄₇₀: são as absorbâncias;

Densidade: caminho óptico percorrido pela amostra.

4.8 ATIVIDADE DE ÁGUA

A análise de Aw foi medida em determinador de Aw (Aqualab Pro®) em temperatura ambiente (23 – 24 °C), conforme orientações do fabricante.

As análises foram realizadas em triplicata.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as determinações analíticas foram realizadas em triplicata. Os valores dos parâmetros foram expressos como a média \pm desvio padrão. As diferenças significativas entre as médias ($p < 0,05$) foram determinadas pela análise de variância (ANOVA) e a comparação entre as médias pelo Teste de Tukey em nível de 95% de confiança.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PREPARO DO AZEITE CONDIMENTADO

O azeite de oliva condimentado foi preparado pelo método de infusão, amostras de alho *in natura* e o alho em pó granulado desidratados foram adicionados na concentração de 10 % (m/m) de forma permanente às amostras de azeite de oliva. A finalidade dessa forma de preparo das amostras foi para avaliar as condições reais de comercialização de azeites condimentados, os quais são encontrados com os condimentos inteiros para a revenda, sem a remoção dos mesmos durante o período de armazenamento e consumo.

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura tem como finalidade simular as condições do azeite condimentado produzido durante os processos de prensagem ou malaxação, ou seja, quando o produto adicionado fica em contato com o azeite de oliva até o momento da filtração, momento em que é removido e o azeite de oliva é envasado sem o condimento adicionado (BAIANO et al., 2009; CAPONIO et al., 2016; PERESTELO et al.; 2017).

Uma vez que são escassos dados científicos sobre o preparo de azeites condimentados pela adição permanente de condimentos no azeite, os resultados desse trabalho visam contribuir com os estudos sobre as principais características e alterações físico-químicas relacionadas com a adição de alho de forma permanente, sem remoção do material adicionado ao longo da vida útil do azeite de oliva.

Assim, o método de *Schaal* é um teste que permite estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa, uma vez que os fenômenos naturais de oxidação são processos lentos, desenrolando-se frequentemente ao longo de vários meses, os testes de estabilidade em tempo real tornam-se por vezes incompatíveis com o controle de qualidade (SILVA *et al*, 1999). As avaliações do processo de oxidação lipídica nas condições de *Schaal Oven Test* demonstram que 1 dia de armazenamento é equivalente a 1 mês de armazenamento em temperatura ambiente (MALCONSON *et al.*, 1994). No presente estudo, as amostras de azeite permaneceram sob condições de tratamento térmico em estufa a $60 \pm 2^\circ\text{C}$ por 50 dias, o que equivale a um período de quatro anos e dez meses, considerando a equivalência descrita por Malconson (1994).

Todas as análises foram realizadas com a finalidade de avaliar se a condimentação permitiria uma vida útil superior ao tempo máximo de 2 anos definido para a vida útil do azeite de oliva comercial.

5.2 ÍNDICE DE ACIDEZ E ATIVIDADE DE ÁGUA

O índice de acidez (IA) é um dos mais importantes indicadores de deterioração do azeite de oliva, pois revela a quantidade de ácidos graxos livres oriundos do processo de hidrólise dos triacilgliceróis. Um elevado índice de acidez indica hidrólise de triacilgliceróis com liberação de ácidos graxos livres (JORGE, 2010). Segundo Chandran *et al.* (2017), a presença de ácidos graxos livres (AGLs) no óleo é uma indicação de processamento insuficiente, atividade de lipases ou outras ações hidrolíticas.

O IA se manteve estável, sem diferenças significativas entre as amostras condimentadas, AOEVD e AOEVIN após 40 dias de armazenamento (T40) sob condições do método de *Schaal* (Tabela 4).

O AOEVP manteve a acidez após 20 dias (T20) e aumentou após 30 dias (T30) de armazenamento. Houve aumento significativo do IA para amostra

AOEVIN em relação a amostra AOEVP e AOEVD em todos os tempos avaliados (Tabela 4).

TABELA 4 – Índice de acidez titulável para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliado pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.

Índice de Acidez (% ácido oleico)			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	0,30±0,00 ^{Dd}	0,30 ±0,00 ^{Db}	0,42 ±0,02 ^{Bb}
T10	0,30 ±0,00 ^{Dd}	0,30 ±0,00 ^{Db}	0,45 ±0,01 ^{Bb}
T20	0,30 ±0,00 ^{Dd}	0,30 ±0,00 ^{Db}	0,45 ±0,00 ^{Bb}
T30	0,32 ±0,01 ^{Cc}	0,30 ±0,00 ^{Db}	0,45 ±0,05 ^{Bb}
T40	0,33 ±0,01 ^{Cb}	0,30 ±0,00 ^{Db}	0,45 ±0,00 ^{Bb}
T50	0,45 ±0,00 ^{Ba}	0,45 ±0,00 ^{Ba}	0,56 ±0,02 ^{Aa}

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Resultados com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si e com a mesma letra maiúscula não diferem entre as amostras em diferentes tempos de análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

Destaca-se que IA das amostras AOEVP e AOEVD após 50 dias (T50) de armazenamento não apresentaram diferenças estatísticas em relação aos tempos T0, T10, T20, T30, T40 do AOEVIN, demonstrando que adição de alho *in natura* aumenta a acidez do azeite extravirgem (Tabela 4). Além disso, os resultados obtidos estiveram em conformidade com o limite máximo de acidez de 0,8 % estabelecido pela legislação brasileira e internacional (BRASIL, 2012; ECC, 1991).

Sousa *et al.*, (2015) em sua pesquisa afirmam que a adição de alho (*Allium sativum*) *in natura* por infusão de 10 g/L em azeites de oliva de forma permanente durante 3 meses induziu um aumento nos valores de acidez livre (de 0,6 a 0,8%), embora os parâmetros de qualidade geral não foram afetados negativamente. Baiano *et al.* (2016) em processo de infusão de alho seco ao azeite de oliva durante 7 dias também observou aumento da acidez. Assim, observa-se que a acidez livre de azeites condimentados é afetada pela presença do agente aromatizante, pois o valor da acidez depende diretamente do material alimentar utilizado, do procedimento de extração adotado, bem como do tempo de difusão (PADUANO *et al.*, 2014).

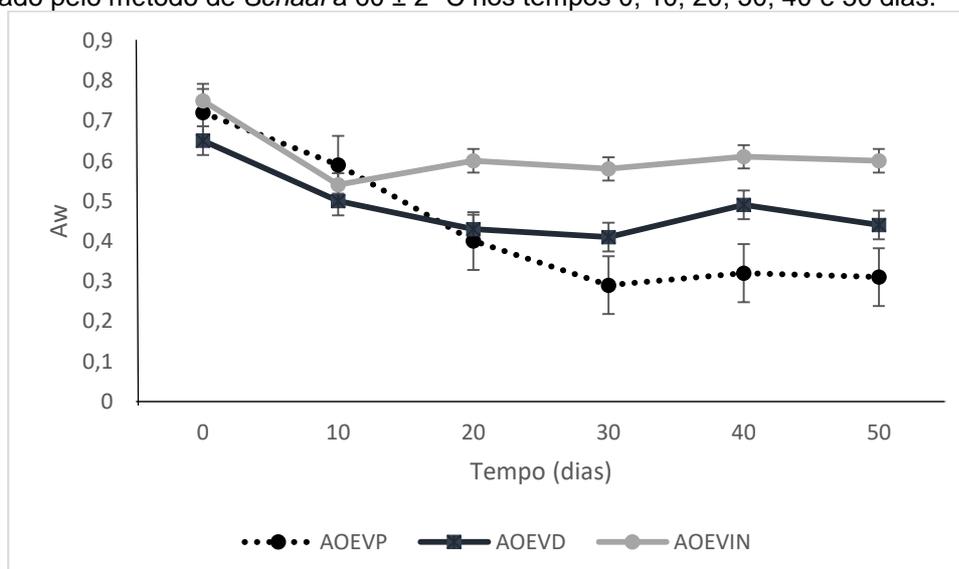
Bravi *et al.*, (2016) encontrou nas amostras aromatizadas com alho e pimenta malagueta os maiores valores de IA, estatisticamente significantes ao final do ensaio de vida útil, indicando maior degradação hidrolítica. Contudo, os valores de acidez após 12 meses de armazenamento foram abaixo do limite máximo preconizado em legislação específica para o azeite extravirgem.

Sousa *et al.* (2015) afirmam que o teor de umidade do alho pode levar à ocorrência de reações enzimáticas ou de hidrólise que são responsáveis pelo aumento da acidez. Considerando que o alho *in natura* possui maior teor de umidade que o alho desidratado, o aumento da acidez no tratamento AOEVIN em relação aos tratamentos AOEVD e AOEVP pode estar relacionado ao teor de água do condimento. Quanto a manutenção da acidez em AOEVD e AOEVIN após 40 dias de armazenamento (T40) (Tabela 4), Gambacorta *et al.* (2007) encontrou resultados parecidos, afirmando que em azeites aromatizados com alho desidratado a acidez mantém-se inalterada por longos períodos de armazenamento.

A A_w inicial foi menor para a amostra AOEVD em relação as amostras AOEVIN e AOEVP. Todas as amostras analisadas pelo método de Schaal reduziram a A_w ao longo do armazenamento, exceto para a amostra AOEVIN (Figura 5)

Observa-se um aumento na A_w das amostras adicionadas de alho (AOEVD e AOEVIN) em relação ao padrão (AOEVP) após 20 dias (T20) de armazenamento pelo método de *Schaal* (Apêndice A – Tabela 5). Contudo, todas as amostras apresentaram valores de $0,4 < A_w < 0,7$. As reações químicas e enzimáticas têm suas velocidades reduzidas com a diminuição da A_w . Na $A_w < 0,2$ todas as reações estão completamente inibidas com exceção da oxidação de lipídeos.

Figura 5 – Atividade de água para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliado pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.



FONTE: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = Puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

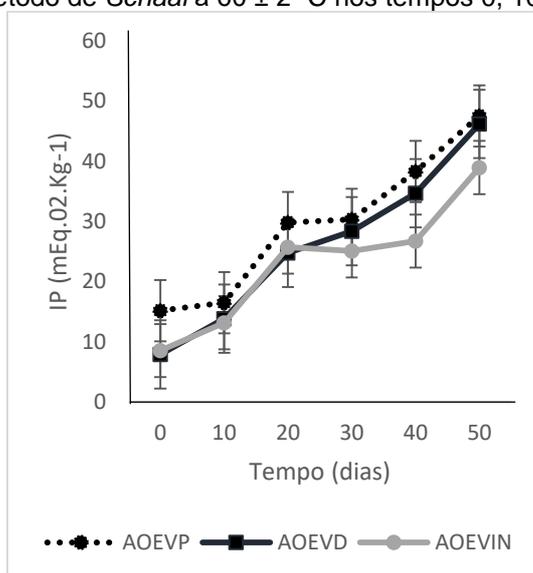
De acordo com a literatura, o ponto ótimo de A_w para inibir reações químicas e evitar o crescimento microbológico é de 0,4 (WELTI; VERGANA, 1997). Nesse sentido, a redução da A_w observada ao longo do armazenamento é desejável e em comparação a adição de alho *in natura*, a adição de alho desidratado ao azeite de oliva contribuiu para essa redução.

5.3 ÍNDICE DE PERÓXIDOS

Houve um aumento significativo ($p < 0,05$) e crescente para o índice de peróxidos (IP) em todas as amostras analisadas ao longo do período de armazenamento (Figura 6 e APÊNDICE B – Tabela 6).

Os tratamentos AOEVD e AOEVIN apresentaram menores valores para o IP no tempo zero (T0), em relação ao tratamento AOEVP neste mesmo período (Figura 6 e APÊNDICE B – Tabela 6), sugerindo que a adição de alho nas formas *in natura* e desidratado retardam a formação de compostos de degradação do azeite de oliva extravirgem na fase inicial da condimentação.

Figura 6 – Índice de peróxidos para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.



FONTE: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = Puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

Embora todos os tratamentos apresentaram aumento em relação ao IP durante o armazenamento pelo método de Schaal, é importante ressaltar que o AOEVIN apresentou estabilidade entre os tempos T20 a T40 e não diferiu estatisticamente ($p < 0,05$), resultando em um menor valor de IP ao final de T50 em comparação aos demais tratamentos. O AOEVD apresentou estabilidade oxidativa entre T20 e T30, enquanto o AOEVP não apresentou estabilidade oxidativa sofrendo um processo gradual de degradação, evidenciado pelo aumento crescente do IP (Figura 6 e APÊNDICE B – Tabela 6). Após 20 dias de armazenamento nas condições do método de Schaal, todas as amostras ultrapassaram o limite máximo de $IP \leq 20$ mEq.O₂/Kg, conforme estabelecido pela legislação brasileira e internacional (ECC, 2013; BRASIL, 2012).

O IP é o método mais comum para avaliar a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais. A quantidade de peróxidos indica o grau de oxidação primária e, portanto, está ligada a rancidez. O aumento constante de peróxidos indica a formação de hidroperóxidos durante a oxidação lipídica (CHANDRAN *et al.*, 2017; KERAMAT *et al.*, 2016). Entretanto, antes de 20 dias de armazenamento, observa-se que a adição de alho 10% tanto na forma *in natura* quanto desidratada, reduziu o IP, o que indica que retardou a formação de hidroperóxidos, ou seja, diminuiu a oxidação e auxiliou na manutenção das propriedades físicas e químicas do azeite de oliva.

Sousa *et al.* (2015) em estudos com azeites de oliva condimentados com alho *in natura* e orégano seco na concentração de 10 g/L durante a condimentação por infusão, relataram IP mais baixo, com 2,7 e 2,9 mEq.O₂/Kg de azeite, respectivamente, em relação ao encontrado para a amostra controle (4,9 mEq.O₂/Kg), o que significa que a inclusão dos condimentos melhorou a estabilidade das amostras ao reduzir a formação de produtos de oxidação.

Baiano *et al.* (2009) em sua pesquisa com relação à presença de produtos de oxidação primária, afirmou que os azeites sem sabor e com sabor de alho desidratado adicionados durante o processo de malaxação foram os tratamentos que apresentaram os maiores aumentos dos valores de peróxidos (17 e 19%, respectivamente). Gambacorta *et al.* (2007), avaliou o IP durante quatro meses de armazenamento do azeite de oliva condimentado com alho, pimenta e orégano secos adicionados antes do processo de malaxação e filtração do azeite de oliva. No início do armazenamento, todas as amostras condimentadas tinham valores de peróxidos em torno de 15 mEq.O₂/Kg. Os autores explicam que o aumento de peróxidos das

amostras condimentadas em relação ao controle é devido a oxidações primárias, dos próprios componentes dos condimentos que migraram para o óleo durante a maceração. Contudo, no presente estudo com adição de 10% de alho desidratado e *in natura* observou-se redução inicial do IP em relação a amostra controle (Apêndice B – Tabela 6).

5.4 EXTINÇÃO ESPECÍFICA NO ULTRAVIOLETA

Os resultados expressos na Figura 7 demonstram que a condimentação manteve a estabilidade oxidativa das amostras AOEVD e AOEVIN após 20 (T20) e 30 (T30) dias de armazenamento sob condições de *Schaal* em relação ao tratamento controle (AOEVP). Contudo, em todos os tratamentos observou-se um aumento significativo ($p < 0,05$) e crescente para os valores de K_{232} .

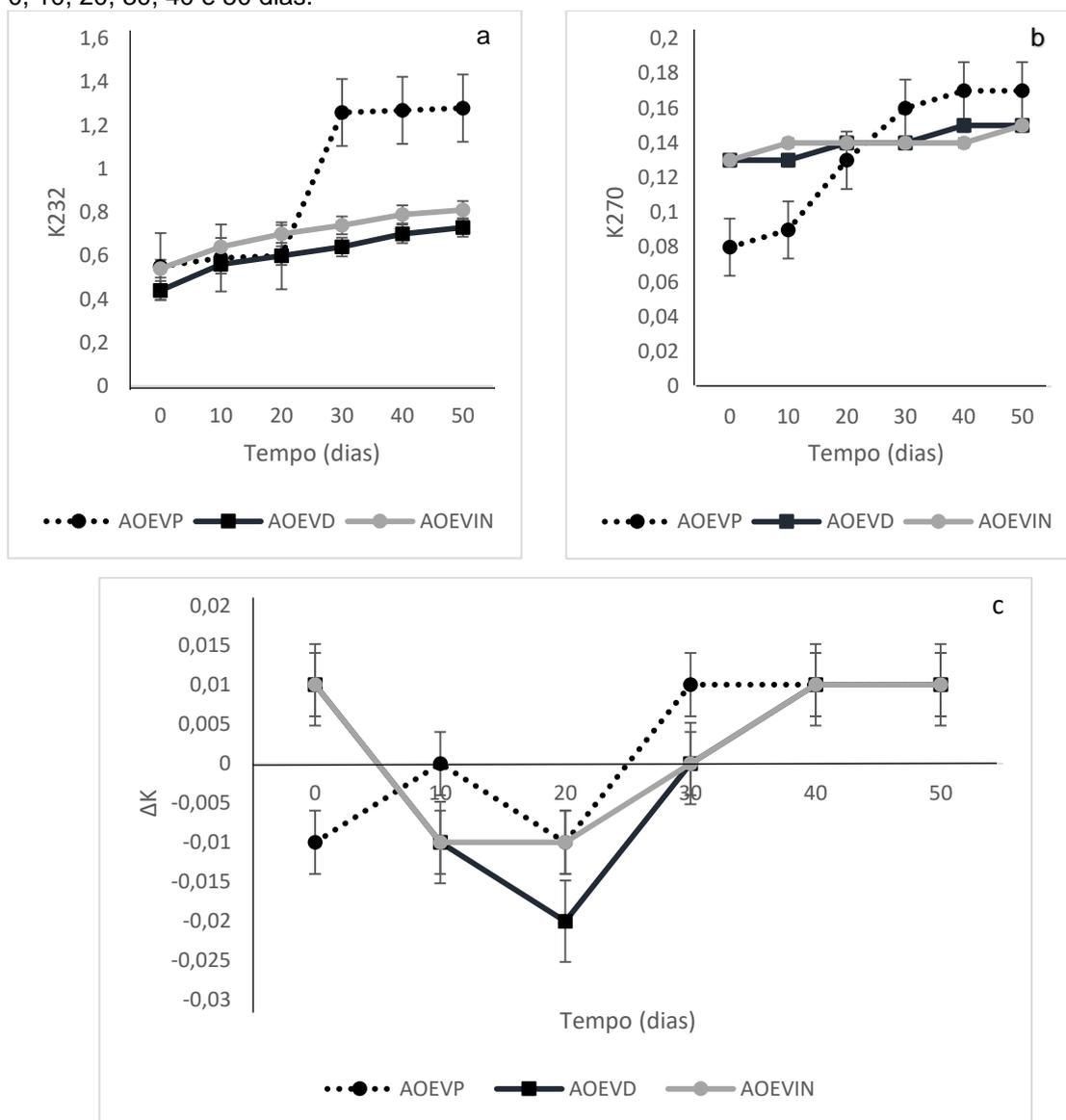
Os tratamentos AOEVD e AOEVIN demonstraram estatisticamente que a adição de alho nas formas *in natura* e desidratado contribuem para melhorar a estabilidade oxidativa do azeite de oliva extravirgem em relação ao AOEVP (Figura 7, Apêndice C – Tabela 7).

O AOEVD apresentou menores valores de K_{232} e maior estabilidade oxidativa entre os tempos T20 a T40 (Figura 7, Apêndice C – Tabela 7). Valores baixos de K_{232} podem ser encontrados em azeites com alto teor de ácido oleico (C 18:1, ω -9) ou esteárico (C 18:0), pois estes mostram alta estabilidade oxidativa (LIU; SINGH; GREEN, 2002). O K_{232} e K_{270} , são principalmente indicativos da conjugação de trienos e a presença de compostos carboxílicos, resultantes das oxidações secundárias. Os valores máximos autorizados para K_{232} , K_{270} e ΔK são, respectivamente, $\leq 2,50$, $\leq 0,20$ e $\leq 0,01$ conforme Regulamento 2568/91 (CEE, 1991). Assim, todas as amostras estiveram em conformidade com a legislação para os valores de coeficiente de extinção específica em ultravioleta.

Sousa *et al.* (2015) observaram que azeites de oliva com alho que excederam 0,8% de acidez livre, apresentaram amostras que excederam o valor máximo legal para os valores de K_{232} . A medida da percentagem de ácidos dienoicos conjugados é um método alternativo para monitorar estudos sobre a oxidação de óleos, apresentando correlação satisfatória com índices de peróxidos, pois durante as etapas iniciais de auto-oxidação de ácidos graxos poliinsaturados, o aumento de peróxidos ocorre paralelo ao incremento na absorção de UV pelos dienos conjugados

(ESPINOZA-ATENCIA; FARIA, 1994). Na presente pesquisa, o IP e o valor de K_{232} foram menores para os azeites condimentados com alho, na seguinte ordem $AOEVD < AOEVIN < AOEVP$.

Figura 7 – Extinção em ultravioleta - valores de K_{232} (a), K_{270} (b) e ΔK (c) para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliado pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.



FONTE: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = Puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

Em relação à formação de produtos secundários de oxidação, a determinação do coeficiente de extinção em 270 nm (K_{270}) é importante, uma vez que esses compostos absorvem na região de 270 nm e sua presença é indicativa de

oxidação (SOUSA *et al.*, 2015). Mudanças em nos valores de K_{270} são devidas à formação de triênios conjugados, bem como insaturados cetonas e aldeídos (MAKNI *et al.*, 2015). Quando os ácidos linoleico e linolênico são oxidados eles formam hidroperóxidos, e as duplas ligações dos óleos se tornam conjugadas. O mecanismo envolve a subtração do hidrogênio acíclico, seguida pela migração da dupla ligação, resultando em dienos conjugados, os quais demonstram uma absorção intensa a 232 nm. Da mesma forma que os trienos, demonstram uma absorção a 268 nm e 270 nm (GRAY, 1985; AOCS, 2000).

Os resultados desta pesquisa demonstraram um aumento inicial no valor de K_{270} nas amostras AOEVD e AOEVIN, em relação ao azeite extravirgem, AOEVP (Figura 7, Apêndice C – Tabela 7).

Embora todos os tratamentos obtiveram aumento na absorção dos coeficientes em ultravioleta, após o período de 50 dias, todos estavam dentro do preconizado pela legislação (CEE, 1991). Resultados semelhantes também foram verificados nos estudos de SENA-MORENO *et al.* (2018) no processo de aromatização de azeite de oliva com açafrão, obtendo um leve aumento no IA, no IP e nos coeficientes de extinção (K_{270} e K_{232}).

O delta K juntamente com os coeficientes K_{232} e K_{270} tem como finalidade avaliar o grau de pureza e mistura com outros óleos (SACCHI *et al.*, 2017), na presente pesquisa resultados demonstraram que esse parâmetro não alterou significativamente entre os tempos e entre as amostras, conforme observado na figura 7, bem como após 50 dias estava de acordo com a legislação nacional e internacional para esse parâmetro.

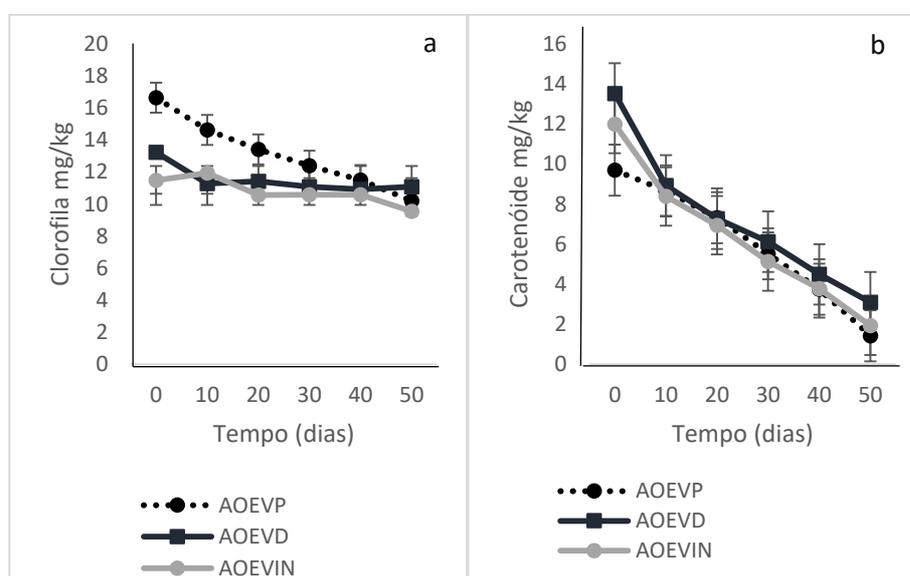
Os índices espectrofotométricos K_{232} e K_{270} , nos estudos de Sacchi *et al.* (2017), foram mais altos em amostras aromatizadas com limão, enquanto o ΔK não alterou significativamente. Conforme os mesmos autores, uma hipótese provável para os valores mais altos do valor de coeficiente K_{232} pode ser devido à presença de terpenos e outros compostos voláteis que em função da estrutura química, podem influenciar a absorbância em 232 e 270 nm. Baiano *et al.* (2009) também encontraram valores maiores para os coeficientes de extinção K_{232} e K_{270} em azeites aromatizados, independente da concentração adicionada.

5.5 TEORES DE CLOROFILA E CAROTENOIDES

Os resultados expressos na Figura 8 demonstram que os teores iniciais de clorofila são maiores no AOEVP e menores nos tratamentos AOEVD e AOEVIN. Essa diferença decorre provavelmente do processo de condimentação.

Ao final do tratamento sob condições de *Schaal*, o AOEVP apresentou maior degradação da clorofila, em relação aos tratamentos com adição de alho (Figura 8, Apêndice D – Tabela 8). Contudo, houve maior estabilidade e menor degradação no teor de clorofila para a amostra AOEVD e AOEVIN após 10 dias (T10) de armazenamento em condições de *Schaal* (Figura 8, Apêndice D – Tabela 8).

Figura 8 – Teores de clorofila (a) e carotenoides (b) para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliados pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.



FONTE: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = Puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

Todos os tratamentos apresentaram uma perda no teor de carotenoides superior ao observado no teor de clorofilas. Keramat *et al.* (2016) relataram que a fração de carotenoides diminui mais rápido do que a fração de clorofila quando o azeite de oliva é armazenado a 60 °C. Ayadi *et al.* (2009) afirmam que essas diferenças na cinética de degradação levam a concluir que os carotenoides distribuídos nas plantas são mais sensíveis à temperatura do que os compostos com clorofila.

A presença de clorofila e carotenoides no AOEV depende de fatores genéticos dos frutos de oliveira, da variedade, do estágio de maturação dos frutos, das condições ambientais, da época da colheita, do processo de extração e das condições de estocagem (GIUFFRIDA *et al.*, 2011).

As clorofilas podem agir como catalisadores na formação do oxigênio singlete reagindo diretamente com as ligações duplas dos ácidos graxos oleico, linoleico e α -linolênico, produzindo espécies reativas de oxigênio (LANFERMARQUEZ, BARROS & SINNECKER, 2005; SERRANO *et al.*, 2016). Contudo, alguns estudos demonstram que as clorofilas podem exercer diversas atividades benéficas, agindo como sequestradoras de radicais livres (HUA KAO, JU CHEN & HUEI CHEN, 2011; BAIANO; GAMBACORTA; LA NOTTE, 2010).

Assim, a condimentação de azeites com alho desidratado e *in natura* foi uma boa opção para reduzir e retardar a degradação da clorofila. Segundo Minguez-Mosquera *et al.* (1990) relatam que quando a atividade enzimática diminui, o teor de pigmento permanece quase constante, sugerindo que provavelmente a ação máxima da lipoxigenase diminui a partir do T10 nos azeites condimentados em estudo.

Cechi *et al.*, (2019) em seus estudos com azeite de oliva extravirgem armazenados por 6 meses a temperatura ambiente observaram que o conteúdo de clorofilas não mudou ao longo do tempo de armazenamento no escuro, enquanto, sob exposição à luz, a clorofila degradou rapidamente. Baiano *et al.* (2016) afirmam que a adição de algumas especiarias e ervas pode também aumentar o teor de clorofila dos azeites aromatizados, resultando assim em uma diminuição da estabilidade à foto-oxidação. Salienta-se que as amostras AOEVP, AOEVD e AOEVIN estavam acondicionadas em embalagens de vidro âmbar, ao abrigo da luz, o que pode ter contribuído para a redução da degradação da clorofila.

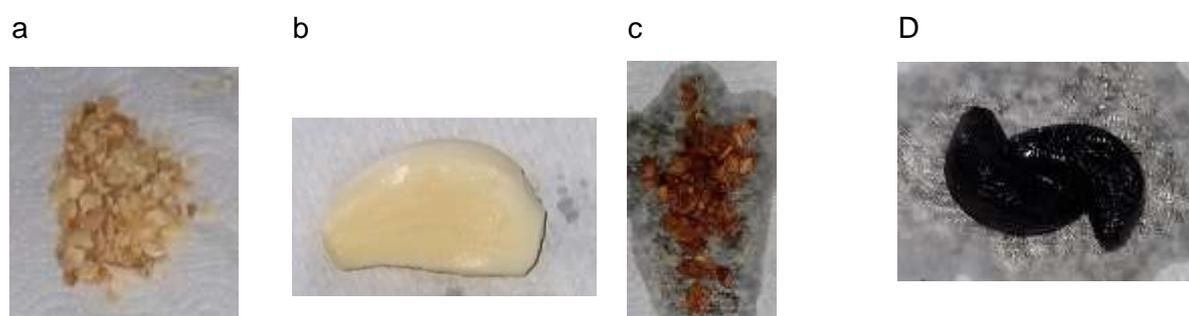
Ayadi *et al.* (2009) demonstraram o efeito protetor do alecrim, tomilho e limão no teor de clorofila dos azeites de oliva após 28 e 55 dias de armazenamento. Em oposição, Makni *et al.* (2015) em sua pesquisa afirmam que no final do período de armazenamento todas as amostras apresentaram uma perda importante no conteúdo de clorofila e o conteúdo de carotenóides seguiu uma tendência semelhante à das clorofilas, mas a taxa de perda foi menor.

Keramat *et al.*, (2016) relatam uma forte relação entre o efeito antioxidante do β -caroteno como um agente protetor contra a oxidação lipídica. Contudo, relatam que em altas concentrações de oxigênio, o β -caroteno perde sua

atividade e desempenha papel como pró-oxidante. As amostras condimentadas AOEVD e AOEVIN, apresentaram maiores teores iniciais de carotenoides, sendo os maiores valores encontrados em AOEVD e AOEVP (Figura 8).

A Figura 9 mostra os condimentos antes da infusão em azeite extravirgem em comparação com o produto após a adição no azeite de oliva e armazenado por cinquenta dias em condições de *Schaal*. Após 50 dias de armazenamento, o alho *in natura* e desidratado apresentou mudanças de cor devido aos processos de degradação e interação com o azeite de oliva.

Figura 9 – Alho *in natura* e alho desidratado antes da infusão (esquerda) e após a infusão e tratamento em estufa a 60 ± 2 °C por 50 dias (direita) em azeite extravirgem.



Fonte: A autora (2021).

Alho antes infusão e tratamento em estufa: a = alho desidratado, b = alho *in natura*. Alho após infusão e tratamento em estufa: c = alho desidratado, d = alho *in natura*.

5.6 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Na Tabela 9 estão os dados sobre a regressão linear para as curvas analíticas utilizadas para a quantificação do teor de Compostos Fenólicos Totais pelo método de Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante pelos métodos de ABTS e DPPH.

Tabela 9 - Curvas analíticas utilizadas para a determinação do teor fenólico total e atividade antioxidante.

Método	Padrão	Linearidade	Equação	R ²
CFT	Ácido gálico	10 - 100 mg. L ⁻¹	$y = 0,0056x + 0,505$	0,9917
ABTS	Trolox	100 - 2000 µmol. L ⁻¹	$y = -0,0003x + 0,7809$	0,9921
DPPH	Trolox	100 - 1000 µmol. L ⁻¹	$y = -0,0005x + 0,5855$	0,9925

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os resultados permitem observar que as amostras AOEVD e AOEVIN apresentaram CFT menor em relação ao AOEVP (Tabela 10).

Houve redução significativa do conteúdo de CFT para todas as amostras ao longo do armazenamento pelo método de Schaal (Tabela 10). A amostra AOEVIN obteve o maior CFT após 30 dias de armazenamento (T30) e a amostra AOEVD após 50 dias de armazenamento (T50) quando comparada a amostra AOEVP nas mesmas condições. Este estudo permite afirmar que a condimentação com 10% de alho desidratado e *in natura* contribuiu para a manutenção do CFT ao longo do armazenamento pelo método *Schaal*.

Tabela 10– Compostos fenólicos totais para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliados pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 30 e 50 dias.

Tempo (dias)	CFT (mg GAE.Kg ⁻¹)		
	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	218,55±0,40 ^{Aa}	162,55±0,70 ^{Ca}	173,37±0,06 ^{Ba}
T30	123,76±0,31 ^{Fb}	128,33±0,21 ^{Eb}	134,89±0,15 ^{Db}
T50	111,42±0,22 ^{Gc}	122,85±0,69 ^{Fc}	99,74±0,68 ^{Hc}

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Resultados com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si e com a mesma letra maiúscula não diferem entre as amostras em diferentes tempos de análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

Baiano et al. (2009), encontraram o maior valor de CFT ($181,3 \pm 7,2$ mg de ácido gálico equivalentes/Kg de óleo) em azeite de oliva extravirgem sem condimentação, seguido, em uma ordem decrescente, pelos azeites aromatizados com limão, pimenta, orégano, alecrim e alho. Os mesmos autores afirmam que as diferenças obtidas para os CFT entre as amostras podem ser explicadas com base nas interações que ocorrem entre o azeite e os agentes aromatizantes durante a fase de extração e também pela formação de ligações entre os compostos fenólicos e os componentes dos condimentos.

Caponio et al. (2015), estudaram a ligação entre os polifenóis e os polissacarídeos das paredes das células vegetais e descobriram que o tamanho molecular dos fenóis e sua estrutura conformacional e flexibilidade são importantes para essa interação. Por isso, essas interações entre o azeite de oliva e o condimento produzem os mais variados efeitos.

Embora os azeites de oliva apresentem alto teor de antioxidantes naturais, a presença de ácidos linoléicos e pequenas quantidades de ácidos linolênicos tornam o azeite suscetível à oxidação (KERAMAT *et al.*, 2016).

Baiano *et al.* (2009) observaram uma diminuição no conteúdo fenólico durante o armazenamento de 9 meses. Ayadi *et al.* (2009) e Makni *et al.* (2015) em seus estudos afirmaram que o teor total de fenol diminuiu durante o armazenamento e foi mais acentuado nos óleos expostos à luz pois, nestas condições, ocorrem as mais complexas reações de oxidação lipídica.

Os compostos fenólicos estão relacionados com a quantidade de antioxidantes das plantas e atuam principalmente ao doar um átomo de hidrogênio para as estruturas de radicais livres, sequestrar metais pró-oxidantes bem como ativar enzimas antioxidantes que podem prevenir e impedir a oxidação lipídica (SILVA *et al.*, 2010; KERAMAT *et al.*, 2016).

Assim, a atividade antioxidante dos compostos fenólicos pode estender a vida útil do azeite de oliva e altas correlações foram encontradas entre eles e a estabilidade oxidativa dos óleos. A preservação do CFT para o azeite condimentado com alho ao longo do armazenamento deve-se provavelmente a sinergia dos compostos antioxidantes próprios do azeite com os compostos antioxidantes do alho. A presença de alicina, selênio, ácidos *p*-cumárico e cafeico (ASLANI *et al.*, 2011; BURIAN; SACRAMENTO; CARLOS, 2017; FONSECA *et al.*, 2014, FELIX; MEDEIROS; MEDEIROS, 2018; SHAFER; KASCHULA, 2014) são antioxidantes do alho capazes de proteger os compostos fenólicos do óleo (CHO E XU, 2000; BOZIN *et al.*, 2008; BAIANO *et al.*, 2009, CAPONIO *et al.*, 2016).

A eficácia de extratos de alho com duas concentrações diferentes de alicina foi avaliada na estabilização de alcachofras enlatadas em azeite de oliva extravirgem (EVO), sendo este usado como óleo de cobertura durante o teste de vida útil. Após o armazenamento, a qualidade do óleo de cobertura foi estudada demonstrando que a maior resistência à degradação oxidativa foi apresentada pela amostra com 0,017% de alicina e antioxidante sintético BHT, que continha a maior concentração de extrato de alho (BRAVI *et al.*, 2016). Além dos compostos fenólicos, a presença de tocoferóis e reações sinérgicas entre compostos com ação antioxidante contribuem para reduzir a oxidação lipídica dos azeites condimentados (RICE-EVANS *et al.*, 1996; AYADI, GRATI-KAMOUN E ATTIA, 2009; BAIANO, GAMBACORTA & LA NOTTE, 2010).

Na análise da atividade antioxidante (AA) pelo método ABTS, todos os tratamentos demonstraram aumento significativo para AA durante o armazenamento pelo método de *Schaal* (Tabela 11). Os tratamentos AOEVD e AOEVIN apresentaram maiores valores de AA em relação ao AOEVP e a maior atividade antioxidante foi observada para o tratamento AOEVD após 50 dias de armazenamento (T50). Os resultados demonstram que a adição permanente do alho no azeite de oliva aumentou a atividade antioxidante dos tratamentos avaliados pelo método de *Schaal*.

Tabela 11 – Atividade antioxidante (AA) pelos métodos ABTS e DPPH para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 30 e 50 dias.

ABTS (mmol TE. Kg ⁻¹)			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	3,34±0,01 ^{Hc}	3,44±0,04 ^{Gc}	3,79±0,01 ^{Fc}
T30	5,63±0,03 ^{Eb}	7,57±0,03 ^{Bb}	5,60±0,01 ^{Eb}
T50	6,53±0,02 ^{Da}	8,73±0,01 ^{Aa}	6,97±0,02 ^{Ca}
DPPH (mmol TE. Kg ⁻¹)			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	5,33±0,01 ^{Aa}	5,09±0,05 ^{Ba}	5,85±0,00 ^{Aa}
T30	3,27±0,01 ^{Fc}	4,89±0,01 ^{Dc}	3,84±0,00 ^{Hc}
T50	4,67±0,02 ^{Eb}	5,01±0,02 ^{Cb}	4,25±0,01 ^{Gb}

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Resultados com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si e com a mesma letra maiúscula não diferem entre as amostras em diferentes tempos de análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

No ensaio de DPPH, houve redução inicial da AA após 30 dias de armazenamento (T30) para todas as amostras e a amostra AOEVD obteve os maiores valores para análise de DPPH em relação a amostra padrão AOEVP e a amostra AOEVIN (Tabela 11).

Embora as propriedades antioxidantes do alho não sejam totalmente compreendidas, sabe-se que a maioria delas é atribuída a componentes organo-sulfurados, formados a partir da decomposição da alicina (AYDIN; KAHYAOGU, 2019).

Baiano *et al.* (2009) observaram que a adição de ervas e especiarias aos azeites diminuem seu potencial antioxidante, com efeitos benéficos sendo observados apenas no armazenamento de longo prazo. Costa (2012), em pesquisa com azeites

condimentados com pimenta e alho, nos ensaios de antioxidantes (DPPH e ABTS⁺), apenas o azeite aromatizado com alho reduziu a atividade sequestradora de DPPH. O mesmo autor afirma que a adição dos agentes aromatizantes não alterou significativamente os parâmetros de qualidade dos azeites, podendo favorecer um aumento da sua resistência e conseqüentemente um aumento do tempo de vida útil do produto.

Na presente pesquisa observa-se que a condimentação com alho pode aumentar a atividade antioxidante, o teor de fenólicos e retardar a degradação de clorofilas no azeite de oliva.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O índice de acidez se manteve estável para as amostras de azeite de oliva padrão e para a amostra com 10% de alho desidratado, porém aumentou para a amostra com 10% de alho *in natura*, demonstrando que a adição de alho *in natura* aumenta a acidez do azeite extravirgem.

Os valores de A_w encontrados para os azeites com e sem condimentação foram superiores a 0,2 e inferiores a 0,7, o que previne a oxidação lipídica e o crescimento microbiano, respectivamente. Durante o armazenamento, a A_w foi menor para a amostra de azeite de oliva adicionada de 10% de alho desidratado em relação a amostra adicionada de alho *in natura*.

A adição de 10% de alho nas formas *in natura* e desidratado reduziu o índice de peróxidos e a formação de compostos de degradação do azeite de oliva extravirgem apenas na fase inicial e não apresentou variação desejável para impedir a peroxidação lipídica em relação a amostra controle não condimentada após 20 dias de armazenamento. Também houve mudança no perfil de extinção específica no ultravioleta para as amostras condimentadas com alho em comparação ao azeite de oliva padrão sem condimentos.

Todos os tratamentos apresentaram uma perda no teor de carotenoides superior ao observado no teor de clorofilas. Os azeites condimentados com alho *in natura* e desidratado retardaram o processo de degradação das clorofilas.

Sendo assim, a adição de 10 % de alho (desidratado ou *in natura*) de forma permanente pode trazer benefícios por reduzir a degradação de clorofilas, manter o teor de compostos fenólicos e aumentar a atividade antioxidante do azeite de oliva durante os cinquenta dias em armazenamento sob condições de *Schaal*.

REFERÊNCIAS

- AGIOMYRGIANAKI, A.; PETRAKIS, P. V.; DAIS, P. Influence of harvest year, cultivar and geographical origin on Greek extra virgin olive oils composition: A study by NMR spectroscopy and biometric analysis. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2561–2568, 2012.
- ALESSANDRI, S.; IERI, F.; ROMANI, A. Minor polar compounds in extra virgin olive oil: correlation between HPLC-DAD-MS and the folin-ciocalteu spectrophotometric method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 826-835, 2014.
- AMIRANTE, P. CLODOVEO, M. L.; TAMBORRINO, A.; LEONE, A.; PAICE, A. G Influence of the crushing system: phenol content in virgin olive oil produced from whole and de-stoned wastes. **Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention**, p. 69–76, 1 jan. 2010.
- AMMAR, I., BENAMIRA, A., KHEMAKEM, I., HAMADI, A., ENNOURI, M.. Effect of opuntia ficus-indica flowers maceration on quality and on heat stability of olive oil. **Journal Food and Science Technology**, v. 54, n. 6, p. 1502-1510, 2017.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira, volume 2 – monografias plantas medicinais**,. 6ª Ed.: Brasilia, 2019, 739p.
- A.O.A.C. Association of Official analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC International. 19th edition. Washington: AOAC, 2016.
- APARICIO-RUIZ, R; GAERCÍA-GONZALES, D. L.; OLIVER-POZO, C.; TENA, N.; MORALES, M. T.; APARICIO, R. Phenolic profile of virgin olive oils with and without sensory defects: Oils with non-oxidative defects exhibit a considerable concentration of phenols. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, p. 299–307, 2016.
- ASENSIO, C. M.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. R. Consumers' acceptance and quality stability of olive oil flavoured with essential oils of different oregano species. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 2417–2428, 2013.
- ASLANI, M. R., NAJARNEZHAD, V., MOHRI, M., AZAD, M. The effect of allicin on blood and tissue lead content in mice. **Comparative Clinical Pathology**, v. 20, p. 121–125, 2011.
- AUED-PIMENTEL, S., TAKEMOTO, E., KUMAGAI, E. E., CANO, C. B. Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicérido ECN 42 para detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 31-34, 2008.
- AUED-PIMENTEL, S; SILVA, S. A; TAKEMOTO, E.; CANO, C. B. Stigmastadiene and specific extinction (270 nm) to evaluate the presence of refined oils in virgin olive oil commercialized in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 479–484, 2013.
- AYADI, M. A; GRATI-KAMOUN, N; ATTIA, H. Physico-chemical change and heat stability of extra virgin olive oils flavoured by selected Tunisian aromatic plants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 10, p. 2613-2619, 2009.
- AYDIN, S.; KAHYAOGU, D. T. Antioxidant Effect Potential of Garlic In Vitro and Real Food System: Effects of Garlic Supplementation on Oxidation Stability and Sensory Properties of Butter. **European journal of lipid science and technology**, v.122, n.3, p.1900261-1900273, 2020.
- BAIANO, A.; GAMBACORTA, G.; LA NOTTE, E. Aromatization of olive oil. **Transworld Research Network**, p. 1-29, 2010.
- BAIANO, A; GAMBACORTA, G; TERRACONE, C; PREVITALI, M. A; LAMACCHIA, C; LA NOTTE, E. Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 2, p. 177–183, 2009.

- BAIANO, A.; PREVITALI, M. A.; VIGGIANI, I.; VARVA, G.; SQUEO, G.; PARADISO, V. M.; SUMMO, C.; GOMES, T.; CAPONIO, F. As oil blending affects physical, chemical, and sensory characteristics of flavoured olive oils. **European Food Research and Technology**, v. 242, p. 1693–1708, 2016.
- BAJOUB, A., SANCHÉZ-ORTIZ, A., AJAL, E. A., OUAZZANI, N., FERNANDÉZ-GUTIÉRREZ, A., BELTRÁN, G., CARRASCO-PANCORBO, A. First comprehensive characterization of volatile profile of north Moroccan olive oils: A geographic discriminant approach. **Food Research International**, v. 76, p. 410-417, 2015.
- BENDINI, A.; CERRETANI, L.; CARRASCO-PANCORBO, A.; GOMEZ-CARAVACA, A. M.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNANDEZ-GUTIERREZ, A.; LERCKER, G. Moléculas fenólicas em azeites virgens: Um levantamento de suas propriedades sensoriais, efeitos na saúde, atividade antioxidante e métodos analíticos. Uma visão geral das moléculas da última década. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 12, p. 1679 - 1719, 2007.
- BORGES, M. F. M.; SILVA, F. A. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 20, n. 1, p. 94-103, 1999.
- BOSKOU, G.; SALTA, F. N.; CHRYSOSTOMOU, S.; MYLONA, A.; CHIOU, A. ANDRIKOPOULOS, N. K. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek Market. **Food Chemistry**, v. 94, p. 558-564, 2006.
- BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SAMOJLIK, I.; GORAN, A.; IGIC, R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). **Food Chemistry**, v. 111, p. 925-929, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 24, 18 de junho de 2018. Regulamento técnico do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 jun. 2018.
- BURIAN, J. P.; SACRAMENTO, L. V. S.; CARLOS, I. Z. Fungal infection control by garlic extracts (*Allium sativum* L.) and modulation of peritoneal macrophages activity in murine model of sporotrichosis. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 4, p. 848–855, 2017.
- CABRAL, P. S.; CORAZZA, M. L.; SASSAKI, G. L.; GROMPONE, M. A.; IRIGARAY, B. A.; VOLL, F. A. P. Assessment of liquid–liquid phase separation in the composition and oxidation stability of partially hydrolyzed olive oil. **Journal of Food Engineering**, v. 233, p. 1–8, 2018.
- CAPONIO, F.; SQUEO, G., MONTELEONE, J. I.; PARADISO, V.M.; PASQUALONE, A.; SUMMO, C. First and second centrifugation of olive paste: influence of talc addition on yield, chemical composition and volatile compounds of the oils. **LWT-Food Sci Technol**, v. 64, p. 439–445, 2015.
- CAPONIO, F.; DURANTE, V.; VARVA, G.; SILLETTI, R.; PREVITALI, A.; VIGGIANI, I.; SQUEO, G.; SUMMO, C.; PASQUALONE, A.; GOMES, T.; BAIANO, A. Effect of infusion of spices into the oil vs. combined malaxation of olive paste and spices on quality of naturally flavoured virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 202, p. 221–228, 2016.
- CECCHI, L.; MIGLIORINI, M.; GIAMBANELLI, E.; ROSSETTI, A.; CANEE, A.; MULINACCI, N. New volatile molecular markers of rancidity in virgin olive oils under nonaccelerated oxidative storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 67, p. 13150-13163, 2019.
- CEE 2019. Regulamento CEE nº 2568/91 relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados. Regulamento de Execução (UE) 2019/1604 da Comissão de 27 de setembro de 2019. **Jornal Oficial da União Europeia**, 137p.
- CHANDRAN, J.; NAYANA, N.; ROSHINI, N.; NISHA, P. Oxidative stability, thermal stability and acceptability of coconut oil flavored with essential oils from black pepper and ginger. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 144–152, 2017.
- CHO, B.H.S; XU, S. Effects of allyl mercaptan and various allium-derived compounds on cholesterol

synthesis and secretion in Hep-G2 cells, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, v. 126, n. 2, p. 195-201, 2000.

CIAFARDINI, G.; CIOCCIA, G.; ZULLO, B. A. Taggiasca extra virgin olive oil colonization by yeasts during the extraction process. **Food Microbiology**, v. 62, p. 58–61, 1 abr. 2017.

CIAFARDINI, G.; ZULLO, B. A. Virgin olive oil yeasts: A review. **Food Microbiology**, v. 70, p. 245–253, 2018.

CLODOVEO, M. L. Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future – An overview. **Trends in Food Science & Technology**, v. 25, n. 1, p. 13–23, 1 maio 2012.

CLODOVEO, M.; DIPALMO, T.; CRUPI, P.; DURANTE, V.; PESCE, V.; MAIELLARO, I.; LOVECE, A.; MERCURIO, A.; LAGHEZZA, A.; CORBO, F.; FRANCHINI, C. Comparison Between Different Flavored Olive Oil Production Techniques: Healthy Value and Process Efficiency. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 71, p. 81–87, 2016.

COI 2019. Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils. In: International Olive Oil Council (IOOC). Madrid: Document COI/T. 15/NC N° 3/Rev. 14, Nov 2019.

COSTA, S. M. L.; MELLONI, R.; FERREIRA, G. M. DOS R. Potencial Biotecnológico De Microrganismos Do Solo Na Olivicultura Do Brasil: Uma Revisão. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 12, n. 2, p. 723, 2019.

COSTA, H. M. L. G. da. Azeites aromatizados: estudo da influência do agente aromatizante na composição química e resistência à oxidação. Bragança: Escola Superior Agrária. Dissertação de Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar, 2012.

CRIADO, M. N.; ROMERO, M. P.; CASANOVAS, M.; MOTILVA, M. J. Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. **Food Chemistry**, v. 110, p. 873–880, 2008.

D'AMATO, R.; PROIETTI, P.; NASINI, L., DEL BUONO, D., TEDESCHINI, E., BUSINELLI, D. Increase in the selenium content of extra virgin olive oil: quantitative and qualitative implications. **Grasas Aceites**, n. 65, v. 2, p.1-25, 2014.

D'ARCE, M. A. B. R. Deterioração de lipídeos – Ranço. In: OETTERER, M.; ARCE, M. A. B. R.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Tamboré: Manole, 2006, cap. 6. p. 243-295.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

DE BOER, A. A., ISMAIL, A., MARSHALL, K., BANNENBERG, G., YAN, K. L., ROWE, W. J. Examination of marine and vegetable oil oxidation data from a multi-year, third-party database. **Food Chemistry**, v. 254, p. 249–255, 2018.

ETHERTON, A. K.; OMAYE, S. T. Oxidation of olive oil fortified with quercetin, caffeic acid, tyrosol and hydroxytyrosol. **Nutrition and Food Science**, v. 45, n. 3, p. 493–508, 2015.

ESPINOZA-ATENCIA, E. J.; FARIA, J. A. F. Fotoxidação de óleos comestíveis em embalagens plásticas transparentes. **Óleos e Grãos**, ano IV, n. 19, p. 44-51, jul/ago 1994.

FABIANI, R. Anti-cancer properties of olive oil secoiridoid phenols: a systematic review of in vivo studies. *Food & Function*, v. 10, p. 4145-4159, 2016.

FELIX, A. L. DE M.; MEDEIROS, I. L.; MEDEIROS, F. D. DE. Allium Sativum: uma nova abordagem frente a resistência microbiana - uma revisão. **Brazilian Journal of Health**, v. 1, n. 2, p. 201–207, 2018.

- FONSECA, G. M., PASSOS, T. C., NINAHUAMAN, M. F.M.L., CAROCI, A. S., COSTA, L. S. Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (*allium sativum* liliaceae) e de seu extrato aquoso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 679–684, 2014.
- FOSCOLOU, A.; CRITSELIS, E.; PANAGIOTAKOS, D. Olive oil consumption and human health: A narrative review. **Maturitas**, v. 118, p. 60–66, 2018.
- FRANKEL, E.; BAKHOUCHE, A.; LOZANO-SÁNCHEZ, J., SEGURA-CARRETERO, A.; FÉRNANDEZ-GUTIÉRREZ, A. A. Literature Review on Production Process To Obtain Extra Virgin Olive Oil Enriched in Bioactive Compounds. Potential Use of Byproducts as Alternative Sources of Polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.22, p.5179-5188, 2013.
- GAMBACORTA, G.; FACCIA, M; PATI, S; LAMACCHIA, C; BAIANO, A; LA NOTTE, E. Changes in the chemical and sensorial profile of extra virgin olive oils flavored with herbs and spices during storage. **Journal of Food Lipids**, v. 14, p.202–215, 2007.
- GIUFFRIDA, D.; SALVO, F.; SALVO, F.; COSSIGNANI, L.; DUGO, G. Pigments profile in monovarietal virgin olive oils from various Italian olive varieties. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1119-1123, 2011.
- GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal Degradation of Tocopherol and Oxidation Products in Different Olive Oil Classes Using Uv-Vis Spectroscopy and Mcr-Als. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 864–867, 2015.
- GORZYNIK-DEBICKA, M.; PRZYCHODZEN, P.; CAPELLO, F., KUBAN-JANKOWSKA, A., GAMMAZZA, A. M.; KNAP, N.; WOZNIAK, M.; GORSKA-PONIKOWSKA, M. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 1–13, 2018.
- GRAY, J. I., Measurement of lipid oxidation: a review. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 55, p. 538-546, 1978.
- GUO, Z.; JIA, X.; ZHENG, Z.; LU, X.; ZHENG, Y.; ZHENG, B.; XIAO, J. Chemical composition and nutritional function of olive (*Olea europaea* L.): a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, p. 1091–1110, 2018.
- HABIBI, M.; GOLMAKANI, G.; MESBAHI, G.; MAJZOobi, M.; FARAHNAKY, A. Ultrasound-accelerated debittering of olive fruits. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 31, p. 105–115, 2015.
- HILL, S. E. A comparison of instruments used to measure oxidative stability of fats, oils and foods. **INFORM**, v. 5, n. 1, p. 104-109, 1994.
- HUA KAO, T.; JU CHEN, C.; HUEI CHEN, B. An improved high-performance liquid chromatography – photodiode array detection – atmospheric pressure chemical ionization – mass spectrometry method for determination of chlorophylls and their derivatives in freeze-dried and hot-air-dried *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz. **Talanta**, v. 86, p. 349-355, 2011.
- IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008. 1018p.
- JORGE, N. **Química e tecnologia de óleos vegetais**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2009. 165p.
- KANAVOURAS, A.; COUTELIERIS, F. A. Systematic transition from description to prediction for the oxidation in packaged olive oil. **Food Chemistry**, v. 229, p. 820–827, 2017.
- KANIEWSKI, D.; CAMPO, E. V.; BOIY, T.; TERRAL, J.; KHADARI, B.; BESNARD, G. Primary domestication and early uses of the emblematic olive tree: Palaeobotanical, historical and molecular evidence from the Middle East. **Biological Reviews**, v. 87, p. 885–899, 2012.

- KASSA, A.; KONRAD, H.; GEBUREK, T. Molecular diversity and gene flow within and among different subspecies of the wild olive (*Olea europaea* L.): A review. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 250, p. 18–26, 2019.
- KERAMAT, M.; GOLMAKANI, M.; AMINLARI, M.; SHEKARFOROUSH, S. S. Comparative Effect of *Bunium persicum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils and Their Synergy with Citric Acid on the Oxidation of Virgin Olive Oil. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 12, p. 2666–2681, 2016.
- KORIFI, R.; PLARD, J.; DRÉAU, Y. Le.; RÉBUFA, C.; RUTLEDGE, D. N.; DUPUY, N. Highlighting metabolic indicators of olive oil during storage by the AComDim method. **Food Chemistry**, v. 203, p. 104-116, 2016.
- KOUKA, P.; PRIFTIS, A.; STAGOS, D.; ANGELIS, A.; STATHOPOULOS, P.; XYNOS, N.; SKALTSOUMIS, A.; MAMOULAKIS, C.; TSATSAKIS, A.; SPANDIDOS, D. A. Assessment of the antioxidant activity of an olive oil total polyphenolic fraction and hydroxytyrosol from a Greek *Olea europea* variety in endothelial cells and myoblasts. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 40, p. 708-712, 2017.
- LANFER-MARQUEZ, U. M.; BARROS, R. M. C.; SINNECKER, P. Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. *Food Research International*, v. 38, p. 885-891, 2005.
- LIU, Q.; SINGH, S.; GREEN, A. High-oleic and high-stearic cottonseed oils: nutritionally improved cooking oils developed using gene silencing. *Journal Am. Coll. Nutr.*, v.21, p. 205-211, 2002.
- MAKNI, M.; HADDAR, A.; FRAJ, A. B.; ZEGHAL, N. Physico-Chemical Properties, Composition, and Oxidative Stability of Olive and Soybean Oils Under Different Conditions. **International Journal of Food Properties**, v. 18, p. 194–204, 2015.
- MALCONSON, L. J.; VAISEY-GENSER, M.; PRZYBYLSKI, R.; ESKIN, N. A.M. Sensory Stability of Canola Oil: Present Status of Shelf Life Studies. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 71, n. 435, 1994.
- MANNINA, L.; D'IMPERIO, M.; GOBBINO, M.; D'AMICO, I.; CASINI, A.; EMANUELE, M. C.; SOBOLEV, A. P. Nuclear magnetic resonance study of flavoured olive oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 27, p. 250–259, 2012.
- MINGUEZ-MOSQUERA, M. I. Determination of chlorophylls and carotenoids by highperformance liquid chromatography during olive lactic fermentation. **Journal of Chromatography**, v. 585, p. 259-266, 1991.
- MESOMO, M. C., SCHEER, A. de P., PEREZ, E., NDIAYE, P. M., CORAZZA, M. L.. Ginger (*Zingiber officinale* R.) extracts obtained using supercritical CO₂ and compressed propane: Kinetics and antioxidant activity evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 71, p. 102-109, 2012.
- MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais**. São Paulo: Varela, 1998. 150p.
- MOSCA, M.; CUOMO, F.; LOPEZ, F.; CEGLIE, A. Role of emulsifier layer, antioxidants and radical initiators in the oxidation of olive oil-in-water emulsions. **Food Research International**, v. 50, p. 377–383, 2013.
- NADEEM, M.; ABDULLAH, M.; HUSSAIN, I. Improvement of the Oxidative Stability of Butter Oil by Blending with Moringa oleifera Oil. **Journal of food processing and preservation**, v.38 , p. 1491-1500, 2014
- ORTEGA, J. B.; GILA, D. M. M.; PUERTO, D. A.; GARCÍA, J. G.; ORTEGA, J. G. Novel technologies for monitoring the in-line quality of virgin olive oil during manufacturing and storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.96, n. 14, p.4644-4662, 2016.
- ÖZCAN, M. M.; MATTHÄUS, B. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea*

L.) leaves. **European Food Research and Technology**, v. 243, p. 89–99, 2017.

GENOVESE, A.; CAPORASO, N.; VILLANI, V.; PADUANO, A.; SACCHI, R. Olive oil phenolic compounds affect the release of aroma compounds. **Food Chemistry**, v. 181, p. 284-294, 2015.

PASQUALONE, A.; NASTI, R. MONTEMURRO, C.; GOMES, T. Effect of natural-style processing on the oxidative and hydrolytic degradation of the lipid fraction of table olives. **Food Control**, v.37, p. 99-103, 2014.

PERESTRELO, R.; SILVA, C.; SILVA, P.; CÂMARA, J. S. Global volatile profile of virgin olive oils flavoured by aromatic/medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 227, p. 111–121, 2017.

PIZARRO, C.; RODRÍGUEZ-TECEDOR, S.; PEREZ-DEL-NOTARIO, N.; GONZÁLEZ-SÁIZ, J. M. Recognition of volatile compounds as markers in geographical discrimination of Spanish extra virgin olive oils by chemometric analysis of non-specific chromatography volatile profiles. **Journal of Chromatography**, v.1218, n.3, p.518-523, 2011. **Journal of Chromatography**, v. 57, p. 129–135, 2015.

PRASAD, K.; LAXDAL, V. A.; YU, M.; RANEY, B. L. Antioxidant activity of allicin, an active principle in garlic. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.148, p. 183–189, 1995.

PROCIDA, G.; CICHELLI, A.; LAGAZIO, C.; CONTE, L. Relationships between volatile compounds and sensory characteristics in virgin olive oil by analytical and chemometric approaches. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 1, p.311-318, 2016.

RAHILA, M. P.; NATH, B. S.; NAIK, N.L.; PUSHPADASS, H. A.; MANJUNATHA, M ; FRANKLIN, M. E. E. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) extract: A source of natural antioxidants for imparting autoxidative and thermal stability to ghee. **Journal of food processing and preservation**, v.42, n. 2, p. 13443-13453, 2017

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical. Biology & Medicine**, New York, v.26, n.9-10, p.1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. **Free Radic Biol Med**, v. 20, p. 933–956, 1996.

ROMANIELLO, R.; BAIANO, A. Discrimination of flavoured olive oil based on hyperspectral imaging. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 7, p. 2429–2435, 2018.

SACCHI, R.; MEDAGLIA, D. D.; PADUANO, A.; CAPORASO, N.; GENOVESE, A. Characterisation of lemon-flavoured olive oils. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 326–332, 2017.

SERRANO, L.; CRUZ, A.; SOUSA, S.; MORAIS, Z. Alterations in monovarietal, blended and aromatized Portuguese virgin olive oils under four storage conditions for 12 months. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 7, p. 1041-1055, 2016.

SERRELI, G.; DEIANA, M. Biological relevance of extra virgin olive oil polyphenols metabolites. **Antioxidants**, v. 7, p. 1–17, 2018.

SHÄFER, G, KASCHULA, C. H. The immunomodulation and anti-inflammatory effects of garlic organosulfur compounds in cancer chemoprevention. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 14, n.2, p.233- 240, 2014.

SENA-MORENO, E.; ALVAREZ-ORTÍ, M.; SERRANO-DÍAZ, J.; PARDO, J. E.; CARMONA, M.; ALONSO, G. L. Olive oil aromatization with saffron by liquid-liquid extraction. **Journal Food Science and Technology**, v. 55, n. 3, p. 1093-1103, 2018.

SERVILI, M.; ESPOSTO, S.; FABIANI, R.; URBANI, S.; TATICCHI, A.; MARIUCCI, F.; SELVAGGINI, R.; MONTEDORO, G. F. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. **Inflammopharmacology**, v 2. n. 17, p. 76-84, 2009.

- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p.152-178, 1999
- SILVA, L. F. de O. da.; OLIVEIRA, A. F. de; PIO, R.; ALVES, T. C.; ZAMBON, C. R. Quality variation of olive oil in olive cultivars. **Bragantia**, n. 2, p. 202–209, 2012.
- SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova*. v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.
- SOUSA, A.; CASAL, S.; MALHEIRO, R.; LAMAS, H.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. Aromatized olive oils: Influence of flavouring in quality, composition, stability, antioxidants, and antiradical potential. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 22–28, 2015.
- TONIN, A. P. P.; CARNEIRO, G. R.; RIBEIRO, M. A. dos S.; CEDRAN, J. da C.; SILVA, V. de M.; MEURER, E. C. Identification of adulteration in olive oil: problematizing the introduction to mass spectrometry. **Química Nova**, v. 41, n. 9, p. 1089–1094, 2018.
- VIEIRA, R. L. Aspectos fisiológicos e fitossanitários na micropropagação para a obtenção de alho-semente livres de vírus. Florianópolis: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 2012, 193 p. Tese de Doutorado.
- VILLA, F.; OLIVEIRA, A. F. **Origem e expansão da oliveira na América Latina**. p. 21-38. In A.F. Oliveira (ed.), *Oliveira no Brasil: tecnologias de produção*. EPAMIG, Belo Horizonte, 2012. 772p.
- WELTI, J; VERGANA, F. Atividade de água/ Conceito y aplicación em alimentos com alto contenido de humedad. In: AGUILERA, J.M. **Temas em Tecnologia de alimentos**. Santiago, Chile, v.1, p. 11-26, 1997.
- YILMAZER, M., GOKSU, S., OZKAN, G., KARACABEY, E. Aroma transition from rosemary leaves during aromatization of olive oil. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, p. 299–304, 2016.

APÊNDICE A

Tabela 5 – Atividade de água para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliado pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.

Atividade de água (Aw)			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	0,725±0,020 ^{Aa}	0,659±0,020 ^{Aba}	0,750±0,020 ^{Aa}
T10	0,593±0,060 ^{BCDb}	0,501±0,060 ^{DEFb}	0,541±0,010 ^{BCc}
T20	0,408±0,070 ^{FGHc}	0,430±0,002 ^{FGb}	0,608±0,008 ^{CDEb}
T30	0,295±0,050 ^{ld}	0,415±0,003 ^{FGHb}	0,582±0,006 ^{BCDb}
T40	0,327±0,007 ^{GHlc}	0,497±0,050 ^{DEFb}	0,617±0,008 ^{BCb}
T50	0,315±0,004 ^{Hic}	0,442±0,004 ^{EFb}	0,600±0,001 ^{BCDb}

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Resultados com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si e com a mesma letra maiúscula não diferem entre as amostras em diferentes tempos de análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

APÊNDICE B

Tabela 6 – Índice de peróxidos para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C em 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.

Tempo (dias)	Índice de Peróxidos (mEq O ₂ /Kg)		
	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	15,18 ±1,12 ^{Hd}	7,90 ±0,82 ^{If}	8,54 ±1,11 ^{Id}
T10	16,48±1,11 ^{Hhd}	13,85 ±0,02 ^{He}	13,17 ±1,15 ^{FGHc}
T20	29,81±1,98 ^{Dc}	24,77 ±0,80 ^{Gd}	25,74 ±0,005 ^{FGb}
T30	30,33±1,12 ^{DEc}	28,40 ±0,93 ^{DEFc}	25,10 ±1,17 ^{FGb}
T40	38,29±1,12 ^{Bb}	34,68 ±0,79 ^{Cb}	26,74 ±1,02 ^{EFGb}
T50	47,53±1,98 ^{Aa}	46,21 ±0,93 ^{Aa}	38,95 ±1,14 ^{Ba}

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições ± desvio padrão. Resultados com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si e com a mesma letra maiúscula não diferem entre as amostras em diferentes tempos de análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

APÊNDICE C

Tabela 7 – Extinção específica no ultravioleta para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho avaliado pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.

Extinção específica no ultravioleta – Valor de K232			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	0,55±0,04 ^{Fc}	0,44 ±0,03 ^{Gd}	0,54<0,005 ^{Fd}
T10	0,59±0,01 ^{DEb}	0,56±0,01 ^{EFc}	0,64<0,005 ^{Dc}
T20	0,60<0,007 ^{Db}	0,60±0,01 ^{DEb}	0,70±0,00 ^{Cb}
T30	1,26<0,005 ^{Aa}	0,64<0,004 ^{Db}	0,74±0,00 ^{Cb}
T40	1,27±0,00 ^{Aa}	0,70<0,0005 ^{Ca}	0,79±0,00 ^{Ba}
T50	1,28±0,05 ^{Aa}	0,73<0,005 ^{Ca}	0,81<0,005 ^{Ba}
Extinção específica no ultravioleta – Valor de K270			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	0,08<0,005 ^{Gc}	0,13<0,005 ^{DEFb}	0,13±0,00 ^{Fb}
T10	0,09±0,01 ^{Gc}	0,13<0,005 ^{EFb}	0,14±0,00 ^{DEFa}
T20	0,13±0,00 ^{Fb}	0,14<0,005 ^{DEFa}	0,14<0,005 ^{DEFa}
T30	0,16<0,005 ^{ABCa}	0,14<0,005 ^{DEFa}	0,14<0,005 ^{DEFa}
T40	0,17±0,00 ^{Aba}	0,15<0,005 ^{BCDa}	0,15 <0,005 ^{BCDa}
T50	0,17 ±0,04 ^{Aa}	0,15<0,005 ^{CDEa}	0,15<0,005 ^{BCDa}
Extinção específica no ultravioleta – Valor de ΔK			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	-0,003<0,005 ^{BCb}	0,01±0,00 ^{Aba}	0,01<0,005 ^{Aa}
T10	0,00±0,01 ^{ABCb}	-0,01±0,00 ^{BCb}	-0,003±0,01 ^{ABCb}
T20	-0,01<0,005 ^{Cc}	-0,02±0,01 ^{Cc}	-0,01±0,00 ^{BCb}
T30	0,01<0,005 ^{Aa}	-0,003±0,01 ^{ABCa}	0,00 ±0,00 ^{ABCa}
T40	0,01±0,01 ^{Aa}	0,01<0,005 ^{Aa}	0,01±0,00 ^{ABa}
T50	0,01<0,04 ^{Aa}	0,01<0,005 ^{Aa}	0,01 ±0,00 ^{ABa}

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições ± desvio padrão. Resultados com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si e com a mesma letra maiúscula não diferem entre as amostras em diferentes tempos de análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).

APÊNDICE D

Tabela 8 – Teores de clorofila e de carotenoides para o azeite extravirgem puro e condimentado com diferentes formas de alho pelo método de *Schaal* a 60 ± 2 °C nos tempos 0, 10, 20, 30, 40 e 50 dias.

Teor de Clorofila (mg/kg)			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	16,64±1,23 ^{Aa}	13,24±0,63 ^{BCDEa}	15,49±0,30 ^{Aba}
T10	14,63±0,96 ^{ABCa}	11,28±1,68 ^{DEFGb}	11,94±0,05 ^{DEFGb}
T20	13,42±0,66 ^{BCDb}	11,42±0,85 ^{DEFGb}	10,56±0,05 ^{FGb}
T30	12,4±1,22 ^{CDEFc}	11,09±0,29 ^{DEFGb}	10,58±0,32 ^{FGb}
T40	11,51±0,11 ^{DEFGd}	10,93±0,14 ^{EFGb}	10,58±0,84 ^{FGb}
T50	10,21±0,11 ^{FGd}	11,09±0,01 ^{DEFGb}	9,54±1,38 ^{Gb}

Teor de Carotenoides (mg/kg)			
Tempo (dias)	AOEVP	AOEVD	AOEVIN
T0	9,69±0,18 ^{Ca}	13,53±0,97 ^{Aa}	12,00±0,53 ^{Ba}
T10	8,66±0,42 ^{CDa}	8,93±0,39 ^{CDb}	8,38±0,20 ^{DEb}
T20	7,32±0,56 ^{EFb}	7,27±0,12 ^{EFGc}	6,94±0,06 ^{FGc}
T30	5,52±0,46 ^{Hic}	6,12±0,12 ^{GHc}	5,13±0,32 ^{HId}
T40	3,74±0,01 ^{JKd}	4,49±0,02 ^{IJd}	3,78±0,32 ^{JKe}
T50	1,42±0,04 ^{Le}	3,09<0,005 ^{Ke}	1,92±0,40 ^{Lf}

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Os valores fornecidos são as médias das três repetições \pm desvio padrão. Resultados com a mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si e com a mesma letra maiúscula não diferem entre as amostras em diferentes tempos de análises pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Azeites de oliva extravirgem: AOEVP = puro (azeite sem condimentação), AOEVD = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho desidratado 10% (m/m), AOEVIN = azeite de oliva extravirgem condimentado com alho *in natura* 10% (m/m).