

## DETERMINAÇÃO DA DIFERENÇA ENTRE O VALOR REAL E O TEÓRICO DO TRIGLICERÍDEO ECN 42 PARA A DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM AZEITES DE OLIVA COMERCIALIZADOS NO BRASIL

Sabria Aued-Pimentel\*, Emy Takemoto, Edna Emy Kumagai e Cristiane Bonaldi Cano

Instituto Adolfo Lutz, Serviço de Alimentos, Divisão de Bromatologia e Química, Av. Dr. Arnaldo, 355 - CP. 1783, 01059-970 São Paulo – SP, Brasil

Recebido em 11/10/06; aceito em 25/5/07; publicado na web em 19/12/07

CALCULATION OF THE DIFFERENCE BETWEEN THE ACTUAL AND THEORETICAL ECN 42 TRIACYLGLYCERIDE CONTENT TO DETECT ADULTERATION IN OLIVE OIL SAMPLES COMMERCIALIZED IN BRAZIL. The difference between the actual ECN 42 triacylglyceride content in vegetable oils, obtained by HPLC analysis, and the theoretical value calculated from the fatty acid composition was applied to detect the addition of seed oils with high contents of linoleic acid to olive oils commercialized in Brazil. The results indicate that samples analyzed were probably adulterated with low commercial value seed oils, rich in linoleic acid, like soybean, sunflower or corn.

Keywords: ECN 42 triacylglyceride content, olive oil, adulteration.

### INTRODUÇÃO

O azeite de oliva é o único produto no setor de óleos e gorduras que possui seu próprio acordo internacional de comércio. O Conselho Oleícola Internacional (COI) é a organização intergovernamental responsável pela administração desse acordo, o qual tem sido constantemente negociado nas conferências sobre produtos alimentícios nas Nações Unidas. A norma de comércio do COI estabelece teores mínimos de pureza do produto e critérios de qualidade para cada categoria de azeite de oliva e óleo de bagaço de oliva. Também são estabelecidas normas de higiene, embalagem e rotulagem, além da recomendação de aplicação de determinados métodos analíticos<sup>1,2</sup>.

Vários trabalhos realizados no Brasil e no mundo ressaltam a alta incidência de adulterações em óleos vegetais, com destaque para o azeite de oliva, e óleos importados de alto valor comercial<sup>1,3-8</sup>. O azeite de oliva apesar de representar pequeno volume em termos de produção mundial (aproximadamente 2% do total de óleos produzidos), contribui com cerca de 15% do valor monetário da produção dos óleos. No Brasil as importações deste óleo têm crescido nos últimos anos, atingindo volumes consideráveis em termos mundiais<sup>1</sup>.

O tipo de adulteração mais comum é a adição de outros óleos vegetais de menor valor comercial, principalmente quando o azeite é enlatado no Brasil<sup>3,5,9-11</sup>. Os índices físico-químicos clássicos e a composição de ácidos graxos, os quais são aplicados freqüentemente nos laboratórios brasileiros para a avaliação dos azeites, detectam apenas as fraudes mais grosseiras.

Entretanto outras fraudes, mais elaboradas, relativas à qualidade do azeite são praticadas sendo, em muitos casos, de difícil detecção devido às diferentes categorias de azeites existentes<sup>1,12-14</sup>.

Os critérios de pureza estipulados na Norma comercial do COI estão direcionados, principalmente, a detectar outros tipos de óleos no azeite de oliva ou no óleo de bagaço de oliva<sup>2</sup>. Estes critérios são os mesmos encontrados na norma *Codex Stan 33* (1981, rev. 2. 2003)<sup>14</sup> para azeite de oliva e óleo de bagaço de oliva, os quais devem ser seguidos atualmente no Brasil na fiscalização destes óleos<sup>15</sup>.

As metodologias recomendadas para a determinação dos diferentes parâmetros previstos nas normas do COI foram desenvolvi-

das por organizações internacionais como a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), International Organization for Standardization (ISO), Conselho Oleícola Internacional e empregam, em grande parte, técnicas cromatográficas na avaliação da identidade e qualidade dos diferentes tipos de azeite. Estas metodologias têm sido endossadas pela Comissão do *Codex Alimentarius* para aplicação nas disputas comerciais.

A presença de outros tipos de óleos vegetais no azeite é normalmente avaliada através da determinação da composição de esteróis e ácidos graxos.

A determinação da absorção no espectro ultravioleta a 270 nm (extinção específica) e do conteúdo de hidrocarbonetos esteroidais, na fração insaponificável dos azeites, são empregadas para verificar a presença de óleos refinados no azeite de oliva virgem. No espectro de absorção no ultravioleta de azeites de oliva que sofreram aquecimento observa-se um máximo ao redor de 270 nm devido à absorção de produtos de oxidação do óleo, tais como cetonas insaturadas e compostos trienos conjugados. Estes últimos são formados, a partir de ácidos graxos insaturados como linoléico (C18:2), no processo de refino dos óleos vegetais, na etapa de clarificação, na qual os fenômenos de superfície, oxidação e desidratação são favorecidos. A formação de sistemas conjugados é atribuída à desidratação de epóxidos, resultantes do processo de oxidação dos óleos, pela ação da terra clarificante<sup>16-18</sup>. Uma vez que outros produtos de oxidação também são formados no azeite e absorvem na região ao redor de 270 nm, o método para a detecção de óleos refinados a partir da absorção neste comprimento de onda torna-se menos específico. Entretanto, foram estabelecidas faixas de valores para a leitura de extinção específica a 270 nm para cada categoria de azeite. Valores acima daquelas faixas podem indicar a presença de óleos refinados de oliva ou de sementes. Durante o refino dos óleos vegetais, devido aos tratamentos térmicos, também podem ser formados hidrocarbonetos com esqueleto esteroide como produto de desidratação dos esteróis. Os óleos refinados também podem ser detectados nos óleos virgens pelo conteúdo de ácidos graxos *trans*<sup>1,12</sup>.

O óleo de bagaço de oliva, o qual é obtido por extração com solvente da torta residual das olivas, é detectado no azeite de oliva através da determinação do conteúdo de ceras contendo de 40 a 46 átomos de carbono e do teor de eritrodíol e uvaol, na fração

\*e-mail: spimente@ial.sp.gov.br

insaponificável do óleo. Os óleos extraídos com solventes contêm quantidades maiores de ceras e de álcoois triterpênicos pentacíclicos (eritrodio e uvaol) que óleos extraídos a frio. O conteúdo destes álcoois no azeite de oliva não deve ser superior a 4,5% do total de esteróis e o de ceras inferior a 350 mg/kg. Valores superiores indicam a presença de óleo de bagaço de oliva<sup>1,12</sup>.

A presença de pequenas quantidades de óleos de semente (menor que 5%), ricos em ácidos linoléico como soja, milho e girassol, no azeite de oliva pode ser constatada pela determinação da diferença entre o valor real de triacilgliceróis com um número equivalente de carbonos igual a 42, obtido experimentalmente (ECN 42<sub>CLAE</sub>) por cromatografia líquida de alta eficiência e o valor teórico (ECN 42<sub>teórico</sub>), calculado a partir da composição de ácidos graxos obtidos por cromatografia em fase gasosa. Este parâmetro detecta a presença de um ou mais óleos de sementes oleaginosas, ricos em ácido linoléico, como adulterantes dos azeites. A determinação da diferença do ECN 42 se juntou às normas comerciais do Conselho Oleícola Internacional em 1991 e é um método oficial da comunidade européia desde 1997<sup>1,19</sup>.

O objetivo deste trabalho foi empregar o método de determinação da diferença do ECN 42 experimental e teórico para avaliar adulterações em azeites de oliva comercializados no Brasil.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material

Foram analisadas 15 amostras comerciais de azeite de oliva, sendo 14 denominadas de azeite de oliva e 01 denominada de azeite de oliva virgem (a granel). Também foi analisada uma amostra preparada no laboratório, composta de 95% azeite de oliva virgem e 5% óleo de girassol refinado alto linoléico (v/v) e 06 amostras de referência de óleos vegetais enviadas pelo Conselho Oleícola Internacional, com a composição descrita no quadro abaixo:

**Quadro 1.** Especificação das amostras de referência de óleos enviadas pelo Conselho Oleícola Internacional (COI)

Amostra Referência	Código COI	Composição
Ref 1	22/03	80% azeite de oliva virgem + 10% de óleo de girassol refinado + 10% óleo de soja refinado
Ref 2	23/03	100% azeite de oliva virgem
Ref 3	25/04	100% azeite de oliva virgem
Ref 4	26/04	70% óleo de oliva refinado + 20% de óleo de colza refinado + 10% azeite de oliva virgem
Ref 5	27/05	100% azeite de oliva virgem
Ref 6	28/05	90% azeite de oliva virgem + 5% óleo de colza refinado + 5% óleo de soja refinado

### Determinação da diferença entre valor real e teórico de triacilgliceróis com ECN 42

A composição de ácidos graxos dos óleos foi determinada por cromatografia em fase gasosa segundo descrito nos Métodos Físico-Químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz<sup>20</sup>. A conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos foi realizada conforme método IUPAC 2301 com algumas modificações<sup>21</sup>. Em frasco de centrífuga de 20 mL com tampa, pesou-se cerca de 100 mg do óleo, adicionou-se 2 mL de hexano e 0,2 mL de solução metanólica

2 mol/L de KOH. Agitou-se o frasco por 60 s em agitador tipo vortex e adicionou-se 2 mL de solução saturada de cloreto de sódio, até a separação da fase orgânica. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados através da injeção de 1 µL da fase orgânica em cromatógrafo a gás marca Shimadzu, modelo GC-17A, com detector de ionização de chama. Os componentes foram separados em coluna capilar de sílica fundida SP-2560, de 100 m, com diâmetro interno de 0,25 cm e espessura do filme de 0,20 µm. Foram obedecidas as seguintes condições de operação: temperatura programada da coluna: 45°C (4 min), taxa de aquecimento 13 °C/min até 175°C (27 min), taxa de aquecimento 4°C/min até 215°C (35 min.); temperatura do injetor: 220 °C; temperatura do detector: 220 °C; gás de arraste: hidrogênio; velocidade linear do gás de arraste de 15 cm/s; razão de divisão da amostra 1:50. Os ácidos graxos foram identificados através da comparação dos tempos de retenção dos padrões puros de ésteres metílicos de ácidos graxos e das amostras. A quantificação foi feita por normalização de área.

Os triacilgliceróis foram separados e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de índice de refração, de acordo com o método COI/T.20/Doc. n° 20, 1991<sup>19</sup>. A diferença entre o valor experimental (CLAE) e o teórico (a partir da composição dos ácidos graxos) foi obtida através de cálculo em um programa de computador<sup>22</sup>. Foram empregadas as seguintes condições: cromatógrafo a líquido de alta eficiência marca Shimadzu, composto dos módulos: bomba LC-10AD; injetor Rheodyne com detector de índice de refração RID-10AD; módulo de comunicação CBM-10-AD; e software Class LC10-AD para estocagem de dados e controle do sistema. A coluna utilizada foi de fase reversa C-18, 5 µm e a fase móvel acetona:acetonitrila (1:1), fluxo 1,15 mL/min.

O número equivalente de carbonos (ECN) é calculado pela fórmula:

$$ECN = CN - 2n,$$

onde: CN = número total de carbonos da molécula de triacilglicerol  
n = número de duplas ligações.

### Determinação da extinção específica a 270 nm

Os óleos foram dissolvidos em ciclohexano Uvasol e a absorção da solução foi determinada a 270 nm, usando como referência o solvente puro<sup>20</sup>. A extinção específica  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ , refere-se à absorção de uma solução a 1% do óleo no solvente, numa espessura de 1 cm e é convencionalmente indicada por K.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a composição de ácidos graxos dos óleos analisados e valores de referência do *Codex Alimentarius* (*Codex Stan 33-81*, rev 2003)<sup>14</sup>. Na Tabela 2 estão os valores de extinção específica a 270 nm e da diferença de ECN 42 para as amostras de óleos comerciais e de referência.

Todos os óleos analisados apresentaram valores de extinção específica a 270 nm altos (Tabela 2) e próximos de 1,00, sendo que o valor máximo previsto para azeites de oliva, categoria declarada no rótulo na maioria dos produtos, é 0,90. Para a amostra de azeite virgem (número 7) o limite da legislação é bem inferior, isto é 0,25, enquanto para o azeite totalmente refinado este limite é 1,10, segundo a norma *Codex 33-81*, rev. 2003<sup>14</sup>. A análise espectrofotométrica na região do ultravioleta pode fornecer informações sobre a qualidade de um óleo, seu estado de conservação e alterações causadas pelo processamento e oxidação. A absorção em 270 nm ocorre devido à presença de compostos típicos de oxidação do azeite,

**Tabela 1.** Composição de ácidos graxos das amostras comerciais de azeite e de referênciado do COI (valores expressos em % p/p de ésteres metílicos)

AMOSTRAS	ÁCIDOS GRAXOS*												
	C14:0	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C20:1	C22:0	C24:0
Ref 1	0,00	10,32	0,64	0,05	0,06	3,32	67,99	15,02	0,98	0,33	0,21	0,17	0,06
Ref 2	0,01	14,51	1,20	0,10	0,22	2,01	64,21	16,10	0,69	0,40	0,28	0,12	0,00
Ref 3	0,01	11,33	1,11	0,05	0,08	3,22	76,52	6,31	0,66	0,38	0,23	0,09	0,03
Ref 4	0,03	10,03	0,88	0,06	0,08	2,94	73,99	9,32	1,88	0,23	0,42	0,13	0,04
Ref 5	0,01	10,1	0,84	0,06	0,08	3,41	78,33	4,94	0,7	0,40	0,24	0,12	0,05
Ref 6	0,01	9,91	0,72	0,06	0,08	3,38	76,34	7,45	1,19	0,37	0,32	0,12	0,05
1	0,04	8,29	0,38	0,05	0,08	3,45	43,74	41,37	0,5	0,26	0,15	0,43	0,10
2	0,01	12,38	0,98	0,07	0,13	2,12	68,44	13,21	0,74	0,39	0,34	0,18	0,09
3	0,01	12,43	0,98	0,06	0,13	2,12	68,24	13,24	0,75	0,39	0,34	0,18	0,09
4	0,04	9,33	0,58	0,06	0,09	3,06	54,85	28,61	1,04	0,34	0,22	0,40	0,16
5	0,04	9,17	0,61	0,06	0,09	2,96	57,70	26,59	0,64	0,34	0,23	0,43	0,15
6	0,02	9,40	0,58	0,06	0,09	3,14	73,57	10,50	0,74	0,40	0,28	0,20	0,07
7	0,01	9,29	0,60	0,06	0,09	3,15	75,57	8,88	0,59	0,40	0,28	0,20	0,08
8	0,01	9,96	0,63	0,06	0,10	3,16	74,87	8,55	0,64	0,42	0,28	0,18	0,07
9	0,00	10,83	0,67	0,08	0,10	3,11	74,13	8,53	0,64	0,36	0,24	0,13	0,04
10	0,00	12,80	1,00	0,06	0,12	2,10	68,50	13,00	0,72	0,32	0,29	0,12	0,04
11	0,00	13,50	1,00	0,06	0,12	2,00	67,50	13,00	0,72	0,32	0,29	0,12	0,04
12	0,02	12,70	1,00	0,07	0,13	2,00	68,30	13,00	0,70	0,40	0,30	0,10	0,063
13	0,01	12,30	0,90	0,07	0,13	2,10	67,90	13,00	0,70	0,40	0,30	0,20	0,09
14	0,01	12,40	0,90	0,07	0,13	2,00	68,90	12,80	0,70	0,40	0,30	0,20	0,09
15	0,01	12,50	0,90	0,07	0,13	2,00	68,70	12,90	0,70	0,40	0,30	0,20	0,08
* *	<0,05	7,5–20,0	0,3–3,5	<0,3	<0,6	0,5–5,0	55,0–83,0	3,5–21,0	<0,9	<0,6	<0,4	<0,2	<0,2

\* Média de duas determinações, \*\*faixas de variação dos ácidos graxos para azeite de oliva segundo *Codex Stan 33-1981*, rev 2003<sup>14</sup>

**Tabela 2.** Valores da diferença do ECN 42 e de extinção específica a 270 nm para amostras comerciais de azeite e de referência do COI\*

Amostras Comerciais	Extinção Específica a 270 nm (n=3)	Diferença do ECN 42 (n=3)
1	4,62±0,04	7,48±0,06
2	1,84±0,01	1,53±0,04
3	1,81±0,05	1,41±0,03
4	1,71±0,01	7,10±0,06
5	1,83±0,01	6,96±0,07
6	1,03±0,02	1,53±0,04
7	1,00±0,03	0,99±0,02
8	1,10±0,05	0,70±0,02
9	1,07±0,03	0,77±0,03
10	2,12±0,04	1,55±0,03
11	2,15±0,05	1,57±0,03
12	2,11±0,02	1,46±0,02
13	2,13±0,01	1,44±0,04
14	2,15±0,05	1,50±0,02
15	2,11±0,01	1,42±0,03

Amostras de Referência	Extinção Específica a 270 nm (n=3)	Diferença do ECN 42 (n=3)	Faixa Aceitável**
Ref 1	-	4,39±0,13	4,54±0,24
Ref 2	0,149±0,007	0,20±0,02	0,18±0,07
Ref 3	0,123±0,007	0,012±0,003	0,03±0,03
Ref 4	-	0,85±0,02	0,71±0,15
Ref 5	-	0,08±0,01	0,06±0,03
Ref 6	0,251±0,008	1,30±0,03	1,27±0,05

\* Média ± desvio padrão, n:número de repetições \*\*Valores obtidos de ensaios interlaboratoriais organizados pelo COI.

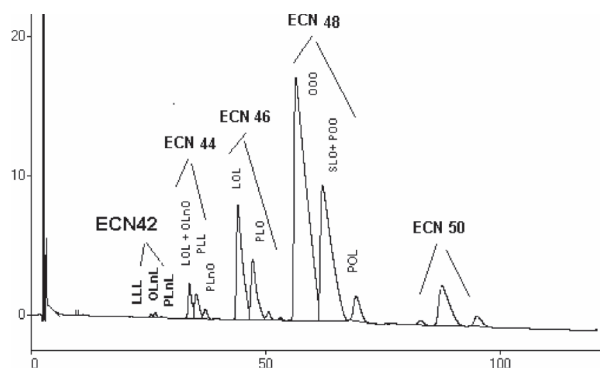
tais como cetonas insaturadas, e de sistemas trienos conjugados formados no refino dos óleos. Azeites de oliva virgens de boa qualidade e armazenados sob condições adequadas contêm poucos produtos de oxidação e, portanto, valores baixos de absorção a 270 nm. Quando estes valores superam os limites previstos para cada categoria de azeite, podem indicar a presença de azeites de baixa qualidade ou refinado, óleo de bagaço de oliva ou outros óleos refinados de sementes adicionados ao azeite<sup>1,4,10</sup>.

Alguns óleos apresentaram composição de ácidos graxos no limite para azeite de oliva autêntico (Tabela 1). Entretanto, para a grande maioria das amostras analisadas, isto é em 12 amostras, o perfil de ácidos graxos situou-se dentro da faixa característica para azeite de oliva.

Todas as amostras apresentaram valores da diferença de ECN 42 acima do maior valor previsto para o azeite de oliva na norma *Codex 33-81*<sup>13</sup>, revisão de 2003, a qual deve ser atualmente aplicada no Brasil<sup>15</sup>. O limite daquela diferença é 0,30 para os azeites de oliva e 0,50 para o óleo de bagaço de oliva refinado. No óleo extraído do bagaço tem sido demonstrado que a contribuição de várias partes do fruto influencia na composição do óleo, refletindo num aumento do teor de trilioleína (LLL) e, conseqüentemente, no valor da diferença do ECN 42<sup>22</sup>.

O azeite de oliva contém quatro grupos majoritários de triacilgliceróis correspondentes a valores de ECN 44, 46, 48 e 50. Os triacilgliceróis com valores de ECN 40 não estão presentes no azeite de oliva e os com ECN 42 encontram-se apenas como traços (Figura 1). Por outro lado, todos os óleos comestíveis ricos em ácido linoléico (óleos de milho, soja e girassol) apresentam quantidades expressivas de triacilgliceróis com ECN 42.

Na determinação da diferença do ECN 42 os triacilgliceróis são agrupados de acordo com o número equivalente de carbonos. São considerados apenas os ácidos graxos com 16 e 18 carbonos, pois apenas estes são importantes na análise do azeite. Os valores



**Figura 1.** Perfil de triacilgliceróis de azeite de oliva virgem obtido por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de índice de refração, coluna C-18 de 5 µm, fase móvel acetona:acetoneitrila (1:1), fluxo 1,15 mL/min. Amostra Ref 2 (100% de azeite de oliva). P - ácido palmítico; S - ácido esteárico; O - ácido oléico; L - ácido linoléico; Ln - ácido linolênico

da composição de ácidos graxos, obtidos por cromatografia em fase gasosa, são analisados em um programa<sup>23</sup> para prever a composição teórica dos triacilgliceróis, baseado na distribuição natural dos ácidos graxos no triacilglicerol, isto é: “1, 3-random, 2-random”. Segundo esta teoria, os ácidos graxos das posições 1 e 3 (numeração dos carbonos do glicerol) são distribuídos ao acaso, enquanto na posição 2, que é mais impedida estericamente, se ligam ácidos graxos de cadeia mais curta e insaturados<sup>24</sup>.

O desempenho do método de determinação da diferença do ECN 42, aplicado no laboratório, foi avaliado com amostras de referência enviadas pelo Conselho Oleícola Internacional. Os resultados encontram-se na Tabela 2 e mostram que os valores obtidos situam-se dentro da faixa aceitável para cada amostra de referência.

Os resultados obtidos para extinção específica a 270 nm e, principalmente, para a diferença do ECN 42, nas amostras comerciais, excederam os limites previstos pela legislação para azeite de oliva. Foi calculado o coeficiente de correlação<sup>25</sup> entre o valor da diferença de ECN 42 e do teor de ácido linoléico das amostras comerciais analisadas. A correlação foi positiva e igual a 0,90, o que reforça a sensibilidade do método na detecção de adulteração dos azeites com óleos de sementes ricos em ácido linoléico.

A análise de ácidos graxos *trans* revelou teores abaixo dos limites para as amostras denominadas de azeite de oliva e acima para a denominada como azeite de oliva virgem, considerando as respectivas categorias<sup>14</sup>. Para os azeites de oliva os teores de ácidos graxos *trans* obtidos foram: C18:1t < 0,20% e C18:2+C18:3t < 0,30% (p/p de ésteres metílicos); para a amostra denominada azeite de oliva virgem (amostra 7) os valores foram: C18:1t = 0,10% (limite < 0,05%) e C18:2 + C18:3t = 0,25% (limite < 0,05%). Os resultados foram indicativos de uma classificação imprópria atribuída a uma das amostras analisadas, uma vez que o azeite de oliva virgem é um produto de maior qualidade e valor comercial.

## CONCLUSÃO

Apesar do perfil de ácidos graxos situar-se dentro da faixa característica para azeite de oliva, em 12 das 15 amostras analisadas, todas apresentaram valores de extinção específica a 270 nm e da diferença do ECN 42 acima do maior valor previsto para o azeite de oliva, segundo a norma Codex 33-81, rev. 2003<sup>14</sup>.

Os resultados indicam uma provável adulteração das amostras com óleos de semente, ricos em ácidos linoléico como soja, milho ou girassol. Estes óleos são de baixo valor comercial no Brasil e, portanto, potenciais adulterantes do azeite de oliva.

A implantação da metodologia de determinação da diferença do ECN 42 nos laboratórios brasileiros que fiscalizam os óleos vegetais possibilitará a detecção da adição no azeite de oliva de óleos de sementes, ricos em ácido linoléico, em níveis mais baixos que os métodos clássicos.

Tendo em visto o potencial de importação brasileiro de azeite de oliva e a constatação de uma alta incidência de adulteração nos produtos aqui comercializados, outras metodologias analíticas mais sensíveis e diversificadas, que atendam às normas do Codex e à legislação brasileira em vigor, devem ser adotadas para um controle mais eficiente.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Está disponível em <http://quimicanova.s bq.org.br>, em forma de arquivo PDF, com acesso livre.

## REFERÊNCIAS

- Aparicio, R. Em *Manual del aceite de oliva*, Aparicio, R.; Harwood, J., eds.; Madri Vicente, Ediciones y Mundi-prensa: Madri, 2003, cap.14.
- International Olive Oil Council. Trade Standard Applying to Olive Oil and Olive-Pomace Oil. Resolution n° Res-2/80-IV/99 .COIT.15/NC n°2/Rev.9, 10 June 1999.
- Antoniassi, R.; Pereira, D. A.; Szpiz, R. R.; Jablonka, F. H.; Lago, R. C. A.; *Braz. J. Food Technol.* **1998**, *1*, 32.
- Aued-Pimentel, S.; Almeida-Gonçalves, M. I.; Mancini-Filho, J.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **1993**, *13*, 121.
- Aued-Pimentel, S.; Takemoto, E.; Rodrigues, R. S. M.; Badolato, E. S. G.; *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **2002**, *61*, 69.
- Badolato, E. S. G.; Durante, F.; Almeida, M. E. W.; Silveira, N. V. V.; *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **1981**, *41*, 63.
- Dionisi, F.; Prodollet, J.; Tagliaferri, E.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 1505.
- Firestone, D.; Summer, J. L.; Reina, R. J.; Adams, W. S.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1985**, *62*, 1558.
- Aued-Pimentel, S.; Badolato, E. S. G.; Carvalho, J. B.; Rodrigues, R. S. M.; Moita Neto, J. M.; *World Conference on Oilseed and Edible Oils Processing. The Proceedings of World Conference on oilseed and Edible Oils Processing*, Istambul, Turquia, 1996.
- Aued-Pimentel, S.; Mancini-Filho, J.; Badolato, E. G. S.; Carvalho, J. B.; *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **1994**, *54*, 69.
- Badolato, E. S. G.; Durante, F.; Almeida, M. E. W.; Lamardo, L. C. A.; Zenebon, O.; *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **1987**, *47*, 87.
- Boskou, D.; *Olive oil: chemistry and technology*, Champaign: AOCS Press, 1996.
- Cert, A.; Moreda, W.; Pérez-Camino, M. C.; *J. Chromat., A* **2000**, *881*, 131.
- CODEX Alimentarius Commission. Codex Standards for olive oils, and olive pomace oils, CODEX STAN 33, 1981. Codex Alimentarius, Rome: FAO/WHO, 2003, rev.2.
- Brasil. Resolução n° 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 23 set. 2005, Seção I, n. 184, p.372-373.
- Aued-Pimentel, S.; Avaliação do grau discriminatório de parâmetros analíticos do azeite de oliva. 1. Aplicação da espectrometria derivada. *Dissertação de Mestrado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 1991.
- Mitchel, J. H.; Kraybill, H. R.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1942**, *64*, 988.
- O' Connor, R. T.; Field, E. T.; Jefersson, M. E.; Dollear F. G.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1949**, *26*, 10.
- International Olive Oil Council. Calculation of the difference between the actual and theoretical ECN 42 triglyceride content. COIT.20/Doc. n° 20, 2001.
- Instituto Adolfo Lutz. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*, 4ª ed., ANVISA: Brasília, 2005, p. 1018.
- IUPAC: *Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. Blackwell Scientific Publications, 7ª ed., 1987, IUPAC Method 2.301, Report of IUPAC Working Group WG 2/87; 1987.
- Synouri, S.; Frangesco, E.; Christopoulou, E.; Lazaraki, M.; Alexiou, F.; *Riv. Ital. Sost. Grasse* **1995**, *72*, 483.
- Cortesi, N.; Rovellini, P.; Fedeli, E.; *Riv. Ital. Sost. Grasse* **1990**, *67*, 69.
- Bobbio, F. O.; Bobbio, P. A.; *Introdução à Química de Alimentos*, 3ª ed., Livraria Varela: São Paulo, 2003, cap. 4.
- Gomes, F. P.; *Curso de estatística experimental*, São Paulo: Nobel, 1985.