

# Folhas de oliveira, azeitonas e azeite: caracterização, qualidade e actividade biológica

SEMINÁRIOS  
**20 ANOS**  
de Ensino e Investigação  
em Ciências Agrárias

José Alberto Pereira, Albino Bento,  
Anabela Sousa, Ana Paula Pereira,  
Isabel Ferreira, Letícia Estevinho

CIMO / Escola Superior Agrária de Bragança  
jpereira@ipb.pt

18 de Abril de 2007

---

## Ponto de partida

### **Oliveira (*Olea europaea*):**

- **Cultura importante no país e na região;**
- **Folhas de oliveira utilizadas em medicina popular;**
- **Azeitonas e azeite, componentes da dieta mediterrânica;**
- **Pouco conhecimento das cultivares portuguesas e seus produtos;**
- **Reduzido conhecimento da influência de factores agronómicos.**



# Ponto de partida



# Ponto de partida



# Folhas de oliveira



## Folhas de oliveira

---

### Utilização na medicina popular:

- capacidades anti-hipertensora;
- propriedades hipoglicemiantes,
- propriedades espasmolítica,
- anti-arrítmica,
- anti-séptica;
- diurética

## Folhas de oliveira

### Composição fenólica

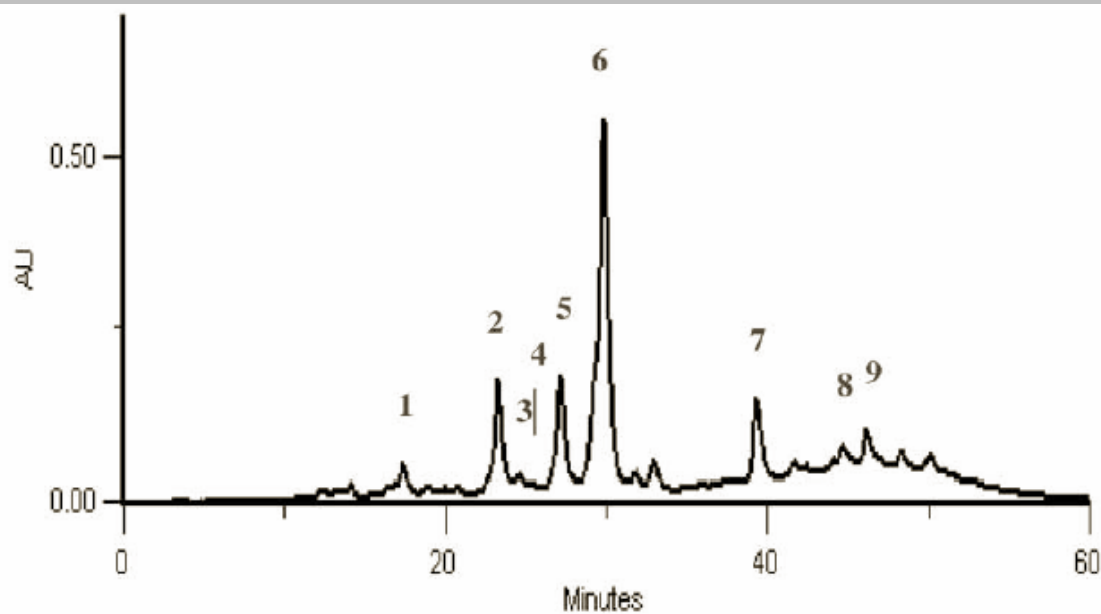
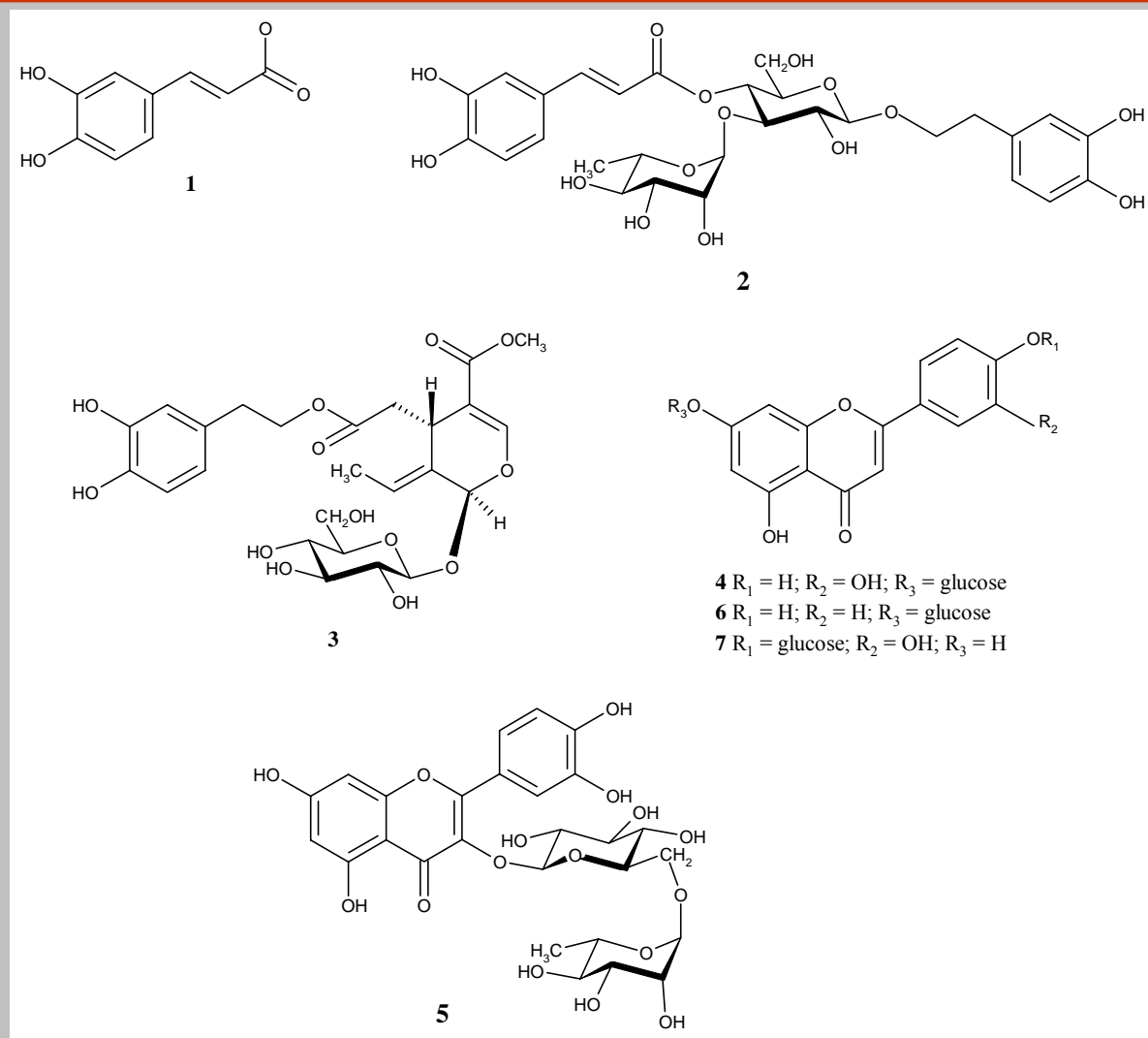


FIGURE 1 HPLC phenolic profile of a sample from Verdeal Transmontana cultivar; detection at 350 nm. (1) luteolin 7,4'-*O*-diglucoside; (2) luteolin 7-*O*-glucoside; (3) rutin; (4) apigenin 7-*O*-rutinoside (5) apigenin 7-*O*-glycoside; (6) luteolin 4'-*O*-glucoside; (7) luteolin; (8) apigenin; (9) diosmetin.

# Folhas de oliveira



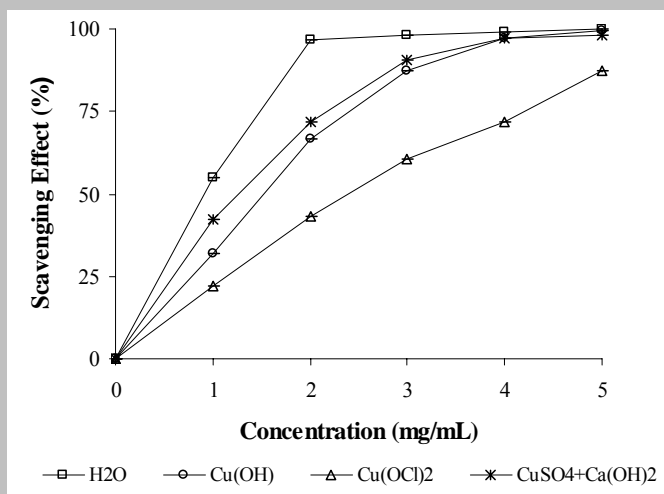
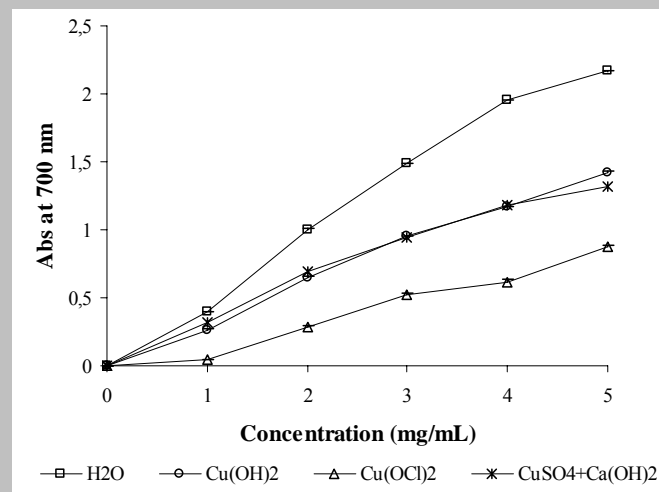
Estrutura química de alguns compostos fenólicos identificados em folhas de oliveira Cv. Cobrançosa. (1) ácido cafeico; (2) verbascosido; (3) oleuropeina; (4) luteolina 7-*O*-glucosido; (5) rutina; (6) apigenina 7-*O*-glucosido; (7) luteolina 4'-*O*-glucosido.



# Folhas de oliveira

Grande actividade antioxidante

Alguns factores agronómicos influem nas sua propriedades



EC<sub>50</sub> values<sup>a,b,c</sup> (mg/ml) of *Olea europaea* L. (Cv. Cobrançosa) leaves extracts in reducing power, DPPH scavenging and hemolysis inhibition assays

Samples	Reducing power (EC <sub>50</sub> <sup>a</sup> )	DPPH (EC <sub>50</sub> <sup>b</sup> )	Hemolysis (EC <sub>50</sub> <sup>c</sup> )
H <sub>2</sub> O	1.17	0.91	10.7
Cu(OH) <sub>2</sub>	1.62	1.52	32.4
Cu(OCl) <sub>2</sub>	2.91	2.32	>50
CuSO <sub>4</sub> + Cu(OH) <sub>2</sub>	1.49	1.26	31.8

<sup>a</sup> EC<sub>50</sub> (mg/ml): effective concentration at which the absorbance is 0.5.

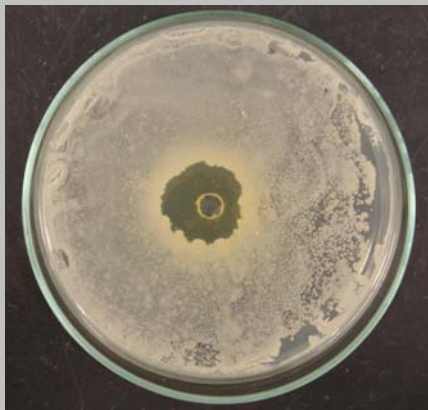
<sup>b</sup> EC<sub>50</sub> (mg/ml): effective concentration at which 50% of DPPH radicals are scavenged.

<sup>c</sup> EC<sub>50</sub> (mg/ml): effective concentration at which 50% of peroxy radicals are scavenged (erythrocyte hemolysis is mediated by peroxy free radicals).

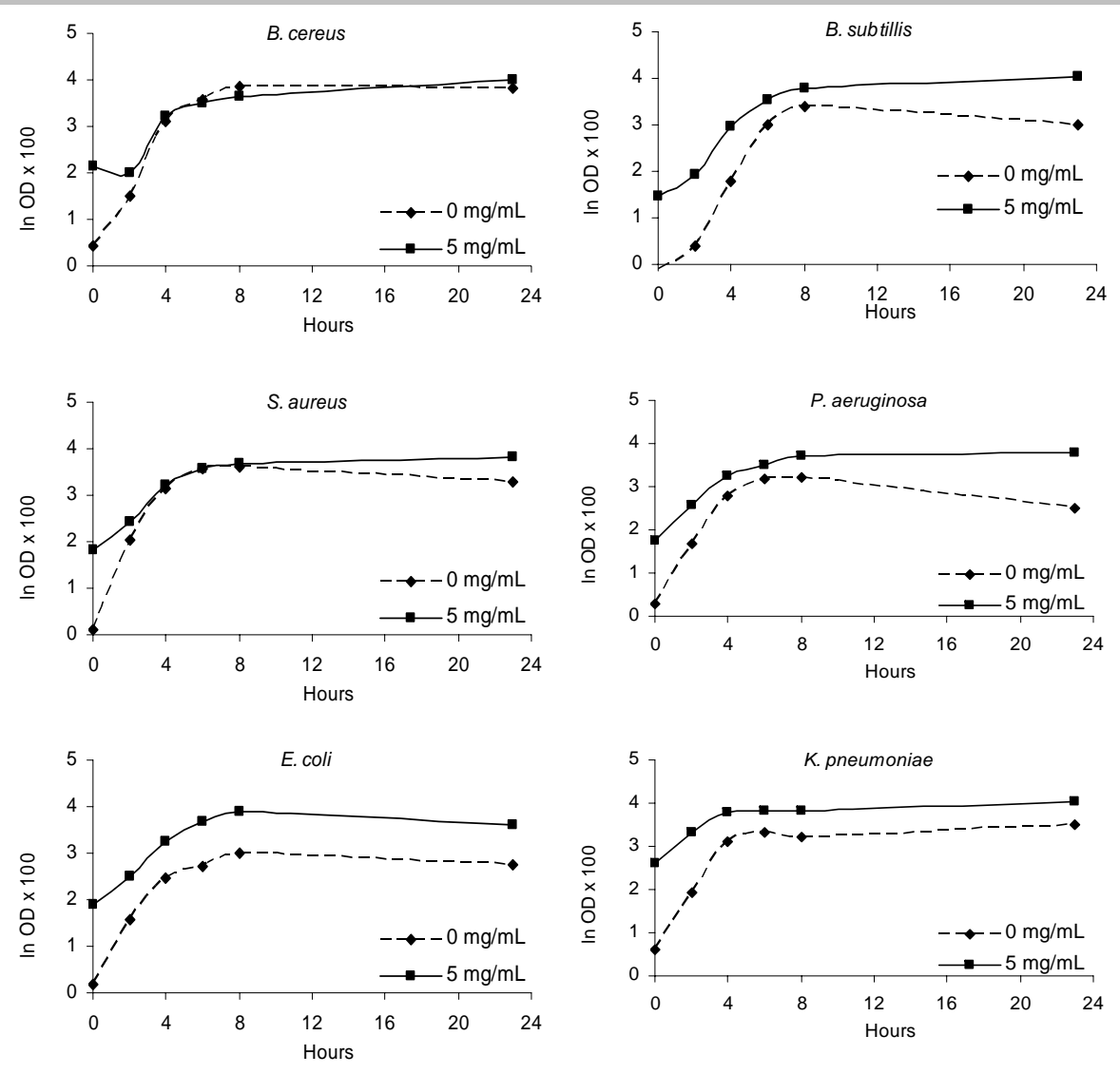
# Folhas de oliveira

## Actividade antimicrobiana

Actuam sobre alguns microorganismos patogéneos



Pereira et al., 2007. submetido



# Azeitona de mesa



# Azeitona de mesa



## **Azeitona de mesa**

---

- Importantes componente da dieta mediterrânica;**
- Composição em ácidos gordos semelhante à do azeite;**
- Fonte de antioxidantes naturais com elevado poder biológico.**

## Azeitona de mesa

---

### Definição (NP – 3034 de 1987):

O produto preparado a partir de frutos de variedades apropriadas da espécie *Olea europaea sativa*, em estado de maturação conveniente, submetidos a tratamentos e operações que assegurem as suas características e boa conservação.

### Classificação (Conselho Oleícola Internacional):

Azeitonas verdes

Azeitonas mistas

Azeitonas pretas

# Azeitona de mesa

---

## Métodos de preparação

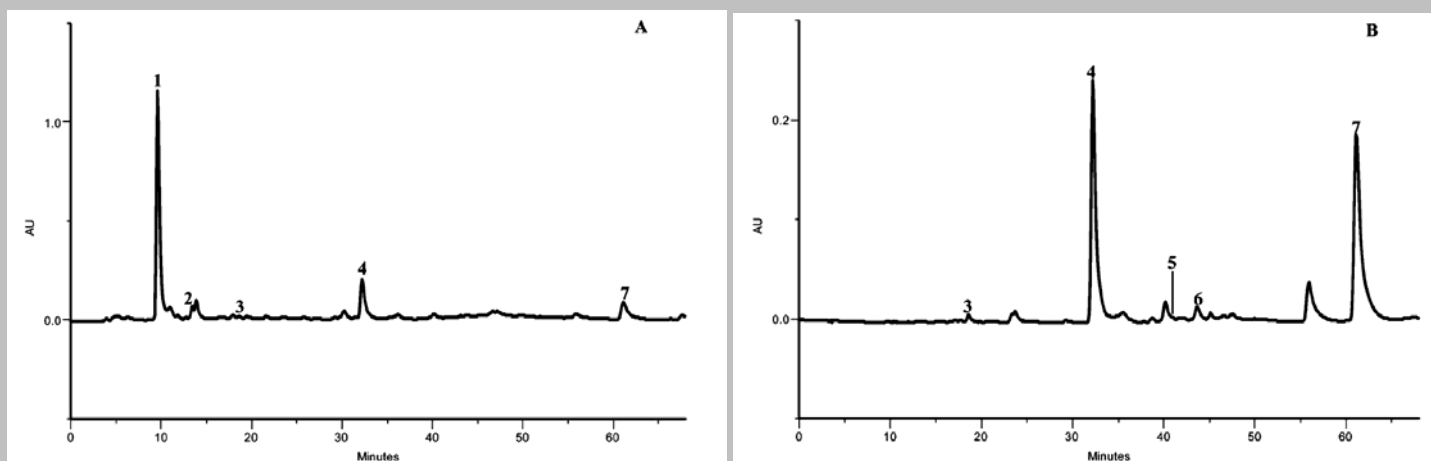
Azeitonas de fermentação natural

Azeitonas verdes (estilo Espanhol)

Azeitonas pretas oxidadas (estilo Californiano)

## Azeitona de mesa

### Composição fenólica



**Figure 1.** HPLC phenolic profile of G-NBO sample. Detection at (A) 280 and (B) 350 nm (1) hydroxytyrosol; (2) tyrosol; (3) 5-*O*-caffeoilquinic acid; (4) verbascoside; (5) luteolin 7-*O*-glucoside; (6) rutin; (7) luteolin.



# Azeitona de mesa

## Composição fenólica

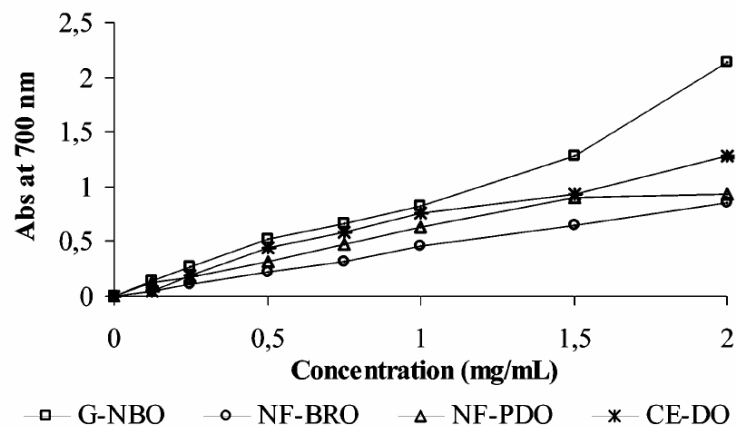
**Table 2.** Phenolic Compounds Content in Table Olive Samples (mg/kg, Dry Basis)<sup>a</sup>

sample	hydroxytyrosol	tyrosol	5-O-caffeoil-quinic acid	verbascoside	luteolin 7-O-glucoside	rutin	luteolin	Σ
G-NBO	3833.0 (180.9)	139.1 (24.0)	10.9 (1.6)	475.8 (18.0)	nq	20.5 (0.1)	163.0 (6.2)	4642.2
NF-BRO	672.4 (75.4)	161.3 (15.5)	4.5 (0.5)	11.3 (2.8)	7.5 (0.3)	—	9.6 (2.4)	866.7
NF-PDO	1822.2 (23.0)	217.1 (0.5)	40.3 (0.1)	756.4 (8.4)	nq	—	164.7 (6.6)	3000.7
CE-DO	2783.6 (398.1)	179.7 (48.7)	—	—	25.9 (4.3)	—	249.9 (19.6)	3239.0

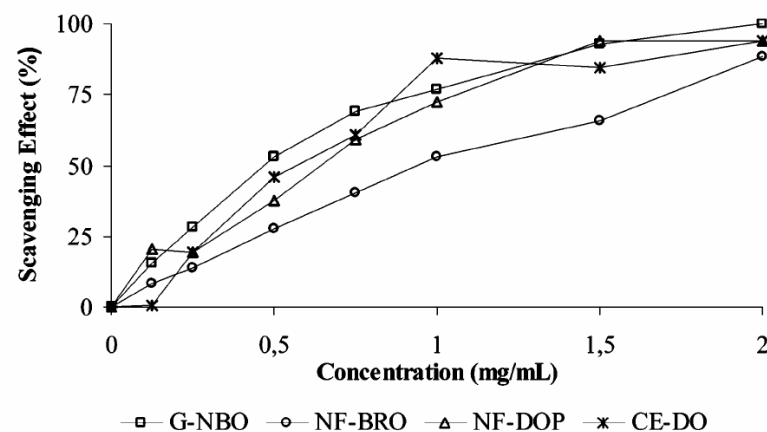
<sup>a</sup> Results are expressed as mean (standard deviation) of three determinations. Σ: sum of the determined phenolic compounds. nq: not quantified.

# Azeitona de mesa

## Actividade antioxidante



**Figure 2.** Reducing power values of different table olive extracts. Each value is expressed as mean  $\pm$  standard deviation.



**Figure 3.** Scavenging effect of different table olive extracts. Each value is expressed as mean  $\pm$  standard deviation.

**Table 3.** EC Values (mg/mL) of Table Olive Samples

samples	reducing power (EC <sub>50</sub> )	DPPH (EC <sub>50</sub> )	$\beta$ -carotene bleaching (EC <sub>40</sub> )
G-NBO	0.48	0.47	3.25
NF-BRO	1.11	0.94	10.00
NF-PDO	0.80	0.64	8.47
CE-DO	0.59	0.60	3.32

# Azeitona de mesa

## Actividade antimicrobiana

**Table 4.** Antimicrobial Activity of the Table Olive Samples<sup>a</sup>

samples	MIC (mg/mL)							
	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. neoformans</i>
G-NBO	10 (++)	100 (-)	50 (++)	100 (-)	75 (++++)	50 (++)	100 (-)	100 (-)
NF-BRO	25 (+++)	50 (++)	100 (-)	100 (-)	100 (+++)	100 (-)	100 (-)	100 (-)
NF-PDO	25 (++++)	50 (++++)	100 (-)	100 (++)	75 (++++)	100 (++++)	100 (-)	100 (++++)
CE-DO	25 (+++)	100 (-)	100 (++++)	100 (++)	100 (++++)	75 (+)	100 (+++)	100 (++)
ampicillin	0.00313 (++++)	0.0125 (++++)	0.00625 (++++)	0.00625 (++++)	0.00625 (++++)	0.00625 (++++)	NT	NT
cycloheximide	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0.0125 (++)	0.00625 (++++)

<sup>a</sup> No antimicrobial activity (-), inhibition zone < 1 mm. Slight antimicrobial activity (+), inhibition zone 2–3 mm. Moderate antimicrobial activity (++), inhibition zone 4–5 mm. High antimicrobial activity (+++), inhibition zone 6–9 mm. Strong antimicrobial activity (++++), inhibition zone > 9 mm. Standard deviation ± 0.5 mm. NT, not tested.

## Azeitona de mesa - *alcaparras*

---



## Azeitona de mesa - *alcaparras*

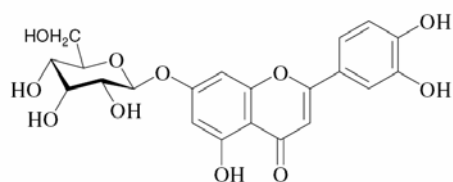
### Composição em ácidos gordos

Amostras	Ácidos Gordos (%)							
	2004				2005			
	Saturados	Monoinsaturados	Polinsaturados	Isómeros <i>trans</i>	Saturados	Monoinsaturados	Polinsaturados	Isómeros <i>trans</i>
1	15,54±0,04	80,57±0,05	3,84±0,01	0,05±0,00	15,77±0,09	80,51±0,08	3,69±0,01	0,03±0,00
2	15,49±0,05	80,79±0,05	3,68±0,00	0,04±0,00	16,33±0,13	78,59±0,04	5,04±0,18	0,04±0,00
3	16,00±0,01	78,86±0,01	5,09±0,02	0,04±0,00	16,46±0,12	79,63±0,07	3,87±0,05	0,04±0,00
4	15,68±0,01	72,12±0,01	12,15±0,00	0,05±0,00	15,67±0,02	78,42±0,77	5,88±0,75	0,04±0,01
5	15,16±0,05	80,50±0,02	4,29±0,04	0,04±0,00	16,32±0,05	79,11±0,12	4,54±0,06	0,04±0,01
6	15,04±0,03	81,05±0,03	3,85±0,02	0,06±0,00	16,74±0,07	76,99±0,12	6,23±0,04	0,04±0,01
7	15,28±0,07	80,51±0,04	4,16±0,05	0,05±0,00	16,73±0,09	77,67±0,17	5,57±0,08	0,03±0,00
8	14,62±0,04	81,87±0,04	3,46±0,03	0,06±0,01	15,32±0,08	80,71±0,07	3,94±0,01	0,03±0,00
9	13,42±0,03	82,99±0,04	3,52±0,01	0,07±0,00	18,21±0,47	77,87±0,76	3,89±0,29	0,04±0,00
10	15,86±0,09	77,82±0,07	6,27±0,03	0,05±0,00	16,48±0,07	76,16±0,09	7,32±0,01	0,04±0,00

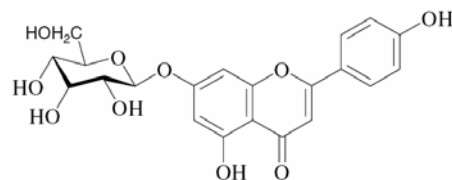
Sousa et al., 2006. Encontro Nacional de Olivicultura

# Azeitona de mesa - *alcaparras*

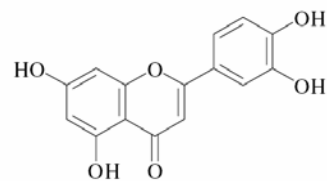
## Composição fenólica



1 Luteolin 7-*O*-glucoside



2 Apigenin 7-*O*-glucoside



3 Luteolin

**Table 1.** Phenolic compounds content in table olive 'alcaparra' sample (mg/kg, dry basis)<sup>a</sup>

	Compound	Mean	SD
1	Luteolin 7- <i>O</i> -glucoside	9.3	0.1
2	Apigenin 7- <i>O</i> -glucoside	1.4	0.0
3	Luteolin	111.7	2.5
	$\Sigma$	122.4	

<sup>a</sup> Results are expressed as means of three determinations. SD, standard deviation.  $\Sigma$ , sum of the identified phenolic compounds.

# Azeitona de mesa - *alcaparras*

## Actividade antioxidante

**Table 2.** Reducing power and scavenging effect  $EC_{50}$  values (mg/mL), and total phenol content (mg/g) of ten different “*alcaparras*” table olives samples.

Samples	Total phenol content	Reducing power ( $EC_{50}$ )					DPPH ( $EC_{50}$ )				
		Experimental	Polynomial	Error (%)	Linear	Error (%)	Experimental	Polynomial	Error (%)	Linear	Error (%)
Bragança (B1)	<b>16.63</b>	<b>0.49</b>	0.39	20	0.66	36	<b>0.40</b>	0.30	25	0.64	60
Bragança (B2)	<b>9.54</b>	<b>0.88</b>	0.96	9	1.00	13	<b>0.89</b>	0.97	9	1.02	14
Bragança (B3)	<b>6.58</b>	<b>1.40</b>	1.30	6	1.14	18	<b>1.71</b>	1.40	18	1.18	31
Bragança (B4)	<b>14.59</b>	<b>0.58</b>	0.52	11	0.76	31	<b>0.42</b>	0.44	6	0.75	79
Bragança (B5)	<b>7.51</b>	<b>0.97</b>	1.19	23	1.09	13	<b>0.93</b>	1.25	35	1.13	22
Mirandela (M1)	<b>5.58</b>	<b>1.64</b>	1.44	12	1.18	28	<b>1.72</b>	1.56	10	1.23	29
Mirandela (M2)	<b>11.90</b>	<b>0.59</b>	0.73	24	0.89	51	<b>0.65</b>	0.69	7	0.89	38
Mac Cavaleiros (MC)	<b>16.00</b>	<b>0.51</b>	0.43	15	0.69	13	<b>0.44</b>	0.34	22	0.67	53
Car. Ansães (CA1)	<b>7.51</b>	<b>1.15</b>	1.19	4	1.09	5	<b>1.07</b>	1.25	17	1.13	6
Car. Ansães (CA2)	<b>29.88</b>	<b>0.36</b>	0.37	2	0.04	88	<b>0.34</b>	0.37	9	0.08	76

# Azeitona de mesa - *alcaparras*

## Actividade antimicrobiana

**Table 2.** Antimicrobial activity of the 'alcaparra' extract

Samples	MIC (mg/mL)							
	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. neoformans</i>
Alcaparra	25 (+ + + +)	25 (+ +)	25 (+ +)	50 (-)	50 (+ + +)	10 (+ +)	50 (-)	50 (-)
Ampicillin	0.00313 (+ + + +)	0.0125 (+ + + +)	0.00625 (+ + + +)	0.00625 (+ + + +)	0.00625 (+ + + +)	0.00625 (+ + + +)	NT (+ +)	NT (+ + + +)
Cycloheximide	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0.0125 (+ +)	0.00625 (+ + + +)

No antimicrobial activity (-), inhibition zone <1 mm. Slight antimicrobial activity (+), inhibition zone 2-3 mm. Moderate antimicrobial activity (+ +), inhibition zone 4-5 mm. High antimicrobial activity (+ + +), inhibition zone 6-9 mm. Strong antimicrobial activity (+ + + +), inhibition zone >9 mm. Standard deviation  $\pm 0.5$  mm. NT, not tested.

**Table 3.** IC<sub>50</sub> values of 'alcaparra' extract

Bacterial species	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
<i>B. cereus</i>	0.981
<i>B. subtilis</i>	2.445
<i>S. aureus</i>	2.841
<i>E. coli</i>	0.722
<i>K. pneumoniae</i>	0.813



# Azeite

---



# Azeite

---



# Azeite

## Oliveira

*(Olea europaea)*: árvore da vida eterna

### Azeite (passado)

- Óleo sagrado
- Alumiar na escuridão
- Coroar os heróis
- Perfumar os corpos
- Alimentar o corpo
- Ungir os mortos

### Azeite (actualmente)







- Qualidades gastronómicas
- Qualidades nutricionais
- Propriedades terapêuticas

**Impacto positivo  
na saúde**

# Azeite

---

## Impacto positivo na saúde

-  Prevenção na doença coronária
-  Prevenção do cancro
-  Modulação da resposta imune
-  Controlo da pressão arterial
-  Controlo da diabetes
-  Controlo das funções hepática, biliar e intestinal

# Classificação Comercial (Anexo Reg. (CE) nº 1513/2001)

---

## Azeite Virgem Extra

Azeite Virgem com gosto perfeitamente irrepreensível cuja acidez, expressa em ácido oleico, não seja superior a 0,8%.

## Azeite Virgem

Com gosto irrepreensível cuja acidez, expressa em ácido oleico, não seja superior a 2%.

## Azeite - Contém exclusivamente Azeite Refinado e Azeite Virgem

Azeite constituído por uma mistura de azeite refinado com azeite virgem, com exclusão do lampante, cuja acidez, expressa em ácido oleico, não seja superior a 1% e com as outras características conformes com as previstas para esta categoria.

# Denominações

---

## Azeite D.O.P.

Azeite com "Denominação de Origem Protegida" - Tem origem numa área geográfica delimitada, com solos e clima característicos e é elaborado com azeitonas de determinadas cultivares de oliveira. Estes factores aliados às condições de apanha e transporte para o lagar e condições de laboração dão origem a um azeite com características químicas e sensoriais únicas.

## Azeite de Agricultura Biológica

Azeite proveniente de azeitonas produzidas em olivais conduzidos de acordo com o modo de produção biológico.

## Azeite de Quinta

Azeites em que todas as operações desde o cultivo da oliveira até ao embalamento do azeite são efectuados na área de exploração da quinta.

## Azeites elementares ou monovarietais

Azeites obtidos de azeitonas de uma só cultivar.

# Azeite

---

## Fracção saponificável (99%)

- Trigliceridos;
- Ácidos gordos livres;
- Fosfatídeos
- Pigmentos verdes que incluem a clorofila e produtos da sua decomposição;
- Glucosidos.

## Fracção insaponificável (0,5-1,5%)

- Hidocarbonetos;
- Carotenóides;
- Tocoferóis;
- Esteróis;
- Compostos fenólicos;
- etc.

# Azeite

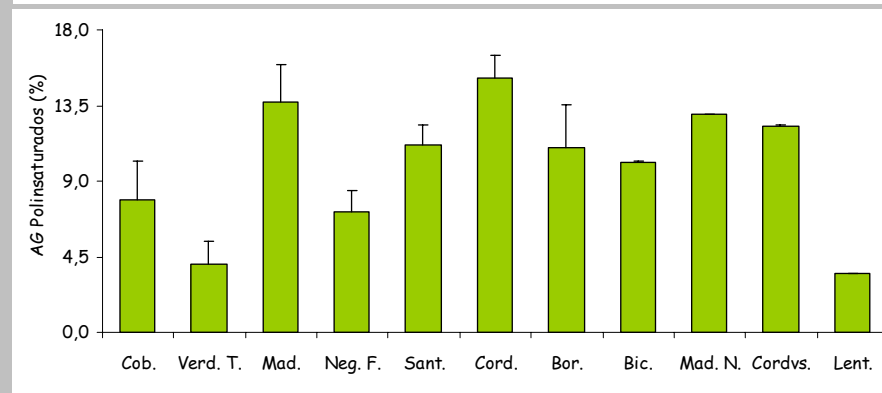
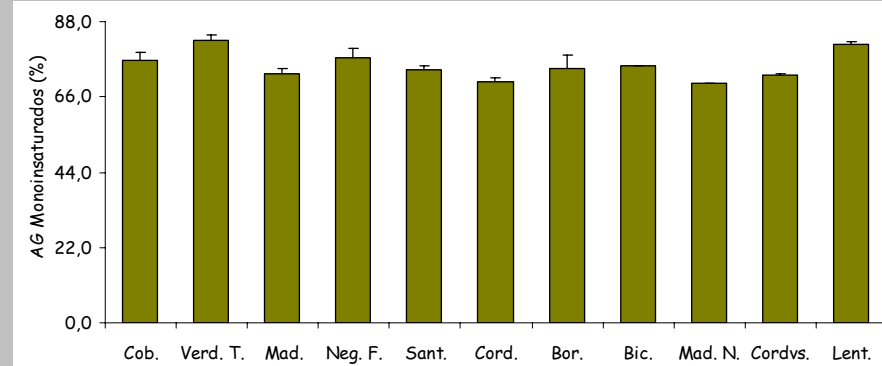
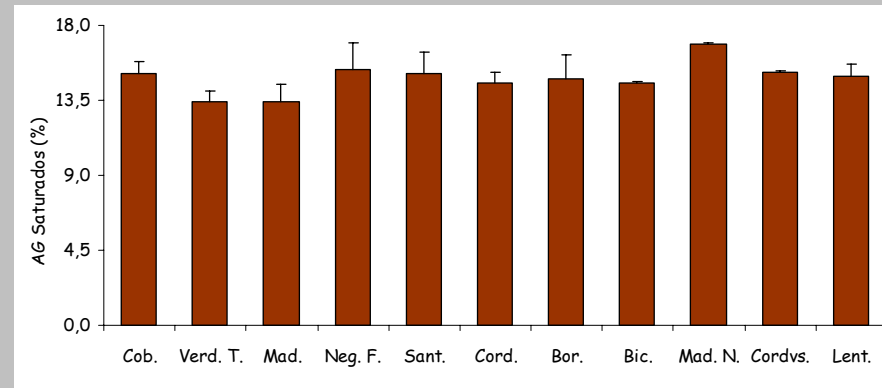
## Composição em ácidos gordos

Ácido gordos	Cobrançosa	Madural	Verdeal Trans.
Ácido mirístico (C14:0)	0,005	0,008	0,002
Ácido palmítico (C16:0)	9,629	10,282	9,666
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,413	0,248	0,298
Ácido margarico (C17:0)	0,097	0,024	0,091
Ácido esteárico (C18:0)	4,988	2,378	3,211
Ácido oleico (C18:1)	76,377	71,595	80,982
Ácido linoleico (C18:2)	6,192	13,102	3,450
Ácido linolénico (C18:3)	0,676	0,780	0,448
Ácido araquídico (C20:0)	0,155	0,218	0,178
Ácido beénico (C22:0)	0,095	0,080	0,116
Ácido lignocérico (C24:0)	0,561	0,851	0,703



# Azeite

## Composição em ácidos gordos



Sousa et al., 2007. Encontro química dos alimentos

## Composição em esteróis

**Table 1**  
Mean values ( $\bar{x}_p$ ) and standard deviations ( $s_p$ ) of the three monovarietal olive oils under study, as well as the minimum ( $x_{\min}$ ), median ( $\bar{x}$ ) and maximum ( $x_{\max}$ ) values for the PDO

Sterols	Cobrançosa			Madural			Verdeal			Overall means <sup>a</sup>	PDO		
	$x_{\max}$	$x_{\min}$	$\bar{x} \pm s$	$x_{\max}$	$x_{\min}$	$\bar{x} \pm s$	$x_{\max}$	$x_{\min}$	$\bar{x} \pm s$		$x_{\max}$	$x_{\min}$	$\bar{x} \pm s$
Cholesterol	0.560	0.162	0.389 ± 0.138	0.519	0.163	0.284 ± 0.132	0.351	0.220	0.265 ± 0.047	0.314	0.578	0.293	0.433 ± 0.076
Campesterol	3.478	1.195	3.277 ± 0.168	2.655	2.487	2.501 ± 0.112	3.363	2.868	3.069 ± 0.193	2.975	3.923	2.245	3.114 ± 0.530
Stigmasterol	1.192	0.600	0.747 ± 0.211	1.493	1.015	1.369 ± 0.218	1.189	0.737	0.958 ± 0.211	1.005	1.101	0.670	0.798 ± 0.131
Clerosterol	0.957	0.838	0.926 ± 0.041	0.965	0.928	0.935 ± 0.070	0.911	0.816	0.844 ± 0.044	0.900	1.091	0.768	0.856 ± 0.075
β-Sitosterol	88.600	85.699	87.112 ± 0.957	86.959	82.812	86.161 ± 3.233	88.739	88.016	88.343 ± 0.348	87.267	85.366	83.094	84.207 ± 0.635
Δ <sup>5</sup> -Avenasterol	8.675	6.063	7.483 ± 0.972	11.747	7.940	8.474 ± 3.135	6.827	5.765	6.374 ± 0.407	7.383	11.471	9.387	10.072 ± 0.596
β-Sitosterol (apparent)	97.224	95.114	95.519 ± 0.292	96.040	95.046	95.571 ± 0.367	95.787	95.436	95.559 ± 0.124	95.549	96.275	94.525	95.357 ± 0.594
Δ <sup>7</sup> -Stigmastenol	0.206	0.000	0.069 ± 0.075	0.301	0.204	0.277 ± 0.069	0.212	0.000	0.146 ± 0.073	0.157	0.394	0.000	0.267 ± 0.128

All the values obtained are presented in percentages.

<sup>a</sup> Overall means of the three monovarietal cultivars.

# Azeite

## Composição em tocoferóis

### Tocoferóis em azeites (mg/kg)

	<b>Cobrançosa</b>	<b>Madural</b>	<b>Verdeal</b>
$\alpha$	<b>199,6</b>	<b>160,1</b>	<b>128,2</b>
$\beta$	<b>1,5</b>	<b>1,0</b>	<b>0,5</b>
$\gamma$	<b>4,0</b>	<b>1,7</b>	<b>2,8</b>
<b>Total</b>	<b>205,2</b>	<b>162,7</b>	<b>131,6</b>

## Futuro

