

REGULAMENTO DE EXECUÇÃO (UE) 2015/1833 DA COMISSÃO**de 12 de outubro de 2015****que altera o Regulamento (CEE) n.º 2568/91 relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados**

A COMISSÃO EUROPEIA,

Tendo em conta o Tratado sobre o Funcionamento da União Europeia,

Tendo em conta o Regulamento (UE) n.º 1308/2013 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de dezembro de 2013, que estabelece uma organização comum dos mercados dos produtos agrícolas e que revoga os Regulamentos (CEE) n.º 922/72, (CEE) n.º 234/79, (CE) n.º 1037/2001 e (CE) n.º 1234/2007 do Conselho ⁽¹⁾, nomeadamente o artigo 91.º, primeiro parágrafo, alínea d), e segundo parágrafo,

Considerando o seguinte:

- (1) O Regulamento (CEE) n.º 2568/91 da Comissão ⁽²⁾ define as características físico-químicas e organolépticas dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona e descreve os métodos a utilizar para as determinar. Esses métodos são regularmente atualizados com base no parecer de peritos químicos e em consonância com o trabalho realizado no Conselho Oleícola Internacional (COI).
- (2) Para garantir que são aplicadas na União as últimas normas internacionais estabelecidas pelo COI, é necessário atualizar determinados métodos de análise estabelecidos no Regulamento (CEE) n.º 2568/91.
- (3) A experiência adquirida revela que o método de deteção de outros óleos vegetais em azeites pode gerar falsos positivos. As referências a esse método devem, por isso, ser suprimidas.
- (4) O Regulamento (CEE) n.º 2568/91 deve, portanto, ser alterado em conformidade.
- (5) As medidas previstas no presente regulamento estão em conformidade com o parecer do Comité para a Organização Comum dos Mercados Agrícolas,

ADOTOU O PRESENTE REGULAMENTO:

Artigo 1.º

O Regulamento (CEE) n.º 2568/91 é alterado do seguinte modo:

- 1) No artigo 2.º, o n.º 1 é alterado do seguinte modo:
 - a) o primeiro parágrafo é alterado do seguinte modo:
 - i) a alínea g) passa a ter a seguinte redação:

«g) para determinação da composição de ácidos gordos, o método descrito no anexo X;»,
 - ii) a alínea l) passa a ter a seguinte redação:

«l) para determinação do teor de álcoois alifáticos e de álcoois triterpénicos, o método descrito no anexo XIX;»,
 - b) é suprimido o segundo parágrafo.
- 2) O sumário dos anexos é alterado do seguinte modo:
 - a) as referências aos anexos XA e XB, incluindo os respetivos títulos, são substituídas pela seguinte referência única:

«Anexo X: Determinação dos ésteres metílicos de ácidos gordos por cromatografia em fase gasosa;»

⁽¹⁾ JO L 347 de 20.12.2013, p. 671.

⁽²⁾ Regulamento (CEE) n.º 2568/91 da Comissão, de 11 de julho de 1991, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados (JO L 248 de 5.9.1991, p. 1).

- b) na referência ao anexo XIX, o título passa a ter a seguinte redação:
- «Determinação do teor de álcoois alifáticos e de álcoois triterpénicos por cromatografia em fase gasosa em coluna capilar»;
- c) é suprimida a referência ao anexo XXA.
- 3) O anexo I-B, apêndice 1, é alterado em conformidade com o anexo I do presente regulamento.
- 4) O anexo V é alterado em conformidade com o anexo II do presente regulamento.
- 5) O anexo IX é substituído pelo texto constante do anexo III do presente regulamento.
- 6) Os anexos XA e XB são substituídos pelo texto constante do anexo IV do presente regulamento.
- 7) O anexo XII é alterado em conformidade com o anexo V do presente regulamento.
- 8) O anexo XIX é alterado em conformidade com o anexo VI do presente regulamento.
- 9) É suprimido o Anexo XXA.

Artigo 2.º

O presente regulamento entra em vigor no terceiro dia seguinte ao da sua publicação no *Jornal Oficial da União Europeia*.

O presente regulamento é obrigatório em todos os seus elementos e diretamente aplicável em todos os Estados-Membros.

Feito em Bruxelas, em 12 de outubro de 2015.

Pela Comissão
O Presidente
Jean-Claude JUNCKER

ANEXO I

No anexo I-B, apêndice I, do Regulamento (CEE) n.º 2568/91, o quadro de correspondência é alterado do seguinte modo:

- 1) As linhas relativas aos isómeros *trans* de ácidos gordos e ao teor de ácidos gordos são substituídas pelo seguinte:

«— Isómeros <i>trans</i> de ácidos gordos	Anexo X	Determinação dos ésteres metílicos de ácidos gordos por cromatografia em fase gasosa
— Teor de ácidos gordos	Anexo X	Determinação dos ésteres metílicos de ácidos gordos por cromatografia em fase gasosa»

- 2) A linha relativa aos álcoois alifáticos é substituída pelo seguinte:

«— Álcoois alifáticos e álcoois triterpénicos	Anexo XIX	Determinação do teor de álcoois alifáticos e de álcoois triterpénicos por cromatografia em fase gasosa em coluna capilar»
-----------------------------------------------	-----------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

ANEXO II

No anexo V do Regulamento (CEE) n.º 2568/91, o ponto 6.2 passa a ter a seguinte redação:

- «6.2. Calcula-se a percentagem de cada esteroI a partir da relação entre a área do pico respetivo e a soma das áreas dos picos de todos os esteróis:

$$\text{esteroI}_x = \frac{A_x}{\sum A} \times 100$$

em que:

A_x = área do pico do esteroI x;

$\sum A$ = soma das áreas dos picos de todos os esteróis.»

ANEXO III

«ANEXO IX

ANÁLISE POR ESPETROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

INTRODUÇÃO

A análise espectrofotométrica no ultravioleta pode fornecer indicações sobre a qualidade de uma matéria gorda, o estado de conservação desta e as modificações devidas aos processos tecnológicos a que foi sujeita. As absorvências nos comprimentos de onda especificados no método são devidas à presença de sistemas diénicos e triénicos conjugados, resultantes de processos de oxidação e/ou de práticas de refinação. Os valores destas absorvências são expressos em termos de extinção específica $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ – extinção de uma solução a 1 % (m/v) da matéria gorda no solvente prescrito, numa célula de 10 mm –, convencionalmente designada por K e também por “coeficiente de extinção”.

1. OBJETIVO

Este anexo descreve o processo de realização de análises espectrofotométricas no ultravioleta ao azeite.

2. PRINCÍPIO DO MÉTODO

Dissolve-se uma amostra no solvente estabelecido e mede-se a absorvência da solução em relação ao solvente puro, nos comprimentos de onda prescritos.

Calculam-se as extinções específicas a 232 nm e 268 nm em iso-octano ou a 232 nm e 270 nm em ciclo-hexano, à concentração de 1 % (m/v), numa célula de 10 mm.

3. APARELHOS E UTENSÍLIOS

- 3.1. Espectrofotómetro para medições no ultravioleta, entre 220 nm e 360 nm, com possibilidade de leitura por unidade nanométrica. Recomenda-se a verificação regular da exatidão e da reprodutibilidade das escalas de absorvência e de comprimento de onda, bem como da luz parasita.

- 3.1.1. *Escala de comprimento de onda:* Esta verificação pode ser efetuada com um material de referência constituído por um filtro ótico de vidro dopado com óxido de hólmio ou por uma solução de óxido de hólmio (selada ou não), que possui bandas de absorção distintas. Estes materiais de referência foram concebidos para a verificação e calibração das escalas de comprimento de onda de espectrofotómetros do visível e do ultravioleta com largura de banda espectral nominal igual ou inferior a 5 nm. Efetuam-se as medições em relação a um branco de ar, no intervalo de comprimentos de onda compreendido entre 640 nm e 240 nm, de acordo com as instruções que acompanham os materiais de referência. A cada alteração da largura da fenda, corrige-se a linha de base com a trajetória do feixe luminoso livre. Os comprimentos de onda padrão figuram no certificado do material de referência.

- 3.1.2. *Escala de absorvência:* Esta verificação pode ser efetuada com materiais de referência selados disponíveis no comércio, constituídos por soluções ácidas de dicromato de potássio a determinadas concentrações e com valores certificados de absorvência a $\lambda_{\text{máx}}$ (quatro soluções de dicromato de potássio em ácido perclórico, seladas em quatro células de quartzo para UV, para medir a linearidade e a exatidão fotométrica de referência no ultravioleta). Efetuam-se as medições das soluções de dicromato de potássio em relação a um branco do ácido utilizado, após correção da linha de base, de acordo com as instruções que acompanham o material de referência. Os valores de absorvência figuram no certificado do material de referência.

Outro modo de verificar a resposta da célula fotoelétrica e do fotomultiplicador: pesam-se 0,2000 g de cromato de potássio puro para espectrofotometria e dissolvem-se numa solução 0,05 N de hidróxido de potássio num balão aferido de 1 000 ml, completando o volume até ao traço de aferição. Tomam-se exatamente 25 ml da solução obtida, transferem-se para um balão aferido de 500 ml e dilui-se até ao traço de aferição com a mesma solução de hidróxido de potássio.

Mede-se a extinção desta solução a 275 nm, utilizando a solução de hidróxido de potássio como referência. A extinção medida com uma célula de 1 cm de percurso ótico deve ser de $0,200 \pm 0,005$.

- 3.2. Células retangulares de quartzo com tampa, adequadas para medições no ultravioleta (220 nm a 360 nm), com percurso ótico de 10 mm. Quando cheias de água ou de outro solvente adequado, as células não devem apresentar entre elas diferenças superiores a 0,01 unidades de extinção.

3.3. Balões volumétricos de 25 ml com traço de aferição, classe A.

3.4. Balança analítica com aproximação de 0,0001 g.

4. REAGENTES

Salvo indicação em contrário, utilizam-se unicamente nas análises reagentes de qualidade analítica reconhecida e água destilada ou desmineralizada ou de pureza equivalente.

Solventes: iso-octano (2,2,4-trimetilpentano), para as medições a 232 nm e 268 nm, ou ciclo-hexano, para as medições a 232 nm e 270 nm, de absorvência inferior a 0,12 a 232 nm e inferior a 0,05 a 270 nm, comparativamente a água destilada, medida numa célula de 10 mm.

5. TÉCNICA

5.1. A amostra deve estar perfeitamente homogénea e estar isenta de impurezas em suspensão. Se assim não for, terá de ser filtrada com papel de filtro a cerca de 30 °C.

5.2. Pesam-se rigorosamente, num balão aferido de 25 ml, com a aproximação de 1 mg, cerca de 0,25 g da amostra, preparada de acordo com o ponto anterior, completando o volume com o solvente prescrito até ao traço de aferição e homogeneizando. Deve obter-se uma solução perfeitamente límpida. No caso de a solução apresentar opalescência ou turvação, filtra-se rapidamente com papel de filtro.

NOTA: Em geral, é suficiente uma massa de 0,25-0,30 g para medir absorvências de azeites virgens e azeites virgens extra a 268 nm e 270 nm. Para medições a 232 nm, é normalmente necessária uma massa de 0,05 g de amostra, pelo que habitualmente se preparam duas soluções distintas. Para medir absorvências de óleos de bagaço de azeitona, azeites refinados e azeites adulterados, cuja absorvência é maior, é normalmente suficiente uma quantidade mais pequena de amostra, por exemplo 0,1 g.

5.3. Se necessário, corrige-se a linha de base (220-290 nm) com solvente em ambas as células de quartzo (amostra e referência), enche-se a célula de quartzo da amostra com a solução em estudo e medem-se as extinções a 232, 268 ou 270 nm comparativamente ao solvente utilizado como referência.

Os valores de extinção registados devem estar compreendidos entre 0,1 e 0,8 ou na gama de linearidade do espectrofotómetro (a qual deve ser verificada). Caso contrário, repetem-se as medições utilizando soluções mais concentradas ou mais diluídas, consoante o caso.

5.4. Uma vez medida a absorvência a 268 nm ou a 270 nm, mede-se a absorvência a $\lambda_{\text{máx}}$, $\lambda_{\text{máx}} + 4$ e $\lambda_{\text{máx}} - 4$. Utilizam-se estes valores de absorvência para determinar a variação da extinção específica (ΔK).

NOTA: Considera-se que o valor de $\lambda_{\text{máx}}$ é 268 nm para o solvente iso-octano e 270 nm para o solvente ciclo-hexano.

6. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

6.1. As extinções específicas (coeficientes de extinção) registadas nos diversos comprimentos de onda calculam-se pela seguinte fórmula:

$$K\lambda = \frac{E\lambda}{c \times s}$$

em que:

$K\lambda$ = extinção específica no comprimento de onda λ ,

$E\lambda$ = extinção medida no comprimento de onda λ ,

c = concentração da solução, em g/100 ml,

s = percurso ótico na célula de quartzo, em cm;

Os resultados são arredondados às centésimas.

6.2. Variação da extinção específica (ΔK)

A variação do valor absoluto da extinção específica (ΔK) é dada por:

$$\Delta K = \left| K_m - \left(\frac{K\lambda_m - 4 + K\lambda_m + 4}{2} \right) \right|$$

em que K_m é a extinção específica no comprimento de onda correspondente à absorção máxima do solvente utilizado (270 nm ou 268 nm).

Os resultados são arredondados às centésimas.»

ANEXO IV

«ANEXO X

DETERMINAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GORDOS POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA**1. OBJETIVO**

Este anexo fornece orientações sobre a determinação por cromatografia em fase gasosa de ácidos gordos livres e ligados em matérias gordas vegetais, após conversão dos ácidos em ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME)

Convertem-se os ácidos gordos ligados dos triacilgliceróis e, dependendo do método de esterificação, os ácidos gordos livres em ésteres metílicos de ácidos gordos, que são determinados por cromatografia em fase gasosa em coluna capilar.

O método descrito neste anexo permite determinar ésteres metílicos de ácidos gordos de C_{12} a C_{24} , incluindo ésteres metílicos de ácidos gordos saturados, monoinsaturados *cis* e *trans* e poli-insaturados *cis* e *trans*.

2. PRINCÍPIO

Determinam-se quantitativamente os ésteres metílicos de ácidos gordos por cromatografia em fase gasosa. Preparam-se os ésteres de acordo com a parte A, após o que se injetam e vaporizam no injetor. Separam-se os ésteres em colunas analíticas de polaridade e comprimento específicos. Para detetar os ésteres, utiliza-se um detetor de ionização de chama. As condições analíticas são descritas na parte B.

O gás vetor (fase móvel) utilizado na cromatografia em fase gasosa de ésteres metílicos de ácidos gordos com detetor de ionização de chama é hidrogénio ou hélio. O hidrogénio acelera a separação e permite obter picos mais nítidos. A fase estacionária é uma camada microscópica constituída por um filme líquido fino numa superfície sólida inerte de sílica fundida.

À medida que percorrem a coluna capilar, os compostos volatilizados em análise interagem com a fase estacionária que reveste a superfície interior da coluna. Devido à interação diferente com os diversos compostos, estes eluem em tempos diferentes, constituindo cada um deles o tempo de retenção do composto em causa para a série de parâmetros analíticos considerada. Identifica-se cada composto por comparação do tempo de retenção correspondente.

PARTE A

PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS DOS ÁCIDOS GORDOS DO AZEITE E DO ÓLEO DE BAGAÇO DE AZEITONA**1. OBJETIVO**

Esta parte descreve a preparação dos ésteres metílicos de ácidos gordos. Compreende métodos para a preparação dos ésteres metílicos de ácidos gordos de azeites e de óleo de bagaço de azeitona.

2. DOMÍNIO DE APLICAÇÃO

Preparam-se os ésteres metílicos de ácidos gordos de azeites e de óleo de bagaço de azeitona por transesterificação à temperatura ambiente com solução metanólica de hidróxido de potássio. A necessidade de purificar a amostra antes da transesterificação depende do teor de ácidos gordos livres da amostra e do parâmetro analítico a determinar. A decisão pode ser tomada com base no quadro seguinte:

Categoria do azeite ou óleo	Método
Azeite virgem com acidez $\leq 2,0$ %	1. Ácidos gordos
	2. Ácidos gordos <i>trans</i>
Azeite refinado	3. Δ NCE42 (após purificação por extração em fase sólida com sílica-gel)
Azeite constituído por azeite refinado e azeites virgens	

Categoria do azeite ou óleo	Método
Óleo de bagaço de azeitona refinado	1. Ácidos gordos (após purificação por extração em fase sólida com sílica-gel) 2. Ácidos gordos <i>trans</i> (após purificação por extração em fase sólida com sílica-gel) 3. ΔNCE42 (após purificação por extração em fase sólida com sílica-gel)
Óleo de bagaço de azeitona	
Azeite virgem com acidez > 2,0 % Óleo de bagaço de azeitona bruto	

3. MÉTODO

3.1. Transesterificação à temperatura ambiente com solução metanólica de hidróxido de potássio

3.1.1. Princípio

Formação dos ésteres metílicos por transesterificação com uma solução metanólica de hidróxido de potássio, como fase intermédia antes da saponificação.

3.1.2. Reagentes

3.1.2.1. Metanol com teor de humidade não superior a 0,5 % (m/m).

3.1.2.2. Hexano para cromatografia.

3.1.2.3. Heptano para cromatografia.

3.1.2.4. Éter dietílico estabilizado para análise.

3.1.2.5. Acetona para cromatografia.

3.1.2.6. Solvente de eluição para purificação do azeite ou óleo por cromatografia em coluna/extração em fase sólida: mistura 87:13 (v/v) de hexano e éter dietílico.

3.1.2.7. Solução metanólica aproximadamente 2 M de hidróxido de potássio: dissolvem-se 11,2 g de hidróxido de potássio em 100 ml de metanol.

3.1.2.8. Cartuchos de sílica-gel de 1 g (6 ml) para extração em fase sólida.

3.1.3. Utensílios

3.1.3.1. Tubos de ensaio com tampa de rosca e junta de PTFE, com 5 ml de capacidade.

3.1.3.2. Pipetas graduadas ou automáticas de 2 ml e 0,2 ml.

3.1.4. Purificação das amostras de azeite ou de óleo

Se necessário, purificam-se as amostras passando o azeite ou óleo por um cartucho de sílica-gel para extração em fase sólida. Coloca-se um cartucho de sílica-gel (3.1.2.8) num aparelho de eluição sob vazio e lava-se com 6 ml de hexano (3.1.2.2). A lavagem não é efetuada sob vazio. Introduce-se a seguir na coluna uma solução de aproximadamente 0,12 g do azeite ou óleo em 0,5 ml de hexano (3.1.2.2). Empurra-se e elui-se esta solução com 10 ml de hexano/éter dietílico na proporção 87:13 (v/v) (3.1.2.6). Combinam-se os eluatos, homogeneiza-se e divide-se o volume total em dois volumes semelhantes. Evapora-se um dos volumes até à secura, num evaporador rotativo, sob pressão reduzida, à temperatura ambiente. Dissolve-se o resíduo em 1 ml de heptano. A solução obtida está pronta para a análise dos ácidos gordos por cromatografia em fase gasosa. Evapora-se o segundo volume e dissolve-se o resíduo em 1 ml de acetona, para a análise dos triacilgliceróis por HPLC, se necessário.

3.1.5. *Procedimento*

Num tubo de ensaio com tampa de rosca de 5 ml (3.1.3.1), pesa-se aproximadamente 0,1 g da amostra de azeite ou óleo. Juntam-se 2 ml de heptano (3.1.2.2) e agita-se. Juntam-se 0,2 ml da solução metanólica de hidróxido de potássio (3.1.2.7), tapa-se com a tampa com junta de PTFE, fecha-se bem e agita-se energeticamente durante 30 segundos. Deixa-se repousar até a parte superior da solução ficar límpida. Decanta-se a camada superior, que contém os ésteres metílicos. A solução de heptano está pronta para ser injetada no cromatógrafo de fase gasosa. É aconselhável manter esta solução no frigorífico até à análise cromatográfica. Não é recomendável guardar a solução durante mais de 12 horas.

PARTE B

ANÁLISE DOS ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GORDOS POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA1. **OBJETIVO**

Esta parte fornece orientações gerais para a aplicação de um método cromatográfico em fase gasosa em coluna capilar na determinação da composição qualitativa e quantitativa de uma mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos obtida pelo método descrito na parte A.

Não é aplicável a ácidos gordos polimerizados.

2. **REAGENTES**2.1. **Gás vetor**

Gás inerte (hélio ou hidrogénio) bem seco e com teor de oxigénio inferior a 10 mg/kg.

Nota 1: O hidrogénio pode duplicar a velocidade da análise, mas é perigoso. Estão disponíveis dispositivos de segurança.

2.2. **Gases auxiliares**

2.2.1. Hidrogénio (pureza $\geq 99,9\%$), isento de impurezas orgânicas.

2.2.2. Ar ou oxigénio, isento de impurezas orgânicas.

2.2.3. Azoto (pureza $> 99,9\%$).

2.3. **Padrão de referência**

Mistura de ésteres metílicos de ácidos gordos puros ou os ésteres metílicos de uma matéria gorda de composição conhecida, de preferência semelhante à da matéria gorda a analisar. Os isómeros *cis* e *trans* dos ésteres metílicos dos ácidos octadecenóico, octadecadienóico e octadecatrienóico são úteis na identificação dos isómeros *trans* de ácidos insaturados.

É necessário tomar precauções para evitar a oxidação dos ácidos gordos poli-insaturados.

3. **APARELHOS E UTENSÍLIOS**

As instruções fornecidas referem-se ao equipamento vulgarmente utilizado em cromatografia em fase gasosa com coluna capilar e detetor de ionização de chama.

3.1. **Cromatógrafo de fase gasosa**

Elementos do cromatógrafo de fase gasosa:

3.1.1. Sistema de injeção

Sistema de injeção especialmente concebido para colunas capilares. Pode ser com divisão de fluxo (tipo “split”) ou sem divisão de fluxo e com injeção direta na coluna (tipo “on-column”).

3.1.2. Forno

Forno capaz de aquecer a coluna capilar a, pelo menos, 260 °C e de manter a temperatura desejada com uma aproximação de 0,1 °C. Este último requisito é especialmente importante quando se utiliza um tubo de sílica fundida.

Recomenda-se em todos os casos o uso de aquecimento com programação de temperatura, particularmente para ácidos gordos com menos de 16 átomos de carbono.

3.1.3. Coluna capilar

3.1.3.1. Tubo de material inerte às substâncias a analisar (geralmente vidro ou sílica fundida). Diâmetro interno compreendido entre 0,20 mm e 0,32 mm. A superfície interna deve ser submetida a um tratamento apropriado (por exemplo inativação ou preparação da superfície) antes de receber o revestimento de fase estacionária. Um comprimento de 60 m é suficiente para ácidos gordos e isómeros *cis* e *trans* de ácidos gordos.

3.1.3.2. São adequadas colunas com fase estacionária polar de polissiloxano (cianopropilsilicone) ligada (reticulada).

Nota 2: Existe o risco de os polissiloxanos polares dificultarem a identificação e separação do ácido linolénico e dos ácidos C20.

Os revestimentos devem ser finos, isto é, de 0,1 µm a 0,2 µm.

3.1.3.3. Montagem e condicionamento da coluna

Observam-se as precauções normais na montagem de colunas capilares, isto é, na adaptação da coluna ao forno (suporte), na escolha e aplicação das juntas (de forma a garantir estanquidade) e no posicionamento das extremidades da coluna no injetor e no detetor (redução dos espaços mortos). Coloca-se a coluna sob um fluxo de gás vetor — por exemplo a 0,3 bar (30 kPa) para uma coluna de 25 m de comprimento e 0,3 mm de diâmetro interno.

Condiciona-se a coluna programando o aumento da temperatura do forno em 3 °C por minuto, desde a temperatura ambiente até uma temperatura 10 °C abaixo do limite de decomposição da fase estacionária. Mantém-se o forno a esta temperatura durante 1 hora, até a linha de base estabilizar. Voltar a 180 °C, para trabalhar em condições isotérmicas.

Nota 3: Estão disponíveis no comércio colunas pré-condicionadas adequadas.

3.1.4. Detetor de ionização de chama e conversor-amplificador.

3.2. Seringa

A capacidade máxima da seringa é de 10 µl, graduados em intervalos de 0,1 µl.

3.3. Sistema de aquisição de dados

Sistema de aquisição de dados ligado em linha com os detetores, dispondo de um programa adequado para a normalização e integração dos picos.

4. TÉCNICA

As operações descritas nos pontos 4.1 a 4.3 associam-se à utilização de um detetor de ionização de chama.

4.1. Condições operatórias

4.1.1. Escolha das condições operatórias ótimas de colunas capilares

As propriedades de eficiência e permeabilidade das colunas capilares tornam a separação dos componentes e a duração das análises fortemente dependentes do caudal do gás vetor na coluna. É, portanto, necessário otimizar as condições operatórias regulando este parâmetro (ou, mais simplesmente, a perda de carga na coluna) consoante se pretenda melhorar a separação ou acelerar a análise.

As condições a seguir indicadas revelaram-se adequadas para separar ésteres metílicos de ácidos gordos (C4 a C26). Apresentam-se exemplos de cromatogramas no apêndice B.

Temperatura do injetor:	250 °C;
Temperatura do detetor:	250 °C;
Temperatura do forno:	de 165 °C (8 minutos) a 210 °C a 2 °C/minuto;
Gás vetor hidrogénio:	179 kPa de pressão à entrada da coluna;
Fluxo total:	154,0 ml/minuto;
Divisão de fluxo ("split"):	1:100;
Volume injetado:	1 µl.

4.1.2. Determinação da resolução (ver o apêndice A)

Calcula-se a resolução, R, de dois picos vizinhos, I e II, do seguinte modo:

$$R = 2 \times ((d_{r(II)} - d_{r(I)})/(\omega_{(I)} + \omega_{(II)})) \text{ ou } R = 2 \times ((t_{r(II)} - t_{r(I)})/(\omega_{(I)} + \omega_{(II)})) \text{ (USP) (Farmacopeia dos Estados Unidos da América)}$$

ou

$$R = 1,18 \times ((t_{r(II)} - t_{r(I)})/(\omega_{0,5(I)} + \omega_{0,5(II)})) \text{ (EP, BP, JP, DAB) (Farmacopeia Europeia, Farmacopeia Britânica, Farmacopeia Japonesa, Farmacopeia Alemã),}$$

em que:

$d_{r(I)}$ é a distância de retenção do pico I;

$d_{r(II)}$ é a distância de retenção do pico II;

$t_{r(I)}$ é o tempo de retenção do pico I;

$t_{r(II)}$ é o tempo de retenção do pico II;

$\omega_{(I)}$ é a largura da base do pico I;

$\omega_{(II)}$ é a largura da base do pico II;

$\omega_{0,5}$ é a largura a meia-altura do pico do composto em causa.

Se $\omega_{(I)} \approx \omega_{(II)}$, calcula-se R do seguinte modo:

$$R = (d_{r(II)} - d_{r(I)})/\omega = (d_{r(II)} - d_{r(I)})/4\sigma$$

em que:

σ é o desvio-padrão (ver a figura 1 do apêndice A).

Se a distância entre os dois picos, $d_r = d_{r(III)} - d_{r(I)}$, for igual a 4σ , o fator de resolução R é igual a 1.

Se os dois picos não estiverem completamente separados, as tangentes ao ponto de inflexão de cada pico interseccionam-se no ponto C. A separação completa dos picos exige que a distância entre eles seja igual a:

$d_{r(III)} - d_{r(I)} = 6\sigma$ e, conseqüentemente, $R = 1,5$ (ver a figura 3 do apêndice A).

5. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Análise qualitativa

Identificam-se os picos correspondentes aos ésteres metílicos da amostra a partir do cromatograma ilustrado na figura 1 do apêndice B, se necessário por interpolação, ou por comparação com os picos de misturas de referência de ésteres metílicos (como é referido no ponto 2.3).

5.2. Análise quantitativa

5.2.1. Determinação da composição

Calcula-se a fração mássica, w_i , de ésteres metílicos de cada ácido gordo, expressa em percentagem mássica de ésteres metílicos, do seguinte modo:

5.2.2. Método de cálculo

5.2.2.1. Caso geral

Determinando a percentagem correspondente ao quociente entre a área do pico em causa e a soma das áreas de todos os picos, calcula-se do seguinte modo o teor de um componente i expresso em percentagem mássica de ésteres metílicos:

$$w_i = (A_i / \Sigma A) \times 100$$

em que:

A_i é a área do pico correspondente aos ésteres metílicos do ácido gordo i ;

ΣA é a soma das áreas dos picos correspondentes aos ésteres metílicos de todos os ácidos gordos.

Os resultados são arredondados às centésimas.

Nota 4: No caso das matérias gordas, a fração mássica de ésteres metílicos de um ácido gordo é igual à fração mássica de triacilgliceróis, em gramas por 100 gramas. Nos casos em que isto não seja válido, veja-se o ponto 5.2.2.2.

5.2.2.2. Fatores de correção

Em certos casos, por exemplo na presença de ácidos gordos com menos de oito átomos de carbono ou de ácidos com grupos secundários, é necessário corrigir as áreas aplicando fatores de correção específicos (F_{ci}), determinados para cada instrumento. Para isso, utilizam-se materiais de referência adequados, com uma composição certificada de ácidos gordos na gama de composições em causa.

Nota 5: Estes fatores de correção não são idênticos aos fatores de correção teóricos aplicados ao detetor de ionização de chama indicados no apêndice A, pois também dão conta do desempenho do sistema de injeção etc. Se as diferenças forem grandes, é necessário verificar o desempenho de todo o sistema.

Para a mistura de referência, a percentagem mássica de ésteres metílicos do ácido gordo i é calculada do seguinte modo:

$$w_i = (m_i / \Sigma m) \times 100$$

em que:

m_i é a massa de ésteres metílicos do ácido gordo i na mistura de referência;

Σm é a soma das massas de todos os ésteres metílicos de ácidos gordos da mistura de referência.

A partir do cromatograma da mistura de referência, calcula-se a percentagem (área/área) correspondente aos ésteres metílicos do ácido gordo i do seguinte modo:

$$w_i = (A_i / \Sigma A) \times 100$$

em que:

A_i é a área correspondente aos ésteres metílicos do ácido gordo i na mistura de referência;

ΣA é a soma das áreas de todos os ésteres metílicos de ácidos gordos da mistura de referência.

O fator de correção, F_c , é calculado do seguinte modo:

$$F_c = (m_i \times \Sigma A) / (A_i \times \Sigma m)$$

No caso da amostra, a percentagem mássica de ésteres metílicos do ácido gordo i é calculada do seguinte modo:

$$w_i = (F_i \times A_i) / \Sigma (F_i \times A_i)$$

Os resultados são arredondados às centésimas.

Nota 6: O valor calculado corresponde à percentagem mássica de cada ácido gordo, expresso em triacilgliceróis, por 100 g de matéria gorda.

5.2.2.3. Padrão interno

Em algumas análises (por exemplo quando nem todos os ácidos gordos são quantificados, o que acontece quando estão presentes ácidos com 4 e 6 átomos de carbono e ácidos com 16 e 18 átomos de carbono, ou quando é necessário determinar a quantidade absoluta de um ácido gordo numa amostra) é preciso utilizar um padrão interno. Para isso, recorre-se frequentemente aos ácidos gordos com 5, 15 ou 17 átomos de carbono. Se necessário, determina-se o fator de correção relativo ao padrão interno.

A percentagem mássica do componente i , expresso em ésteres metílicos, é calculada do seguinte modo:

$$w_i = (m_{IS} \times F_i \times A_i) / (m \times F_{IS} \times A_{IS})$$

em que:

A_i é a área correspondente aos ésteres metílicos do ácido gordo i ;

A_{IS} é a área correspondente ao padrão interno;

F_i é o fator de correção correspondente ao ácido gordo i , expresso em ésteres metílicos de ácido gordo;

F_{IS} é o fator de correção correspondente ao padrão interno;

m é a massa, em miligrama, da toma para ensaio;

m_{IS} é a massa, em miligrama, do padrão interno.

Os resultados são arredondados às centésimas.

6. RELATÓRIO DO ENSAIO

O relatório deve especificar os métodos utilizados na preparação dos ésteres metílicos e na análise cromatográfica em fase gasosa. Deve mencionar igualmente todas as condições operatórias não especificadas neste método normalizado ou consideradas opcionais, assim como todas as ocorrências que possam ter influenciado os resultados.

O relatório do ensaio tem de conter todas as indicações necessárias para a completa identificação da amostra.

7. PRECISÃO

7.1. Resultados do estudo interlaboratorial

O anexo C da norma IOC/T.20/Doc. n.º 33 dá pormenores sobre um estudo interlaboratorial relativo à precisão do método. Os valores decorrentes desse estudo podem não ser aplicáveis a gamas de concentração e matrizes diferentes das indicadas.

7.2. Repetibilidade

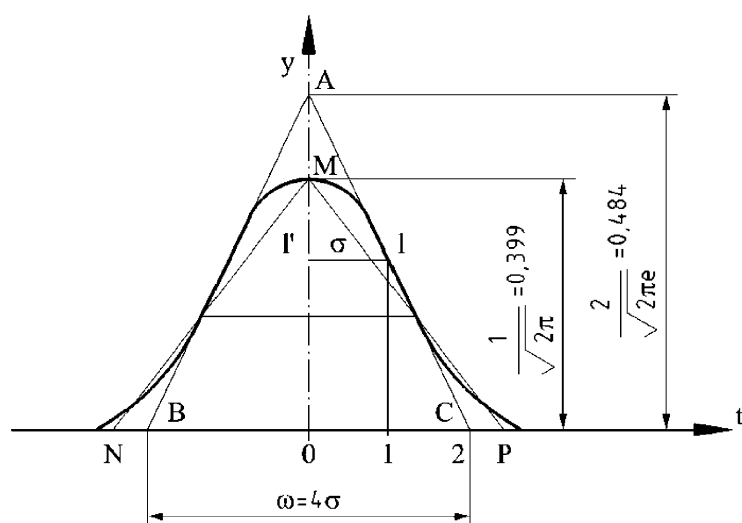
A diferença absoluta entre dois resultados independentes, obtidos pelo mesmo método, com o mesmo material em estudo, no mesmo laboratório e pelo mesmo operador, utilizando o mesmo equipamento num curto intervalo de tempo, não deve exceder em mais de 5 % dos casos o valor r indicado no anexo C, quadros 1 a 14, da norma IOC/T.20/Doc. n.º 33.

7.3. Reprodutibilidade

A diferença absoluta entre dois resultados, obtidos pelo mesmo método, com o mesmo material em estudo, em laboratórios diferentes e por operadores diferentes, utilizando equipamento diferente, não deve exceder em mais de 5 % dos casos o valor R indicado no anexo C, quadros 1 a 14, da norma IOC/T.20/Doc. n.º 33.

Apêndice A

Figura 1



$\omega_{0,5}$ é a largura a meia altura do triângulo ABC; b é a largura a meia altura do triângulo NPM.

Figura 2

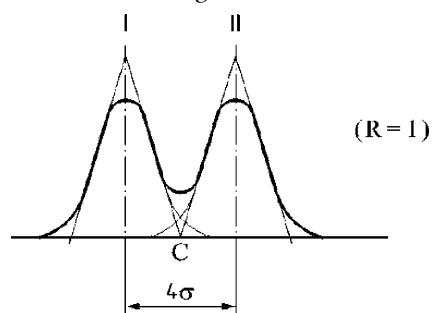
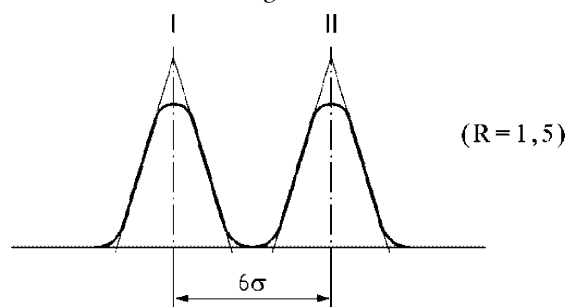


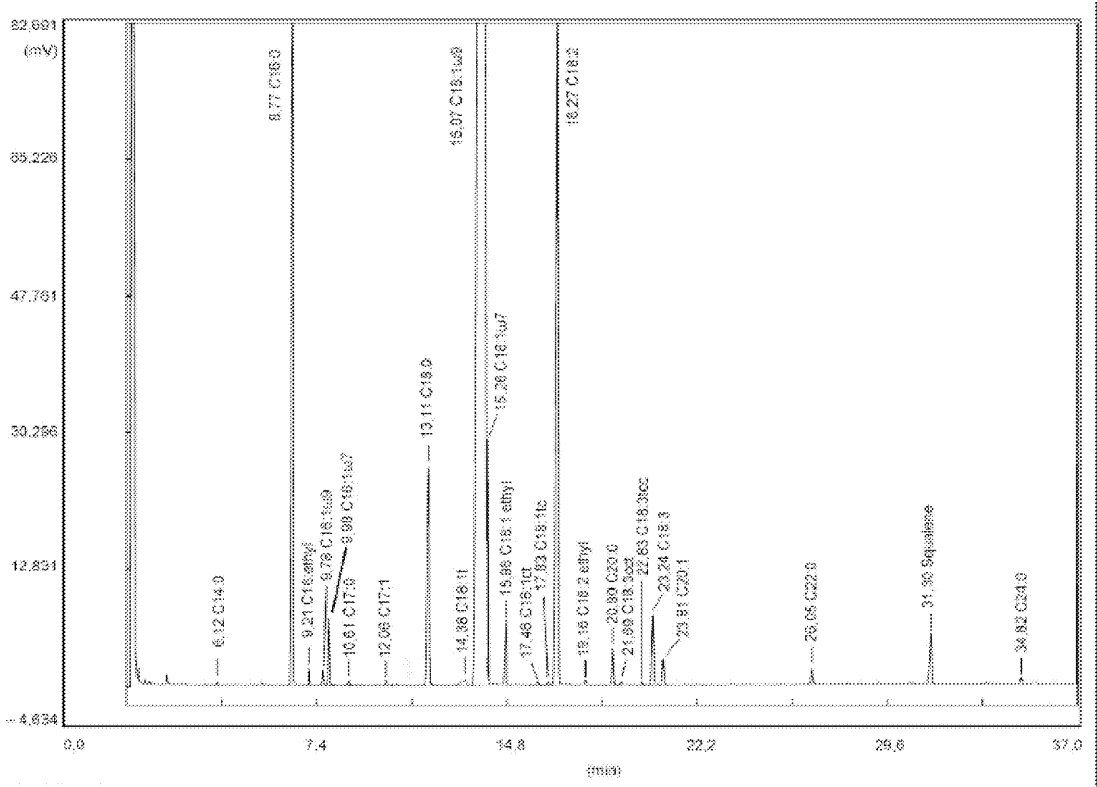
Figura 3



Apêndice B

Figura 1

Perfil cromatográfico em fase gasosa de um óleo de bagaço de azeitona, após aplicação do método de metilação a frio.



Salvo indicação em contrário, os picos cromatográficos correspondem aos ésteres metílicos e etílicos.»

ANEXO V

O anexo XII do Regulamento (CEE) n.º 2568/91 é alterado do seguinte modo:

1) O ponto 1 passa a ter a seguinte redação:

«1. OBJETIVO E DOMÍNIO DE APLICAÇÃO

O método internacional descrito neste anexo visa estabelecer o procedimento de avaliação das características organoléticas dos azeites virgens, na aceção do anexo VII, parte VIII, ponto 1, do Regulamento (UE) n.º 1308/2013 do Parlamento Europeu e do Conselho (*), bem como o método de classificação desses azeites com base em tais características. Inclui igualmente indicações relativas a determinados aspetos facultativos de rotulagem.

O método descrito só é aplicável aos azeites virgens e à classificação ou rotulagem dos mesmos em função da intensidade dos defeitos detetados e do frutado, determinada por um júri constituído por um grupo de provadores selecionados, treinados e supervisionados.

Remete-se para a última versão disponível das normas do COI referidas neste anexo.

(*) Regulamento (UE) n.º 1308/2013 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de dezembro de 2013, que estabelece uma organização comum dos mercados dos produtos agrícolas e que revoga os Regulamentos (CEE) n.º 922/72, (CEE) n.º 234/79, (CE) n.º 1037/2001 e (CE) n.º 1234/2007 do Conselho (JO L 347 de 20.12.2013, p. 671).»

2) Os pontos 3.2, 3.3 e 3.4 são substituídos pelos seguintes pontos:

«3.1.1. Outros atributos negativos

Cozido ou Queimado	“Flavour” característico dos azeites devido a aquecimento excessivo e/ou prolongado durante a obtenção dos mesmos, principalmente durante a termomalaxagem da pasta, se esta for realizada em condições térmicas inadequadas.
Feno-madeira	“Flavour” característico de certos azeites provenientes de azeitonas secas.
Encorpado	Sensação bucotátil densa e pastosa produzida por certos azeites velhos.
Lubrificantes	“Flavour” dos azeites que lembra o gasóleo, massas consistentes ou óleos minerais.
Água-ruça	“Flavour” adquirido pelos azeites devido a contacto prolongado com águas-ruças que sofreram processos de fermentação.
Salmoura	“Flavour” dos azeites obtidos de azeitonas conservadas em salmoura.
Metálico	“Flavour” que lembra os metais e é característico dos azeites que permaneceram prolongadamente em contacto com superfícies metálicas durante os processos de trituração, malaxagem, prensagem ou armazenagem.
Esparto	“Flavour” característico dos azeites obtidos de azeitonas prensadas em capachos de esparto novos. Pode variar consoante se trate de capachos fabricados de esparto verde ou de esparto seco.
Gafa	“Flavour” dos azeites obtidos de azeitonas fortemente atacadas por larvas da mosca da oliveira (<i>Bactrocera oleae</i>).
Pepino	“Flavour” dos azeites característico de um acondicionamento hermético excessivamente prolongado, nomeadamente em latas. É atribuído à formação de 2,6-nonadienal.

3.2. Atributos positivos

Frutado	Conjunto das sensações olfativas dependentes da variedade de azeitona, por via direta e/ou retronasal, características dos azeites provenientes de frutos são e frescos, verdes ou maduros.
Amargo	Gosto elementar característico dos azeites obtidos de azeitonas verdes ou em fase precoce de maturação, sentido pelas papilas caliciformes que constituem o V lingual.
Picante	Sensação tátil de picadas em toda a cavidade bucal, em especial na garganta, característica dos azeites produzidos no início da campanha, principalmente a partir de azeitonas ainda verdes.

3.3. Terminologia facultativa para efeitos de rotulagem

Se lhe for solicitado, o presidente do júri pode certificar que os azeites avaliados satisfazem as definições e intervalos correspondentes aos adjetivos seguintes, em função da intensidade e perceção dos atributos:

Atributos positivos (frutado, amargo e picante), em função da intensidade de perceção:

- *Intenso*: se a mediana do atributo em causa for superior a 6,
- *Médio*: se a mediana do atributo em causa estiver compreendida entre 3 e 6,
- *Suave*: se a mediana do atributo em causa for inferior a 3.

<i>Frutado</i>	Conjunto das sensações olfativas dependentes da variedade de azeitona, por via direta e/ou retronasal, características dos azeites provenientes de frutos sãos e frescos, sem predominância de frutado verde ou maduro.
<i>Frutado verde</i>	Conjunto das sensações olfativas por via direta e/ou retronasal que lembram frutos verdes, dependentes da variedade de azeitona, características dos azeites provenientes de frutos verdes sãos e frescos.
<i>Frutado maduro</i>	Conjunto das sensações olfativas por via direta e/ou retronasal que lembram frutos maduros, dependentes da variedade de azeitona, características dos azeites provenientes de frutos sãos e frescos.
<i>Equilibrado</i>	Azeite sem desequilíbrios, entendendo-se por “desequilíbrio” a sensação olfato-gustativa e tátil dos azeites cuja mediana do atributo “amargo” e/ou cuja mediana do atributo “picante” seja(m) superior(es) em dois pontos à mediana do atributo “frutado”.
<i>Doce</i>	Azeite cujas medianas do atributo “amargo” e do atributo “picante” sejam inferiores ou iguais a 2.»

3) No ponto 7, é inserido após o ponto 7.1 um subponto com a seguinte redação:

«7.1.1. *Presidente suplente do júri*

O presidente do júri pode, por motivo justificado, ser substituído por um presidente suplente em tarefas relacionadas com a realização dos exames organoléticos, o qual deve ter todas as aptidões exigidas ao presidente do júri.»

4) O ponto 7.2 passa a ter a seguinte redação:

«7.2. **Provedores**

As pessoas que assumam a função de provedores em exames organoléticos de azeites devem fazê-lo voluntariamente. É, portanto, recomendável que os interessados apresentem uma candidatura escrita. Os candidatos devem ser selecionados, formados e supervisionados pelo presidente do júri em função das aptidões que revelem para distinguir amostras semelhantes. Importa ter presente que o rigor dos provedores melhora com formação.

Os provedores devem comportar-se como efetivos observadores sensoriais, pondo de parte os seus gostos pessoais e dando conta unicamente das sensações que sintam. Para isso, devem trabalhar em silêncio, relaxados e sem pressas, concentrando-se ao máximo, em termos sensoriais, na amostra que estão a provar.

Para cada exame, são necessários 8 a 12 provedores. É prudente manter uma reserva de provedores, para acautelar eventuais ausências.»

5) O ponto 9.3 passa a ter a seguinte redação:

«9.3. **Utilização dos dados pelo presidente do júri**

O presidente do júri deve recolher as folhas de perfil preenchidas por cada provador e verificar as intensidades imputadas aos diferentes atributos. Se detetar alguma anomalia, deve solicitar ao provador que reveja a folha de perfil e, se necessário, que repita o exame.

O presidente do júri deve introduzir os dados de cada provador num programa informático como o previsto na norma IOC/T.20/Doc. n.º 15, tendo em vista o cálculo estatístico dos resultados do exame, baseados no cálculo das medianas. Ver o ponto 9.4 e o apêndice do presente anexo. A introdução dos dados respeitantes a cada amostra deve ser efetuada por recurso a uma matriz de nove colunas — correspondentes aos nove atributos sensoriais — e n linhas — correspondentes aos n provadores do júri.

Se, pelo menos, 50 % dos provadores detetarem um defeito e o inscreverem na rubrica “outros”, o presidente do júri deve calcular a mediana desse defeito e determinar a classificação correspondente.

O valor do coeficiente de variação robusto que define a classificação (defeito com a maior intensidade e atributo frutado) deve ser igual ou inferior a 20 %.

Caso contrário, o presidente do júri deve repetir a avaliação da amostra em causa noutra sessão de prova.

Se isto ocorrer com frequência, é recomendável que o presidente do júri faculte aos provadores formação adequada (IOC/T.20/Doc. n.º 14, § 5) e que utilize o índice de repetibilidade e o índice de desvio para aferir do desempenho do júri (IOC/T.20/Doc. n.º 14, § 6).»

6) O ponto 9.4 passa a ter a seguinte redação:

«9.4. **Classificação do azeite**

O azeite é classificado nas categorias seguintes, em função da mediana dos defeitos e da mediana do atributo “frutado”. Entende-se por “mediana dos defeitos” a mediana do defeito a que tenha sido atribuída a intensidade mais elevada. A mediana dos defeitos e a mediana do atributo “frutado” são expressas com uma casa decimal.

Classifica-se um azeite por comparação do valor da mediana dos defeitos e da mediana do atributo “frutado” com os intervalos de referência a seguir indicados. Dado que os limites dos intervalos foram estabelecidos tendo em conta o erro do método, são considerados absolutos. Os programas informáticos permitem visualizar a classificação num quadro de dados estatísticos ou num gráfico.

- a) Azeite virgem extra: mediana dos defeitos igual a 0 e mediana do atributo “frutado” superior a 0;
- b) Azeite virgem: mediana dos defeitos superior a 0, mas igual ou inferior a 3,5, e mediana do atributo “frutado” superior a 0;
- c) Azeite lampante: mediana dos defeitos superior a 3,5, ou mediana dos defeitos igual ou inferior a 3,5 e mediana do atributo “frutado” igual a 0.

Nota 1: Se a mediana do atributo “amargo” e/ou a mediana do atributo “picante” for superior a 5,0, o presidente do júri deve assinalá-lo no certificado de análise do azeite.

No caso de análises efetuadas no âmbito de verificações de conformidade, é realizado um exame. No caso de contra-análises, compete ao presidente do júri providenciar a realização das mesmas em duplicado, em duas sessões, calculando-se a mediana dos atributos com base nos dados constantes das folhas de perfil de ambos os exames.»

7) A figura 1 é substituída pela figura seguinte:

«Figura 1

FOLHA DE PERFIL DE AZEITES VIRGENS

Intensidade de perceção de defeitos

Tulha/Borra

Mofo/húmido/terra

Avinhado/avinagrado

Ácido/azedo

Azeitona queimada

(madeira húmida)

Ranço

Outros atributos negativos:

Metálico ☐ Feno ☐ Gafa ☐ Encorpado ☐

Descritor:

Salmoura ☐ Cozido ou queimado ☐ Água-ruça ☐

Esparto ☐ Pepino ☐ Lubrificantes ☐

Intensidade de perceção de atributos positivos

Frutado

Verde ☐

Maduro ☐

Amargo

Picante

Nome do provador:

Código do provador:

Código da amostra:

Data:

Assinatura:

Observações:»

ANEXO VI

O anexo XIX do Regulamento (CEE) n.º 2568/91 é alterado do seguinte modo:

1) O título passa a ter a seguinte redação:

«DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁLCOOIS ALIFÁTICOS E DE ÁLCOOIS TRITERPÉNICOS POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA EM COLUNA CAPILAR»

2) O ponto 1 passa a ter a seguinte redação:

«1. OBJETIVO

Este anexo descreve um método de determinação de teores de álcoois alifáticos e de álcoois triterpénicos de matérias gordas.»

3) O ponto 4.11 passa a ter a seguinte redação:

«4.11. Solução de referência para a cromatografia em camada fina: solução a 0,5 % de álcoois C20-C28 em clorofórmio ou a fração alcoólica obtida como descrito no ponto 5.2 a partir do insaponificável de um óleo de bagaço de azeitona.»

4) Os pontos 5.2.5 e 5.2.6 passam a ter a seguinte redação:

«5.2.5. Pulverizar a placa, ligeira e uniformemente, com a solução de 2', 7'-diclorofluoresceína e observar à luz ultravioleta. Identificar a banda dos álcoois alifáticos pelo alinhamento com a banda obtida com a solução de referência; com um lápis preto, delimitar o conjunto constituído pela banda dos álcoois alifáticos e pela banda imediatamente superior, correspondente aos álcoois terpénicos (nota 4).

Nota 4: A banda dos álcoois alifáticos e a banda dos álcoois terpénicos são agrupadas tendo em vista uma possível migração de alguns álcoois alifáticos para a banda dos álcoois terpénicos. A figura 1 do apêndice ilustra uma separação por cromatografia em camada fina.

5.2.6. Raspar com uma espátula metálica o sílica-gel da zona delimitada. Introduzir o material retirado, finamente triturado, no cadinho filtrante (3.7), juntar 10 ml de clorofórmio quente, misturar cuidadosamente com a espátula metálica e filtrar sob vazio; recolher o filtrado no *kitasato* (3.8) ligado ao cadinho filtrante.

Lavar o sílica-gel do cadinho filtrante, por três vezes, com éter etílico (cerca de 10 ml de cada vez) e recolher de novo o filtrado no *kitasato* adaptado ao cadinho. Evaporar o filtrado até obter um volume de 4 ml a 5 ml, transferir a solução residual para o tubo de 10 ml (3.9), previamente tarado, e levar à secura por aquecimento suave sob ligeira corrente de azoto; juntar algumas gotas de acetona, voltar a levar à secura e colocar durante cerca de 10 minutos na estufa, a 105 °C; deixar arrefecer em exsiccador e pesar.

O resíduo contido no tubo é constituído pela fração alcoólica.»

5) O ponto 5.4.4. passa a ter a seguinte redação:

«5.4.4. Identificação dos picos

A identificação de cada pico é efetuada com base nos tempos de retenção e por comparação com a mistura-padrão de TMSE de álcoois alifáticos, analisada nas mesmas condições.

As figuras 2 e 3 do apêndice mostram exemplos do cromatograma da fração alcoólica de um azeite refinado.»

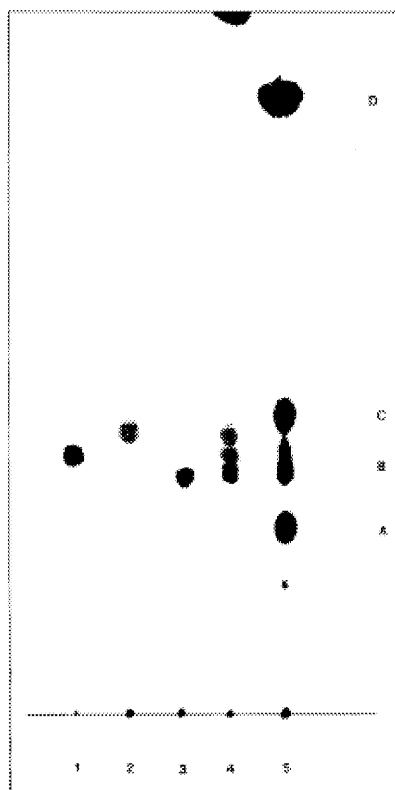
6) O apêndice é substituído pelo seguinte:

«Apêndice

Exemplo de separação por cromatografia em camada fina e exemplos de cromatogramas

Figura 1

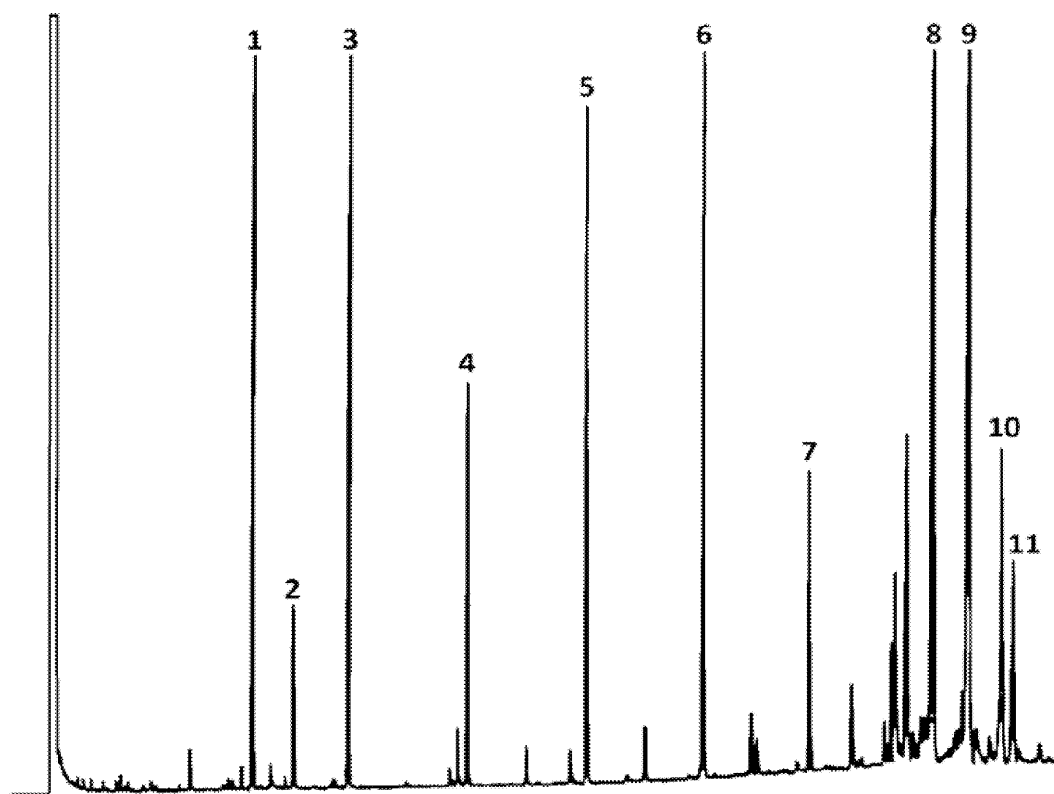
Placa de cromatografia em camada fina da fração insaponificável de um azeite eluída com uma mistura 65:35 de hexano e éter dietílico



- | | | | |
|---|--------------------------------------------------------------|---|-----------------------|
| 1 | Álcool C_{26} | A | Esteróis |
| 2 | Álcool C_{30} | B | Álcoois alifáticos |
| 3 | Álcool C_{20} | C | Álcoois triterpénicos |
| 4 | Mistura de álcoois C_{20} , C_{22} , C_{26} e C_{30} | D | Esqualeno |
| 5 | Fração insaponificável de azeite extra virgem | | |

Figura 2

Cromatograma da fração alcoólica de um azeite refinado



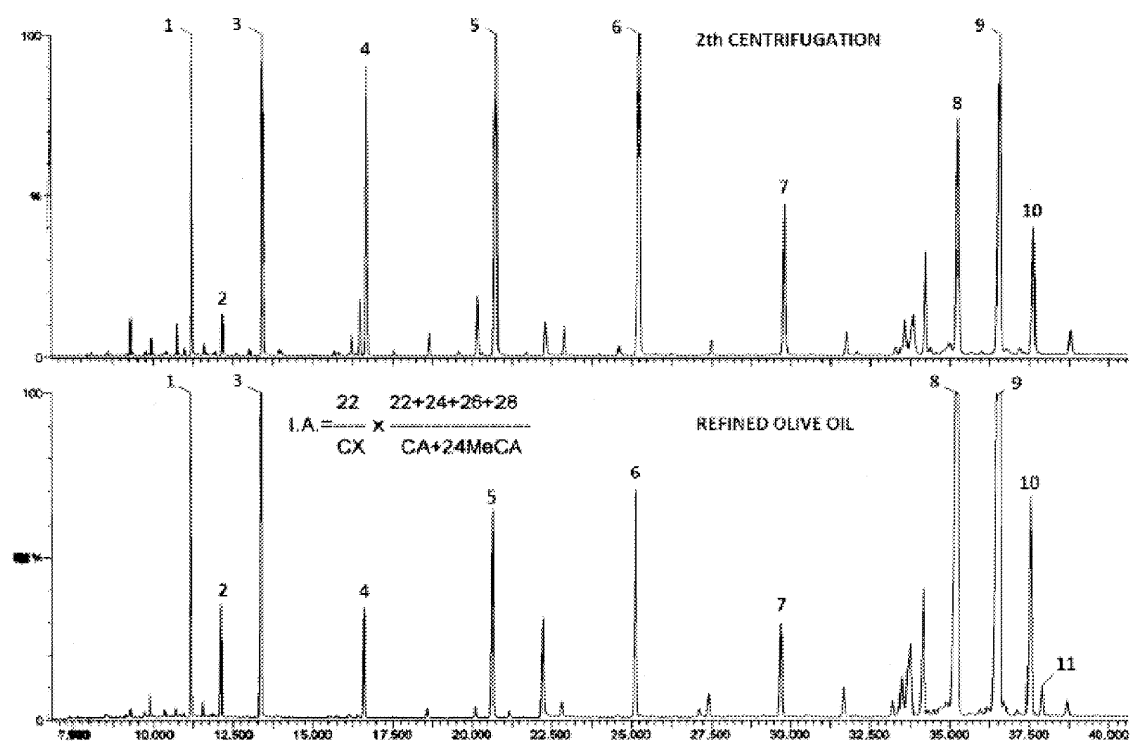
1 = Fitol
2 = Geranilgeraniol
3 = Álcool C₂₀ (IS)
4 = Álcool C₂₂

5 = Álcool C₂₄
6 = Álcool C₂₆
7 = Álcool C₂₈
8 = Cicloartenol

9 = 24-Metilenocicloartenol
10 = Citroestadienol
11 = Ciclobranol

Figura 3

Álcoois alifáticos e álcoois triterpénicos de um azeite refinado e de um azeite de segunda centrifugação



- | | | |
|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| 1 = Fitol | 5 = Álcool C ₂₄ | 9 = 24-Metilenocicloartenol (24MeCA) |
| 2 = Geranilgeraniol (CX) | 6 = Álcool C ₂₆ | 10 = Citroestadienol |
| 3 = Álcool C ₂₀ | 7 = Álcool C ₂₈ | 11 = Ciclobranol» |
| 4 = Álcool C ₂₂ | 8 = Cicloartenol (CA) | |