

Área: Ciência de Alimentos

TOCOFERÓIS EM DIFERENTES VARIEDADES DE OLIVA

Fabiana Lemos Goularte-Dutra*, **Vanessa Bauer-Pestana**, **Michele Maciel Crizel**, **Rui Carlos Zambiasi**

*Laboratório de Cromatografia, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial,
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas*

**E-mail: fgoularte@hotmail.com*

RESUMO

O fruto da oliveira (*Olea europaea* L.) desperta grande interesse porque, além de altamente valorizado devido às características sensoriais, esta fruta contém compostos bioativos que promovem benefícios à saúde devido ao alto teor de ácidos graxos monoinsaturados (ácido oléico) e antioxidantes naturais, tais como tocoferóis, compostos fenólicos e carotenóides. No entanto, a composição de oliva pode ser influenciada por fatores como cultivar, condições ambientais, estágio de maturação, entre outros. Pouco se sabe sobre a composição fitoquímica do azeite produzido na região sul do Brasil. Este estudo teve como objetivo analisar o conteúdo de tocoferol nas cv de oliva. arbosana, arbequina e Koroneiki. As amostras de azeitonas foram obtidas a partir de unidades experimentais da Embrapa Clima Temperado, localizada em Pelotas, RS. Análise de tocoferol foi realizada por HPLC usando coluna de fase reversa e detector de fluorescência com excitação de 290nm e 330nm de emissão. O conteúdo total de tocoferol das variedades arbequina, arbosana e koroneiki foi, respectivamente, 10,16, 15,96 e 16,37 mg/100g. Os maiores níveis de α -tocopherol (16,17 e 15,17 mg/100g) e γ -tocopherol (0,20 e 0,19 mg/100g) foram encontrados nas variedades koroneiki e arbosana, respectivamente. Esses índices foram superiores ($p < 0,05$) aos determinados na cultivar Arbequina. Não foi detectada δ -tocopherol. Concluiu-se que as diferentes variedades estudadas apresentam diferenças quanto a composição dos tocoferóis, mesmo entre as de mesma origem, e que o α -tocopherol apareceu como o principal componente.

Palavras-chave: Fitoquímicos. Antioxidante. Oliveira. Tocoferóis.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo da oliveira e a produção de azeite têm crescido nos últimos anos devido às propriedades saudáveis atribuídas ao consumo de azeite, e à sua crescente valorização como ingrediente em diversas preparações. O consumo mundial deste produto cresceu 15% nos

últimos 10 anos, enquanto que no Brasil, no mesmo período, aumentou 100%, estando o Brasil posicionado entre os 10 países de maior consumo no mundo (IOC, 2011).

Em função disso, o Brasil está investindo em pesquisas por meio da Embrapa e outros órgãos de pesquisa, e, apesar dos plantios das oliveiras serem novos e ainda não ter produção comercial, o cultivo da oliveira apresenta-se como nova alternativa para o campo, com geração de renda e milhares de empregos diretos e indiretos (EMBRAPA, 2009).

Dentre as variedades pesquisadas para extração do azeite, destacam-se as de origem espanhola Arbequina e Arbosana, as quais apresentam considerável resistência ao frio, elevada produtividade e bom rendimento graxo, porém o azeite da variedade arbequina apresenta baixa estabilidade. Outra variedade que apresenta potencial para produção é a Koroneiki, originária da Grécia, resistente à seca, mas susceptível ao frio, com produtividade alta e constante e conteúdo de azeite elevado, o qual é muito apreciado por suas características sensoriais, estabilidade e alto conteúdo de ácido oléico (CAPPELLARO et al., 2009).

O fruto fresco da oliveira apresenta em sua composição 40 a 45% de água, 10 a 20% de glicídios e em torno de 30% de lipídios (50% na polpa), sendo que a oliveira destinada para obtenção de azeite apresenta um alto rendimento de matéria graxa (Oliveira et al., 2003).

Além do seu alto conteúdo em gordura, contém substâncias bioativas, como os tocoferóis, que aliado a aos ácidos graxos monoinsaturado, apresentam propriedades benéficas à saúde humana, com efeitos cardioprotetores e anticancerígenos.

A qualidade do azeite possui uma relação direta com a qualidade das azeitonas, além disso, as condições de solo e do clima de cultivo também são fatores que influenciam a composição química e, conseqüentemente, na qualidade final do azeite (BRUNI, CORTESI et al., 1994; TEMIME et al., 2008).

Neste estudo pretendeu-se avaliar o conteúdo de tocoferóis em frutos de oliveiras oriundos de unidades experimentais, compostas por plantas das variedades arbequina, koroneiki e arbosana, conduzidas na Embrapa Clima Temperado, em Pelotas/RS.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

As olivas das cvs. Koroneiki, Arbequina e Arbosana foram obtidas de unidades experimentais (2 anos) da Embrapa Clima Temperado, localizada na cidade de Pelotas/RS. Foram colhidas cerca de 2,5 kg de olivas de cada variedade, colocadas em embalagens plásticas translúcidas e transportadas sob refrigeração ao Laboratório de Cromatografia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial/UFPel, onde foram armazenadas a temperatura de -18°C , até o momento das análises. As amostras apresentaram índice de maturação de 2,9; 3,0 e 1,5 (segundo Barranco et al.; 2004), e peso médio de 1,5; 2,0 e 3,0g, respectivamente. A análise foi realizada em triplicata.

Para a extração dos tocoferóis, foi utilizada a metodologia de Rodriguez-Amaya (1999), sendo o extrato transferido para tubos Eppendorf e centrifugado nas condições de 9.000 rpm por 6 minutos, utilizando-se o sobrenadante para a avaliação dos tocoferóis por cromatografia líquida, sendo o volume de injeção de $20\mu\text{L}$. Foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE (SHIMADZU), constituído bomba reodine DGU-14A, sistema de controle SCL-10AVP, forno da coluna CTO-10ASVP e amostrador automático SIL-10AF. A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa, Shim-Pak CLC-ODS (3,9 cm x 150 mm x 4 μm), tendo como fase estacionária grupamentos octadesil. Utilizou-se o detector de fluorescência com excitação de 290 nm e emissão a 330 nm. Os dados foram adquiridos e processados com uso do software Class-VP.

As condições cromatográficas para a análise dos tocoferóis foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Pestana et al. (2008), utilizando-se como fase móvel inicial acetonitrila:metanol:isopropanol nas proporção 50:40:10 (v/v/v) por 10 minutos. Utilizou-se fluxo constante de 1 mL min^{-1} . Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curva de calibração com os padrões de δ -tocoferol e γ -tocoferol, ambos adquiridos da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA), na pureza de 90% e 96%, respectivamente, e o α -tocoferol (de pureza 99%) adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha). Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O programa utilizado para a análise estatística foi o Statistix 8.0 (2003).

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação dos picos do delta (δ -), gama (γ -) e alfa (α -) tocoferóis foi realizada utilizando padrões nas mesmas condições cromatográficas. Nas condições deste estudo, o gama tocoferol elui juntamente com o beta (β -) tocoferol. Estes dados são suportados pela literatura (PESTANA et al., 2008), onde relatam que a utilização da coluna de fase reversa (RP-HPLC) não permite a separação dos isômeros γ e β - tocoferol.

Quanto as diferentes variedades, de acordo com os resultados da análise de variância para TT, α -tocopherol e $\gamma + \beta$ - tocoferol, houve diferença significativa para as variáveis testadas (Tabela 1). O α -tocopherol foi o principal tocoferol determinado nas amostras, apresentando conteúdo significativamente superior nas variedades de diferentes origens, Koroneiki (16,17 mg/g) e Arbosana (15,17mg/g), quando comparado a Arbequina (10,06 mg/g).

Tabela 1 – Tocoferóis em olivas cultivadas na região sul do RS

Variedades	TOCOFEROL (mg/100g)			
	δ	α	$\gamma + \beta$	TOTAL
Koroneiki	nd	16,17 \pm 0,82 a	0,20 \pm 0,01 a	16,37 a
Arbequina	nd	10,06 \pm 1,96 b	0,10 \pm 0,0 b	10,16 b
Arbosana	nd	15,17 \pm 1,72 a	0,19 \pm 0,01 a	15,96 a

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade.

O conteúdo médio do α -Tocoferol e o $\gamma + \beta$ - Tocoferol determinado nos frutos das variedades de oliveira foram, respectivamente de 130,80 μ g/g e de 1,63 μ g/g, estando dentro da faixa de variação dos dados relatados pela literatura. Não foi identificado o isômero δ - tocoferol nas amostras analisadas.

Os teores de α -tocopherol e o $\gamma + \beta$ - tocoferol apresentam-se dentro da faixa encontrada para a cultivar Frantoio, de origem italiana, produzida em duas regiões de Espanha, apresentando valores de 148 μ g/g e 275 μ g/g (α -tocopherol), 2 μ g/g e 2,8 μ g/g (β -tocopherol) e

de 0,75 e 8 (γ -tocoferol) para as regiões de Jaen e Cordoba, respectivamente (AGUILERA et al., 2005).

Teores menores do que neste trabalho foi relatado por Sakouhi et al. (2008), que encontraram diferenças significativas no conteúdo de α -Tocoferol, em olivas das variedades Meski, Sayali e Picholine, cultivadas na mesma área, respectivamente de 36-77 mg / kg, de 42 a 130 mg / kg e de 75 a 116 mg / kg, os quais aumentaram durante a maturação. Segundo os autores, esta diferença ocorreu, provavelmente relacionada com o genótipo e comportamento metabólico de cada cultivar.

Observou-se que além da variedade, o índice de maturação e a localização geográfica pode contribuir na oscilação nos teores dos tocoferóis presentes nos frutos das oliveiras (AGUILERA et al., 2005; SAKOUHI et al., 2008) .

3 CONCLUSÃO

A oliva contém alto teor do isômero α -tocoferol, constituindo-se em fonte de tocoferóis. As amostras dos frutos de oliveira das variedades koroneiki e arbosana, de origem grega e espanhola, respectivamente, apresentaram os maiores teores de tocoferóis, quando comparados aos encontrados nas amostras da variedade espanhola arbequina, demonstrando que o local de cultivo e a variedade podem influenciar no conteúdo deste fitoquímico.

REFERÊNCIAS

AGUILERA, M.P., BELTRAN, G., ORTEGA, D., FERNANDEZ, A., JIMENEZ, A., Uceda, M., Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia, *Food Chem.*, 89, 387 (2005).

BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. El cultivo del olivo. 5ª edição, revisada e ampliada. Junta de Andalucía: Consejería de Agricultura y Pesca. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, Barcelona, México, 2004. 800p. (p.85)

BRUNI, U.; CORTESI, N.; FIORINO, P. Influence of agricultural techniques, cultivation and origin area on characteristics of virgin olive oil and on levels of some of its minor components. *Olivae*, v. 53, p. 28–34, 1994.

CAPPELLARO, T.H.; COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; ARAÚJO, F. A.; ROSA DE FARIA, M. A. Cultivares. In.: Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.). Coutinho, E. F.; Ribeiro, F. C.; Cappellaro, T. H. (Ed.). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 125 p.

EMBRAPA, 2009. Brasil tem o primeiro azeite de oliva. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/imprensa/noticias/250309.php><http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2010/abril/4a-semana/brasil-tem-o-primeiro-azeite-de-oliva-extravirgem/>. Acesso em: 25 Jun. 2010.

IOC. International Olive Council. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>. Acesso em 01 março 2011.

OLIVEIRA, A. F. et al. Enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira sob diferentes épocas, substratos e concentrações de ácido indolbutírico. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 27, n. 1, p. 117-125, 2003.

PESTANA, V. R., ZAMBIAZI, R. C., MENDONÇA, C. R., BRUSCATTO, M. H., LERMARGARCIA, M. J.; RAMIS-RAMOS, G. Quality changes and tocopherols and γ -orizanol concentrations. *Journal of American Oil Chemists' Society*, v. 85, p. 1013–1019, 2008.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. A guide to carotenoid analysis in foods. Washington: ILST Press. 1999. 64p.

SAKOUHI, F. et al. α -Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives (*Olea europea* L.): Changes in their composition during ripening and processing. *Food Chemistry*. v. 108, p. 833–839, 2008.

Statistix®; Statistix for Windows: Analytical Software; Tallahassee, Estados Unidos, 2003.

TEMIME, S.B.; MANAI, H.; METHENNI, K.; BACCOURI, B.; ABAZA, L.; DAOUD, D.; CASAS, J.S.; BUENO, E.O.; ZARROUK, M. Sterolic composition of Che'toui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chemistry*, v. 110, p. 368–374, 2008.