

## Área: Ciência dos Alimentos

# COMPOSTOS BIOATIVOS EM AZEITES DE OLIVA PRODUZIDOS EM DOM PEDRITO/RIO GRANDE DO SUL/BRASIL

**Fabiana Lemos Goularte-Dutra<sup>1\*</sup>, Michele Maciel Crizel-Cardoso<sup>1</sup>, Enilton Fick  
Coutinho<sup>2</sup>, Rui Carlos Zambiasi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Cromatografia, Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS

<sup>2</sup>Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS

<sup>3</sup>Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

\*E-mail: fgoularte@hotmail.com

**RESUMO** – O azeite de oliva apresenta alto teor de tocoferóis e compostos fenólicos, os quais apresentam reconhecida atividade antioxidante, contribuindo tanto para propriedades benéficas à saúde humana quanto para a estabilidade oxidativa. O Brasil é o décimo colocado em consumo mundial de azeite, com 68 mil toneladas ano (safra 2011/12) e sua área plantada está em expansão, sendo que algumas cultivares de oliveira estão sendo avaliadas agronomicamente visando plantio na região Sul do Brasil para produção de azeite de oliva. A composição do azeite de oliva varia em função de diversos fatores, dentre eles devido às condições agrônomicas e climáticas e à cultivar. O objetivo do trabalho foi avaliar o conteúdo de compostos fenólicos totais e tocoferóis individuais dos azeites de oliva monovarietais produzidos no município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul/Brasil. Azeites monovarietais foram obtidos de oliveiras das cultivares Grapollo e Manzanilla (safra 2010/2011) cultivadas em Dom Pedrito. Os compostos fenólicos totais foram quantificados por meio de reação colorimétrica e os tocoferóis individuais por cromatografia líquida de alta eficiência. O teor dos compostos fenólicos foi de  $157,07 \pm 6,86$  e  $72,27 \pm 0,15$  mg kg<sup>-1</sup>, para as cultivares Grapollo e Manzanilla, respectivamente. Já o  $\alpha$ -tocoferol, para as mesmas cultivares foi respectivamente de  $413,40 \pm 0,80$  e  $305,07 \pm 12,15$  mg kg<sup>-1</sup>. O  $\delta$ -tocoferol não foi detectado nas amostras de azeite de oliva analisadas. O azeite de oliva da cultivar Grapollo apresentou maiores teores de compostos fenólicos totais e tocoferóis individuais.

**Palavras-chave:** antioxidante, compostos fenólicos, tocoferóis.

## 1 INTRODUÇÃO

O azeite de oliva tem despertado interesse da comunidade científica por apresentar alto teor de tocoferóis e compostos fenólicos, os quais apresentam reconhecida atividade antioxidante, contribuindo tanto para as propriedades benéficas à saúde humana, como redução de risco de doenças cardiovasculares (RUIZ-

CANELA; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, 2011), quanto para a estabilidade oxidativa do óleo (BACCOURI et al., 2008).

A produção mundial de azeite de oliva cresceu 25% nos últimos cinco anos em função da expansão dos locais de cultivo de oliveira, obtendo-se um total de 3.408,5 milhões de toneladas na safra 2011/12. A Espanha é a principal produtora, seguida da Itália e Grécia. Na América do Sul, os maiores produtores são a Argentina e o Chile, obtendo na última safra cerca de 32 e 21,5 mil toneladas, respectivamente (IOOC, 2013).

Os países que apresentam o maior consumo de azeite de oliva são a Itália (734,5 mil toneladas), a Espanha (582,0 mil toneladas) e os Estados Unidos (294,0 mil toneladas). O Brasil aparece na décima colocação, com um consumo de 68 mil toneladas ano (safra 2011/12), o qual foi triplicado nos últimos 10 anos.

A oliveira possui inúmeras cultivares, as quais muitas vezes são compostas de plantas morfologicamente similares, mas com caracteres genéticos diferentes (VILLA, 2007), ou seja, cada cultivar possui características específicas, produzindo azeites de oliva com características e composição típicas que conferem um sabor único (MATOS et al, 2007; QUEST-RITSON, 2011). Dentre as inúmeras cultivares de oliveira existente, algumas estão sendo avaliadas agronomicamente visando plantio na região Sul do Brasil para produção de azeitona de mesa e azeite de oliva, como a Manzanilla e Grapollo.

A composição do azeite de oliva pode variar devido às condições agronômicas e climáticas, à cultivar, à qualidade do fruto, ao sistema de extração e aos processos de refino (CERT; MOREDA; PÉREZ-CAMINO, 2000).

Considerando o exposto acima, objetivou-se avaliar o conteúdo de compostos fenólicos totais e tocoferóis individuais dos azeites de oliva monovarietais produzidos no município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul/Brasil.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Azeites monovarietais foram obtidos de oliveiras das cultivares Grapollo e Manzanilla conduzidas em sistema de vaso policônico. (safra 2010/2011) cultivadas em Dom Pedrito, Rio Grande do Sul (Brasil), município localizado próximo a fronteira com o Uruguai (Latitude: -31° 19' 53" S, Longitude: -54° 06' 25" O; altitude média de 212 m; precipitação média na safra de 95,4 mm; temperatura média na safra de 19,52 °C; UR média de 77,0 %; solo classe Luvissoleo Hipocrômico Órtico). As plantas estavam com 7 anos, os frutos foram coletados dia 15/03/2011 e o índice de maturação calculado, conforme Beltran et al. (2004), foi de 3,0 e 3,3 para Grapollo e Manzanilla, respectivamente.

Os frutos (40 kg de cada cultivar) foram colhidos manualmente e transportados até o município de Cachoeira do Sul, onde foram submetidos ao processamento ainda no mesmo dia da colheita. Para a obtenção dos azeites, as folhas e os frutos que apresentavam sintomas de doenças ou lesões foram separados, as azeitonas lavadas em água corrente e a extração realizada em moinho "Spremoliva 10", baseada num princípio de extração a frio por duas fases. Após a extração, cerca de 500 mL de azeite, por cultivar, foram filtrados para eliminar as sedimentações (impurezas) e armazenados a -80 °C.

Compostos fenólicos: A extração da fração fenólica foi realizada conforme metodologia descrita por Baccouri et al (2008). O extrato foi re-suspenso em 5 mL de metanol e a reação colorimétrica para a determinação do teor total de compostos fenólicos foi por meio da adição do reagente Folin-Ciocalteu em 1 mL do extrato. A leitura da absorbância da amostra foi realizada em espectrofotômetro (Ultrospec 2000) a 765 nm. Para a quantificação, procedeu-se a elaboração da curva padrão de ácido gálico sendo os resultados expressos em mg de ácido gálico  $\text{kg}^{-1}$  azeite (VÁZQUEZ RONCERO; JANER DEL VALLE; JANER DEL VALLE, 1973).

Tocoferóis: A composição dos tocoferóis foi avaliada seguindo o metodologia descrita por Pestana et al. (2008). Avolumou-se 0,15 g de azeite de oliva a 5 mL com isopropanol. O extrato foi centrifugado a 9.000 rpm por 6 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a avaliação dos tocoferóis por cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE (SHIMADZU). A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa (Phenomenex®), Synergi Fusion RP-80A (4,6 cm x 150 mm x 4  $\mu\text{m}$ ), com volume de injeção de 10  $\mu\text{L}$ . 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. Foi utilizado como fase móvel inicial acetoneitrila:metanol:isopropanol nas proporções 50:40:10 (v/v/v) por 10 minutos; alterando-se linearmente para acetoneitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v) até atingir 12 minutos; e retornando linearmente para a fase móvel inicial até 15 minutos de análise. Utilizou-se fluxo constante de 1  $\text{mL min}^{-1}$ . Para realizar a identificação e quantificação dos tocoferóis, utilizou-se curva de calibração com os padrões de  $\delta$ ,  $\gamma$  e  $\alpha$ -tocoferóis. Os resultados foram expressos em  $\text{mg kg}^{-1}$  de amostra.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. O programa utilizado para análise estatística foi o Statistix versão 8.0 (2003). As análises foram feitas em triplicata.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os tocoferóis, o  $\alpha$ -tocoferol foi o composto majoritário, representando em média 97,98% dos tocoferóis e sua quantidade diferiu significativamente entre as cultivares ( $p < 0,05$ ), sendo superior no azeite da cv. Grapollo ( $413,40 \pm 0,80 \text{ mg kg}^{-1}$ ), Tabela 1. Esses resultados estão de acordo com os valores relatados por Manai-Djebali et al. (2012), que obtiveram variações de 139 a 402  $\text{mg kg}^{-1}$  em cinco cultivares de azeite de oliva oriundos da Tunísia, sugerindo que o conteúdo de tocoferol é dependente da cultivar. Segundo Beltran et al. (2010), as variações no conteúdo dos tocoferóis ocorrem principalmente em função da resposta de cada cultivar às alterações nas condições ambientais em cada safra.

Estudos com o  $\alpha$ -tocoferol relatam que este composto possui ação vitamínica e protege o organismo humano contra ataque de radicais livres, aumentando a resistência celular ao “stress” oxidativo (BALDIOLI et al., 1996).

Não foi detectado o  $\delta$ -tocoferol nas amostras de azeite de oliva (Tabela 1), estando de acordo como reportado pela literatura (PARCERISA et al., 2000; CHEN et al., 2011). O teor de ( $\gamma + \beta$ )-tocoferol foi superior no azeite de oliva da cv. Grapollo, sendo os conteúdos inferiores aos relatados por Chen et al. (2011) que encontraram entre 6 e 21  $\text{mg kg}^{-1}$  em diferentes amostras de azeite de oliva extra-virgem.

Tabela 1. Conteúdo (mg kg<sup>-1</sup>) de compostos bioativos nos azeites de oliva monovarietais produzidos em Dom Pedrito/ RS/ Brasil (safra 2010/11)

Variáveis	CULTIVARES	
	Grapollo	Manzanilla
Compostos Fenólicos Totais*	156,07±6,86a	72,27±0,15b
Tocoferóis Totais	424,24±1,15a	312,37±12,31b
α-Tocoferol	413,40±0,80a	305,07±12,15b
γ+β-Tocoferol	10,84±0,35a	7,30±0,16b
δ-Tocoferol	nd	Nd

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey (p<0,05). \*Compostos Fenólicos Totais (expresso em ácido gálico);

Comportamento similar ao conteúdo total de tocoferóis foi observado em relação ao de compostos fenólicos, o que já era esperado, visto que ambos fitoquímicos são dependentes da cultivar (ALLALOUT et al., 2009). Maior teor de compostos fenólicos (156,07 ± 6,86 mg kg<sup>-1</sup>) foi observado no azeite de oliva da cv. Grapollo (Tabela 1).

Os resultados obtidos são corroborados por Allalout et al. (2009) e Tura et al. (2007), que também observaram a variação dos teores de compostos fenólicos em função da cultivar. Esses antioxidantes auxiliam na estabilidade oxidativa do azeite de oliva, contribuindo para o aumento da vida de prateleira.

#### 4 CONCLUSÃO

O azeite de oliva da cultivar Grapollo apresentou maiores teores de compostos fenólicos totais e tocoferóis individuais. Os plantios das oliveiras estão em fase inicial, devendo-se assim, realizar avaliações das características físico-químicas dos azeites em demais safras para se obter resultados mais contundentes.

#### 5 REFERÊNCIAS

- ALLALOUT, A.; KRICHÈNE, D.; METHENNI, K.; TAAMALLI, A.; OUESLATI, I.; DAOUD, D.; ZARROUK, M. Characterization of virgin olive oil from Super Intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. **Scientia Horticulturae**, v. 120, p. 77–83, 2009.
- BACCOURI, O.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; DAOUD MILED, D.D.B. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 109, p. 743-754, 2008.
- BALDIOLI, M.; SERVILI, M.; PERRETTI, G.; MONTEDORO, G. F. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 73, p. 1589-1593, 1996.

- BELTRAN, G.; UCEDA, M.; HERMOSO, M.; FRIAS, L. (2004). **Maduración**. In: BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. (EdS.). El cultivo del olivo. (pp.159 -184). Córdoba: Mundi-prensa.
- BELTRÁN, G.; AGUILERA, M. P.; DEL RIO, C.; SANCHES, S.; MARTINES, L. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 633-639, 2010.
- CERT, A.; MOREDA, W.; PÉREZ-CAMINO, M. C. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils (Review). **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 881, p. 131-148, 2000.
- CHEN, H.; ANGIULI, M.; FERRARI, C.; TOMBARI, E.; SALVETTI, G.; BRAMANTI, E. Tocopherol speciation as first screening for the assessment of extra virgin olive oil quality by reversed-phase high-performance liquid chromatography/fluorescence detector. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1423-1429, 2011.
- IOOC. International Olive Oil Council. World Olive Oil Figures. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>>. Acesso em: 18 fev. 2013.
- MANAI-DJEBALI, H.; KRICHÉNE, D.; OUNI, Y.; GALLARDO, L.; SÁNCHEZ, J.; OSORIO, E.; DAOUD, D.; GUIDO, F.; ZARROUK, M. Chemical profiles of five minor olive oil varieties grown in central Tunisia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 27, p. 109-119, 2012.
- MATOS, L. C.; CUNHA, S. C.; AMARAL, J. S.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, B. P. P. Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. **Food Chemistry**, v. 102, p. 406-414, 2007.
- QUEST-RITSON, C. **Guia ilustrado Zahar: Azeite**. Tradução: Maria Slade Oliveira. Rio de Janeiro: Zahar, 2011. 288p.
- PARCERISA, J.; CASALS, I.; BOATELLA, J.; CODONY, R.; RAFECAS, M. Analysis of olive and hazelnut oil mixtures by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry of triacylglycerols and gas-liquid chromatography of non-saponifiable compounds (tocopherols and sterols). **Journal of Chromatography A**, v. 881, n. 1-2, p. 149-158, 2000.
- PESTANA, V. R.; ZAMBIAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B.; BRUSCATTO, M. H. Quality changes and tocopherols and  $\gamma$ -orizanol concentrations. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 85, p. 1013-1019, 2008.
- RUIZ-CANELA, M. R.; MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, M. A. (2011). Olive oil in the primary prevention of cardiovascular disease. **Maturitas**, v. 68, p. 245-250.
- STATISTIX. (2003). **Statistix for Windows**: Analytical Software, Tallahassee, EUA.
- TURA, D.; GIGLIOTTI, C.; PEDO, S.; FAILLA, O.; BASSI, D.; SERRAIOCCO, A. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea Europea L.*) and correlations with oxidative stability. **Scientia Horticulturae**, v. 12, p. 108-119, 2007.
- VÁZQUEZ-RONCERO, A.; JANER DEL VALLE, C.; JANER DEL VALLE, M. L. Determinación de los polifenoles totales del aceite de oliva. **Grasas y aceites**, v. 24, n. 6, p. 350-357, 1973.
- VILLA, P. **El cultivo del olivo**. Barcelona: De Vecchi, 2007, 143p.