

Área: Ciência de Alimentos

PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E ÍNDICES DE DEGRADAÇÃO LIPÍDICA DE AZEITES EXTRA VIRGEM MONOVARIETAIS PRODUZIDOS NO SUL DO RS

**Rosane Lopes Crizel*; Eliane Lemke Figueiredo; Giovana Paula Zandoná; Paula
Mendonça Shild; Rogério Oliveira Jorge; Fábio Clasen Chaves**

*Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial,
Faculdade de Agronomia 'Eliseu Maciel', Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS*

**E-mail: rosanecrizel1@hotmail.com*

RESUMO – Azeites de oliva têm despertado interesse de consumo devido à sua composição de ácidos graxos e pelo seu elevado conteúdo de compostos bioativos. O objetivo deste estudo foi determinar a acidez, índice de peróxido, coeficiente de extinção e perfil de ácidos graxos em azeites de oliva extra virgem monovarietais produzidos no sul do Rio Grande do Sul. Os azeites foram classificados como extra virgem de acordo com os resultados de acidez, índice de peróxidos e coeficiente de extinção. O perfil de ácidos graxos ficou dentro dos parâmetros de identidade e qualidade de azeites de oliva, sendo o ácido oleico (C18:1) o principal ácido graxo encontrado, seguido por ácido palmítico, ácido linoleico, ácido esteárico e ácido palmitoleico. A cultivar Picual apresentou o maior índice de ácido oleico e de ácido esteárico enquanto que a cultivar Frantoio apresentou o maior teor de ácido palmítico, ácido linoleico e de ácido palmitoleico.

Palavras-chave: azeite; acidez; índice de peróxidos; coeficiente de extinção; ácido oleico.

1 INTRODUÇÃO

Os óleos são comumente encontrados na natureza como triacilgliceróis, os quais são formados pela ligação dos três grupos hidróxi do glicerol a três ácidos graxos (AGs), através da esterificação. Os índices de qualidade dos óleos durante a produção e armazenamento são determinados principalmente com base em seus conteúdos de AGs livres. Além disso, a análise da composição de AGs é utilizada para otimizar o processo de refino de óleos, sua autenticidade, degradação, e ainda para detectar adulterações de azeite com outros óleos. Assim, perfil de composição de AGs no óleo está diretamente correlacionado com a qualidade e a autenticidade dos óleos (BALLUS, et al., 2014).

O azeite de oliva é apreciado por seu sabor, aroma e propriedades nutricionais. Sua composição é caracterizada por uma fração lipídica saponificável, que constitui mais de 98% do conteúdo total de lipídeos, onde se encontram majoritariamente ácidos graxos monoinsaturados, sendo o ácido oleico o principal, além de ácidos graxos poliinsaturados. Entre os componentes minoritários, mas que desempenham papel importante no sabor e na estabilidade oxidativa do azeite encontram-se os compostos fenólicos, tocoferóis, fitosteróis

(principalmente β -sitosterol) e pigmentos (clorofilas e carotenoides) (BRUSCATTO et al., 2017; BALLUS, et al., 2014).

Índice de acidez, peróxidos e coeficiente de extinção também são parâmetros importantes que estão diretamente relacionados com a composição de ácidos graxos do azeite e podem ser influenciados por fatores como maturação, estocagem, ação enzimática, qualidade da azeitona, sistema de obtenção do azeite, grau de refinação e pureza, desta forma suas determinações são importantes (DA SILVA et al., 2012). A acidez dos azeites é proveniente de danos que ocorrem nos tecidos, os quais facilitam a ação das lipases que degradam os triacilgliceróis, liberando ácidos graxos. O índice de peróxido reflete o seu estado oxidativo, é formado pela reação dos ácidos graxos insaturados com o oxigênio atmosférico. O coeficiente de extinção indica se o produto é proveniente de matéria-prima de boa qualidade e se as condições de processamento foram adequadas, visto que são verificados nesta análise compostos carbonílicos (estágio secundário da oxidação) e trienos conjugados (formados no processo de refino) (AUED-PIMENTEL et al., 2008)

Majoritariamente os azeites (de oliva) consumidos no Brasil são importados de países europeus (Portugal, Espanha, Itália e Grécia) e sul-americanos (Argentina e Chile), logo seu preço de venda é alto e boa parte da população não tem acesso. No entanto, o Brasil está iniciando o cultivo de oliveiras para produzir azeites e oferecer um produto com preços mais acessíveis ao consumidor (BALLUS, et al., 2014). Entretanto, as condições ambientais e de cultivo, como a zona de produção, latitude, diferentes cultivares, condições climáticas dos pomares e práticas agrícolas variadas, estágio de maturação de azeitonas e extração de azeite podem ter efeito na composição do azeites, resultando em diversidade de perfis lipídicos (JORGE, 2010). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar acidez, índice de peróxido, coeficiente de extinção e composição de ácidos graxos em azeites de oliva extra virgem monovarietais produzidos no sul do Rio Grande do Sul.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LaCEM) da Universidade Federal de Pelotas, localizado no município de Capão do Leão, no Rio Grande do Sul, Brasil. A amostra consistiu em azeites de oliva monovarietais das variedades Frantoio, Koroneike e Picual da safra de 2017, cultivadas no município de Pinheiro Machado, RS (coordenadas geográficas: 31° 34' 42" S e 53° 22' 52" W: 439 m de altitude). A extração dos azeites foi realizada no laboratório de azeites da Embrapa Clima Temperado, utilizando o sistema Abencor, através da ruptura e centrifugação dos frutos, constituído de um moinho MM-100, um termobater TB 100 e uma centrífuga CF-100 (MC2, Ingenieria y Systemas, Sevilha, Espanha) com posterior decantação e filtração. As amostras foram embaladas em frascos âmbar e transportados até a UFPel onde foram mantidas congeladas a -80 ° C em ultra freezer até o momento da análise.

Para avaliar o teor de acidez, dissolveu-se o azeite em solução de éter etílico:álcool etílico (2:1, v/v) na proporção de azeite:solvente de 1:10 (p/v), adicionou-se fenolftaleína e titulou-se com solução de KOH (0,1 N), segundo metodologia da AOCS (1992). Os resultados foram expressos em % de ácido oleico.

Para determinação do índice de peróxidos, cinco gramas de amostra foram dissolvidas em 30 mL de solução ácido acético:clorofórmio (3:2, v/v), agitou-se a mistura e adicionou-se 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio e o frasco foi mantido no escuro por um minuto. Em seguida adicionou-se 30 mL de água destilada e 0,5 mL de solução de amido (1%), e titulou-se com tiosulfato de sódio (0,1 N) até a perda da

coloração azulada, segundo metodologia da AOCS (1992). Os resultados foram expressos em meq. O₂. kg⁻¹ amostra.

Para a determinação do coeficiente de extinção foram medidas em espectrofotômetro a absorção específica a 232 nm e a 270 nm de uma amostra de 25 mg de azeite, dissolvida em 25 mL de hexano. A extinção específica $K^{1\%}_{1cm}$, refere-se à absorção de uma solução a 1% do óleo no solvente, numa espessura de 1 cm e é convencionalmente indicada por K, de acordo com método COI/T.20/Doc. N°19 (COI, 2010a).

A composição de ácidos graxos das amostras de azeites de oliva virgem foi determinada cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), seguindo o método descrito pelo COI (2015). Para a reação de trans-esterificação, 0,1 gramas de amostra, 2 mL de hexano e 0,2 mL de hidróxido de potássio metanólico (2M) foram misturados sob agitação vigorosa por 30 s. A camada superior contendo ésteres metílicos foi coletada e injetada no cromatógrafo. Utilizou-se um GC-MS Shimadzu QP2010 Ultra com autoinjeter AOC-20i e biblioteca de espectro de massas NIST 2011. Injetou-se 1µL de amostra com temperatura do injetor a 200°C, no modo splitless. Utilizou-se hélio como gás carreador com fluxo de 1.78 mL min⁻¹ e velocidade linear como modo de controle de fluxo. A coluna capilar utilizada foi Rxi-1MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). O gradiente de temperatura foi mantido a 78 ° C durante 6,5 min, aumentado a uma taxa de 60 °C min⁻¹ até 180 ° C durante 13,44 min, depois aumentou a uma taxa de 35 °C min⁻¹ até 280 por 5,5 min. As temperaturas da fonte de íons e da interface foram ajustadas em 200°C, e a faixa de varredura de massas foi de *m/z* 35 a 500 e 0,3 escaneamentos por segundo. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões de referência, e os resultados foram expressos como percentagem relativa de ácidos graxos.

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando software Statistic versão 8.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os azeites de oliva estudados encontram-se dentro dos limites de acidez, índice de peróxidos e coeficiente de extinção (Tabela 1) preconizados pela legislação e, assim, podem ser classificados como extra virgem. Esses parâmetros determinam a qualidade e são utilizados como critério de classificação dos azeites, revelando o seu estado de conservação e as modificações induzidas pelos processos tecnológicos.

Tabela 1: Acidez, índice de peróxidos e coeficiente de extinção de azeites monovarietais produzidos no Sul do Rio Grande do Sul

	Frantoio	Koroneiki	Picual
Acidez ¹	0,1±0,01 ^a	0,1±0,0 ^b	0,07±0,01 ^c
Índice de Peróxidos ²	7,9±0,04 ^a	5,2±0,01 ^b	4,2±0,02 ^c
Extinção 232	1,5±0,02 ^b	1,5±0,01 ^a	1,3±0,01 ^c
Extinção 270	0,09±0,007 ^c	0,14±0,004 ^a	0,11±0,05 ^b
Extinção ΔK	0,002±0,0 ^c	0,004±0,0 ^b	0,005±0,0 ^a

Resultados expressos em média ± desvio padrão. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ¹% de ácido oleico; ² meq O₂ Kg⁻¹ amostra.

Elevado teor de acidez indica que o óleo ou gordura passou por quebras dos triglicerídeos, liberando ácidos graxos, e avalia o estado de rancidez hidrolítica. De acordo com a Legislação brasileira vigente o azeite de oliva para ser considerado virgem extra deve possuir, no máximo, 0,8g/100g de acidez expressa em ácido oleico (BRASIL, 2012).

O índice de peróxidos é uma das medidas mais diretas da fase inicial de oxidação dos lipídios, indicando a formação de hidroperóxidos, produtos primários que se formam seja por via enzimática por ação de lipoxigenases ou por oxidação não-enzimática promovida por condições favoráveis de luminosidade, temperatura e oxigênio (JORGE, 2010). O limite de tolerância para azeite virgem extra é de 20 meq O₂/Kg.

As absorções (extinção específica) determinadas nos comprimentos de onda de 232 e 270 nm, devem-se a presença de dienos e trienos conjugados, que são produtos secundários do processo de oxidação que ocorre em ácidos graxos insaturados. Os valores destas absorções são expressos na extinção específica E1cm 1% (extinção de uma solução de óleo a 1% em solvente, em uma espessura de 1 cm) que se expressa convencionalmente como K, também denominado coeficiente de extinção (JORGE, 2010). O limite de tolerância para a categoria virgem extra com relação a absorção a 232 nm é de no máximo 2,50, e para a absorção a 270 nm, é de 0,22.

Os ácidos graxos presentes nos azeites de oliva apresentaram-se todos dentro dos parâmetros de identidade e qualidade de azeites estabelecidos pela Legislação brasileira vigente e pelo Conselho Oleícola Internacional (BRASIL, 2012; COI, 2012b) (Tabela 2).

Tabela 2: Composição de ácidos graxos de azeites de oliva extra virgem monovarietais produzidos no Sul do Rio Grande do Sul

Ácidos graxos (% de área relativa)	Variedades			
	Frantoio	Koroneike	Picual	Legislação
Ácido mirístico C14:0	0,01±0,00 ^{ns}	0,01±0,00 ^{ns}	0,01±0,00 ^{ns}	0,05
Ácido palmítico C16:0	15,6±0,30 ^a	13,8±0,30 ^b	14,1±0,20 ^b	7,5-20,0
Ácido palmitoleico C16:1	1,4±0,03 ^a	1,1±0,04 ^c	1,0±0,01 ^b	0,3-3,5
Ácido heptadecanoico C17:0	0,03±0,00 ^{ns}	0,03±0,01 ^{ns}	0,03±0,00 ^{ns}	<0,3
Ácido 10-heptadecenoico C17:1	0,07±0,00 ^{ns}	0,07±0,01 ^{ns}	0,06±0,00 ^{ns}	<0,6
Ácido esteárico C18:0	1,8±0,03 ^c	2,3±0,04 ^b	2,5±0,00 ^a	0,5-5,0
Ácido oleico C18:1	73,7±0,30 ^c	78,5±0,40 ^b	80,0±0,10 ^a	55,0-83,0
Ácido linoleico C18:2	6,4±0,06 ^a	2,7±0,10 ^b	1,1±0,04 ^c	3,5-21,0
Ácido α-linolenico C18:3	0,3±0,06 ^b	0,5±0,08 ^a	0,5±0,01 ^a	0,9
Ácido araquídico C20:0	0,31±0,01 ^c	0,44±0,01 ^a	0,35±0,01 ^b	0,6
Ácido eicosenóico C20:1	0,34±0,02 ^a	0,30±0,00 ^b	0,25±0,01 ^c	0,4
Ácido behênico C22:0	0,07±0,01 ^b	0,14±0,01 ^a	0,08±0,00 ^b	0,2
Ácido lignocerático C24:0	0,03±0,00 ^b	0,06±0,01 ^a	0,04±0,00 ^b	0,2
Total insaturado	83,2 ±0,30 ^a	79,6±0,07 ^c	82,2±0,30 ^b	-
Total saturado	16,8±0,30 ^b	20,4±0,07 ^a	17,8±0,30 ^c	-

Resultados expressos em média ± desvio padrão. ns: não diferiu estatisticamente. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O ácido oleico (C18:1) foi o principal ácido graxo encontrado nos azeites das três cultivares estudadas, variando de 73,7% (Frantoio) a 80% (Picual), seguido por ácido palmítico (13,8- 15,6%), ácido linoleico (1,1 – 6,4%), ácido esteárico (1,8 -2,5%) e ácido palmitoleico (1,0 -1,4%). Todos os outros ácidos graxos foram encontrados em uma proporção relativa menor que 1%.

A cultivar Picual apresentou o maior índice de ácido oleico (ω 9) (80%) e de ácido esteárico (2,5%). A cultivar Frantoio apresentou o maior teor de ácido palmítico (15,6%), ácido linoleico (6,4%) e ácido palmitoleico (1,4%), porém apresentou a menor proporção de ácido oleico (73,7%).

O ácido oleico é considerado o principal ácido graxo presente no azeite e contribui com vários benefícios à saúde, como no tratamento de câncer de mama, proteção cardiovascular e mudanças do perfil lipoprotéico, particularmente em indivíduos com hipercolesterolemia (KRIS-ETHERTON et al., 1999; MENEZES et al., 2005).

Bruscatto et al. (2017) caracterizaram a composição de ácidos graxos de azeites de oliva de dentre outras variedades, Frantoio e Koroneike, produzidas no Rio Grande do Sul e relataram que a cultivar Koroneike apresentou a maior proporção de ácido oleico (76,47%) e ácido esteárico (2,49%) e, em contrapartida, o menor teor de ácido linoleico (5,52%). Esses resultados foram semelhantes aos obtidos nesse estudo com exceção do ácido linoleico que se apresentou proporcionalmente em menor quantidade (2,7%).

A cultivar Frantoio apresentou o maior teor de ácidos graxos insaturados (83,2%) e a Koroneike o maior de ácidos graxos saturados (20,4%). Resultados similares foram encontrados por Bruscatto et al. (2017) que verificaram maior teor de insaturados (82,79%) para cultivar Frantoio, enquanto que maior concentração de ácidos graxos saturados (16,07%) foi observado para cultivar Koroneike.

As condições ambientais e de cultivo podem ter influência sobre a composição dos ácidos graxos de azeites afetando principalmente os ácidos oleico e palmítico. A temperatura desempenha um papel essencial na composição de ácidos graxos dos óleos, regulando as dessaturases de ácidos graxos, já as baixas temperaturas aumentam o teor de ácidos graxos poliinsaturados das plantas, mantendo a fluidez das membranas biológicas. Além desses, outros fatores como aspectos agronômicos (índice de amadurecimento, condições de armazenamento, processamento) ou outras variáveis ambientais (intensidade luminosa, umidade, evapotranspiração, solo) também podem influenciar a composição do azeite (BALLUS, et al., 2014).

4 CONCLUSÃO

Os azeites de oliva estudados foram classificados em virgem extra pelos teores de acidez, índice de peróxido e coeficiente de extinção específica. As cultivares estudadas apresentaram os teores de ácidos graxos dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente. A cultivar Picual apresentou o maior índice de ácido oleico e ácido esteárico e a cultivar Frantoio apresentou o maior teor de ácido palmítico, ácido linoleico e ácido palmitoleico. Estes resultados demonstram que além da influência do ambiente para variação do perfil lipídico existe influência do genótipo para essas características.

5 AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Pelotas, ao CNPq e à Capes pela concessão de bolsas de auxílio a pesquisa.

6 REFERÊNCIAS

AOCS. American Oil Chemists Society. Official and tentative methods of the American Oils Chemists Society, **Champaign**, Illinois, 1992.

AUED-PIMENTEL, S.; TAKEMOTO, E.; KUMAGAI, E. E., CANO, C. B. Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicerídeo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. **Quím. Nova**, v.31, n.1, p.31-34, 2008

BALLUS, C. A., MEINHART, A. D., DE SOUZA CAMPOS, F. A., DA SILVA, L. F. D. O., DE OLIVEIRA, A. F., & GODOY, H. T. A quantitative study on the phenolic compound, tocopherol and fatty acid contents of monovarietal virgin olive oils produced in the southeast region of Brazil. **Food Research International**, v. 62, p. 74–83, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012. Estabelece o Regulamento Técnico da Azeite de Oliva e Óleo de Bagaço de Oliva e Limites de tolerância. **Diário Oficial da União**, 1 fev. 2012. Seção 1, p.5-8. Disponível em: < <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=01/02/2012&jornal=1&pagina=5&totalArquivos=112> >. Acessado em: 20 de março de 2018.

BRUSCATTO, M. H., ZAMBIAZI, R. C., CARDOSO, M. C., PIATNICKI, C. M.S., MENDONÇA, C. R. B. DUTRA, F. L. G., COUTINHO, E. F. Chemical characterization and oxidative stability of olive oils extracted from olive trees of Southern Brazil. **Pesq. agropec. bras.**, v. 52, p. 1231-1240, 2017.

CONSELHO INTERNACIONAL DO ÓLEO DE AZEITE (COI). Norma comercial aplicável aos óleos de oliva e aos óleos de bagaço de azeitona. Madri. 16p. COI / T.15 / NC No 3 / Rev. 7. 2012b.

DA SILVA, L. F. DE O., DE OLIVEIRA, A. F., PIO, R., ALVES, T. C., & ZAMBON, C. R. Variação na qualidade do azeite em cultivares de oliveira. **Bragantia**, v. 71, n. 2, 2012.

INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL. Spectrophotometric investigation in the ultraviolet. COI/T.20/Doc. Nº19, 2008. Madrid, 2010. Disponível em <http://www.internationaloliveoil.gov>>. Acesso em: 22 mar. de 2018. 2010^a.

JORGE, Rogério Oliveira. **Caracterização de azeites virgem extra gourmet varietais e blends comercializados no mercado do Rio Grande do Sul**. 2010.103 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

KINSELLA J. E., LOKESH B., STONE R. A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. **Am J Clin Nutr**; v. 52, p. 1-28, 1990.

KRIS-ETHERTON, P.M.; PEARSON, T.A.; WAN, Y.; HARGROVE, R.L.; MORIARTY, K.; FISHELL, V.; ETHERTON, T.D. High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, p.1009-1015, 1999.

MENEZES, J.A.; VELLON, L.; COLOMER, R.; LUPU, R. Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu(erbB-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin™) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification. **Annals of Oncology**, v.3, p.359-371, 2005.