

## TEOR DE TOCOFERÓIS EM AZEITES DE OLIVA EXTRAÍDOS EM DIFERENTES ÍNDICES DE MATURAÇÃO

**CINARA TANHOTE SOUSA<sup>1</sup>; MICHELE MACIEL CRIZEL CARDOZO<sup>2</sup>;  
 MARIÂNGELA HOFFMANN BRUSCATTO<sup>2</sup>; FABIANA LEMOS GOULARTE  
 DUTRA<sup>2</sup>; RUI CARLOS ZAMBIAZI<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – cinara.sousa@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – mi.crizel@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – zambiasi@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O azeite de oliva é considerado um dos mais saudáveis entre os azeites, por esta razão o seu consumo tem aumentado consideravelmente nos últimos anos em todo mundo e com isso sua produção. No Brasil o cultivo de oliveiras e a produção de azeite ainda é uma prática recente, visto que está entre os países que mais importam o produto. Fatores como temperatura, índice pluviométrico e umidade relativa da região sul do Brasil tornam a implantação desta cultura uma forma viável de produção sustentável de azeitonas e azeite de oliva para o mercado brasileiro, visando à redução dos gastos com importação e o aumento da produção interna (WREGE, 2009).

A qualidade do azeite de oliva e sua composição química dependem de diversos fatores como agronômicos, geográficos, climáticos, da variedade e do índice de maturação da azeitona, dependem também de fatores relacionados com a extração e das condições de armazenamento do azeite (DIAS, 2009).

A definição do índice de maturação ideal para colheita das azeitonas é um fator importante para se obter um azeite de qualidade e com um bom rendimento em óleo, já que durante o período de maturação os frutos apresentam mudanças nas suas características nutricionais e sensoriais, como cor, peso e teor de óleo (DAG et al, 2011). No início da maturação as azeitonas apresentam uma quantidade elevada de compostos fenólicos, tocoferóis, fitosteróis e pigmentos, porém um baixo rendimento em óleo. À medida que avança a maturação ocorre um aumento do teor de óleo, porém uma diminuição dos compostos bioativos (CONDE et al, 2008; BENGANAA et al, 2013).

Uma composição química equilibrada entre o teor de óleo e os compostos bioativos é necessária para que o azeite de oliva apresente ótimas características de qualidade, propiciando um bom rendimento em óleo sem comprometer o conteúdo e a composição química, os quais em conjunto implicam em benefícios a saúde humana (CONDE et al, 2008).

Os tocoferóis são compostos com alta atividade antioxidante que estabilizam e impedem a oxidação dos lipídeos. Podem ser encontrados no azeite de oliva nas formas de  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol e  $\delta$ -tocoferol, sendo o  $\alpha$ -tocoferol predominante, podendo atingir até 95% da composição total de tocoferol (TASIOULA-MARGARI, 2001).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de tocoferóis em azeites de oliva, cultivar Koroneiki, extraídos em diferentes índices de maturação.

## 2. METODOLOGIA

As olivas da cultivar Koroneiki, foram adquiridas na unidade experimental da Embrapa Clima Temperado localizada em Pelotas/RS. Os frutos foram colhidos da safra de 2012, sendo as colheitas realizadas a cada duas semanas, obtendo-se três índices de maturação. As colheitas foram realizadas nos quatro quadrantes das plantas, por meio de vibração elétrica. Após homogeneização dos frutos uma amostra representativa de 100 frutos foi retirada aleatoriamente para a determinação do índice de maturação, de acordo com o método descrito por Ferreira (1979) que consiste na classificação dos frutos em oito classes (0 a 7) a partir de sua coloração, sendo o índice de maturação, o somatório dos produtos do número de olivas de cada classe pelo valor numérico de cada classe, dividido por 100.

A extração do azeite foi efetuada em escala laboratorial em extrator de bancada (Abencor®), o qual consiste em um sistema descontínuo de duas fases, onde as azeitonas foram moídas para remoção do azeite e posteriormente foi realizada uma centrifugação para a separação do azeite e da torta de extração. O azeite obtido foi filtrado e transferido para frascos de polietileno, os quais foram armazenados à -80°C no laboratório de Cromatografia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, onde as análises foram realizadas.

A análise de tocoferóis foi baseada no método descrito por Pestana et al., 2008. A metodologia consiste na pesagem de 0,175mg de azeite, seguida de diluição em 5mL de isopropanol HPLC. Após centrifugação a 9000 rpm por 6 min, transfere-se o sobrenadante para um frasco de 1,5 mL, do qual é injetado 10µL no cromatógrafo líquido (Schimadzu-Bruker®). A separação foi realizada em uma coluna analítica de fase reversa, Shim-Pak CLC-ODS (3,9cm x 150mm x 4µm), tendo como fase estacionária grupamentos octadesil. As separações foram realizadas a 25°C com um fluxo de 1,0 ml min<sup>-1</sup>. Foi utilizado detector de fluorescência, com excitação de 290nm e emissão a 330nm. A quantificação dos tocoferóis foi realizada através de comparação com os tempos de retenção dos padrões a partir de curva analítica. A análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste Tukey foram realizados utilizando o programa SAS System for Windows V8, ao nível de 5% de significância.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta o teor de tocoferóis dos azeites de oliva obtidos em três índices de maturação da oliva cultivar Koroneiki.

Tabela 1 – Teor de tocoferóis dos azeites de oliva obtidos em três índices de maturação da oliva cv. Koroneiki.

| Tocoferóis (mg 100g <sup>-1</sup> ) | Índices de Maturação |         |         |
|-------------------------------------|----------------------|---------|---------|
|                                     | 0,94                 | 1,60    | 2,10    |
| δ                                   | nd                   | nd      | nd      |
| β + γ                               | 1,13 a               | 1,04 b  | 1,04 b  |
| α                                   | 33,33 a              | 31,19 b | 31,08 b |

nd – não detectado

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os resultados de tocoferóis (tab. 1) obtidos nos azeites de oliva cv. Koroneiki demonstram que esta fração é majoritariamente composta pelo  $\alpha$ -tocoferol (96,00%) seguido pelo  $(\beta+\gamma)$ -tocoferol, não sendo identificado o  $\delta$ -tocoferol. Estudos com o  $\alpha$ -tocoferol comprovam que este composto possui ação vitamínica e protege o organismo humano contra ataque de radicais livres, aumentando a resistência celular ao estresse oxidativo (BALDIOLI, M. et al, 1996). Comparando-se os índices de maturação, pode-se dizer que houve diferença estatística entre a primeira colheita e as colheitas seguintes, ocorrendo uma redução tanto do  $(\beta+\gamma)$ -tocoferol quanto do  $\alpha$ -tocoferol, o que já era previsto e exposto por outros autores (GUINAZ, 2009; BENGANAA et al, 2013; CONDE et al, 2008). Entretanto, o teor de tocoferóis nos índices de maturação intermediário e final, manteve-se constante, não havendo diferença significativa. O cromatograma característico da separação dos tocoferóis nos azeites de oliva cv. Koroneiki pode ser visualizado na Figura 1.

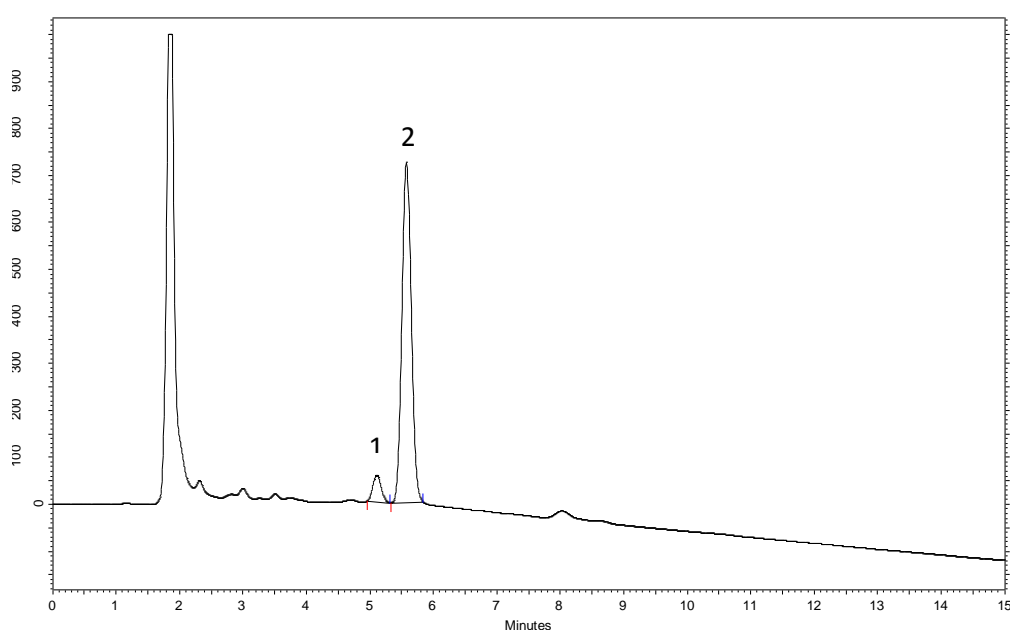


Figura 1. Cromatograma característico de tocoferóis obtido nos azeites de oliva cv. Koroneiki, extraídos em diferentes índices de maturação. 1:  $(\beta+\gamma)$ -tocoferol; 2:  $\alpha$ -tocoferol.

Os picos do gama ( $\delta$ -), beta ( $\beta$ -) e alfa ( $\alpha$ -) tocoferol foram identificados através de comparação com os tempos de retenção dos padrões, nas mesmas condições cromatográficas, nas quais o gama tocoferol elui junto com o beta tocoferol, o que é confirmado pela literatura, em que é relatado que a utilização de coluna de fase reversa não permite a separação dos isômeros gama ( $\gamma$ ) e beta ( $\beta$ ) tocoferol (PESTANA-BAUER; GOULARTE-DUTRA; ZAMBIAZI, 2011).

A presença de compostos antioxidantes, como os tocoferóis, em azeite de oliva garante a estabilidade e qualidade dos azeites, logo, determinar o índice de maturação ideal é necessário para garantir que as propriedades funcionais, benéficas à saúde, sejam mantidas, além também de contribuir com as propriedades sensoriais, como cor e sabor do produto final, visto que uma colheita muito precoce, onde os frutos ainda estão verdes, propicia um azeite com sabor amargo e pungente, o que não é aceito sensorialmente (CONDE et al, 2008).

#### 4. CONCLUSÕES

O  $\alpha$ -tocoferol foi o tocoferol majoritário encontrado nos três índices de maturação estudados, sendo que houve uma redução da primeira para segunda colheita, e posteriormente o teor de tocoferóis se manteve constante. Esses dados mostram a relevância do estudo do tempo ideal para colheita das azeitonas, visto que, ao longo da maturação ocorre perda de compostos importantes, como os tocoferóis, o que afeta diretamente a qualidade funcional do azeite de oliva.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDIOLI, M. et al. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 73, p. 1589-1593, 1996.

BENGANAA, M.; BAKHOUCHEC, A.; LOZANO-SÁNCHEZC, JESÚS.; AMIRB, Y.; YOUYOUA, A.; SEGURA-CARRETEROC, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZC, A. Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*, 2013.

CONDE, C.; DELROT, S.; GERÓS, H. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*, 2008.

DAG, A.; KEREM, Z.; YOGEV, N.; ZIPORI, I.; LAVEE, S.; BEN-DAVID, E. Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 2011.

DIAS, Susana M. C. Pasta de Azeite versus Azeite Virgem Extra, 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar), Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa.

FERREIRA, J. Explotaciones olivaderas colaboradoras. nº 5. Ministério da Agricultura. Madrid, 1979.

GUINAZ, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; PINHEIRO-SANT'ANAI, H. M.; CHAVES, J. B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. *Química Nova*, São Paulo, 2009.

PESTANA, V. R. et al. Quality changes and tocopherols and  $\gamma$ -orizanol concentrations. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v. 85, p. 1013-1019, 2008.

TASIOULA-MARGARI, M.; OKOGERI, O. Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherols in virgin olive oil using HPLC and UV detection. *Food Chemistry*, 2001.

WREGGE, M. S.; COUTINHO, E. F.; STEINMETZ, S.; REISSER, C.; ALMEIDA, I. R.; MATZENAUER, R.; RADIN, B. Zoneamento agroclimático para oliveira no Estado do Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, maio de 2009. Especiais. Acessado em 30 set. 2013. On line. Disponível em: [http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/documentos/documento\\_259.pdf](http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/documentos/documento_259.pdf).