

## Polifenóis e tocoferóis em azeites monovarietais

C. Gouveia<sup>1</sup>, M.F. Peres<sup>1</sup>, M.C. Vitorino<sup>1</sup>, L.R. Henriques<sup>1</sup> e M.C. Pinheiro-Alves<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária de Castelo Branco, IPCB, Apartado 119,  
6001-909 Castelo Branco, Portugal. cgouveia@esa.ipcb.pt

<sup>2</sup>INIAP – Departamento de Olivicultura, Estação Nacional de Melhoramento de Plantas,  
Apartado 104, 7350-951 Elvas, Portugal

### RESUMO

Este trabalho tem por objectivo o estudo dos polifenóis totais, orto-difenóis e tocoferóis nos azeites monovarietais mais representativos da parte sul do distrito de Castelo Branco: ‘Galega’, ‘Bical’ e ‘Cordovil’. O estudo incidiu em azeites extraídos em sistema Oliomio 50, provenientes de árvores das três cultivares localizadas nos concelhos de Idanha-a-Nova, Castelo Branco e Vila Velha de Ródão. Os resultados revelam que os azeites ‘Bical’ e ‘Cordovil’ apresentam os valores médios mais altos de polifenóis totais bem como de orto-difenóis. Os azeites ‘Galega’ e ‘Bical’ apresentaram teores médios de  $\alpha$ -tocoferol muito semelhantes e mais elevados relativamente aos valores médios dos azeites ‘Cordovil’.

**Palavras chave:** antioxidantes, ‘Galega’, ‘Bical’, ‘Cordovil’

### ABSTRACT

*Polypheols and tocopherols in monovarietal virgin olive oils.* The aim of the present work was the study of mono varietal olive oils content in total phenols, ortodiphenols and tocopherols for the most important olive cultivars in the southern area of “Castelo Branco” region. Olives were obtained in several olive groves situated in Idanha-a-Nova, Castelo Branco and Vila Velha de Ródão and olive oils were extracted by Oliomio 50 system. The contents in total phenol and ortodiphenols in ‘Bical’ and ‘Cordovil’ olive oils were higher than in ‘Galega’ ones. ‘Galega’ and ‘Bical’ olive oils showed  $\alpha$ -tocopherol content very similar and higher than ‘Cordovil’ olive oils.

**Keywords:** antioxidants, ‘Galega’, ‘Bical’, ‘Cordovil’

### INTRODUÇÃO

Os principais antioxidantes presentes no azeite virgem são compostos fenólicos, sendo frequentemente mencionados os orto-difenóis, pelo seu papel particularmente activo (Perrin, 1992) e os tocoferóis, pelo seu carácter vitamínico (Hoffman, 1989). Os compostos fenólicos actuam por interrupção da reacção em cadeia produtora de peróxidos por inactivação dos radicais livres iniciais ou formados na cadeia: o antioxidante cede um átomo de hidrogénio a um radical do ácido gordo e transforma-se num radical fenólico que não se propaga porque se estabiliza por ressonância (Primo Yúfera, 1997).

A composição em antioxidantes naturais do azeite depende, fundamentalmente, de dois grandes grupos de factores: os intrínsecos, não modificáveis pelo homem, que incluem os factores genéticos e as condições edafoclimáticas; e os extrínsecos, controláveis pelo homem, que compreendem as técnicas culturais, a colheita e os sistemas de extracção (Barranco et al., 1998). Cada cultivar expressa um património genético específico e uma identidade própria, facto que se reflecte na composição química dos azeites monovarietais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho reporta-se à campanha de 1999/2000 e incide sobre as cultivares ‘Galega’, ‘Bical’ e ‘Cordovil’, em 9 olivais dos concelhos de Vila Velha de Ródão, Idanha-a-Nova e Castelo Branco, situados na parte Sul do distrito de Castelo Branco. Cada concelho é representado por 3 olivais distribuídos por solos dos tipos mais comuns da Região. Em cada olival, a colheita dos frutos realizou-se durante a segunda e terceira semanas de Novembro de 1999, entre os dias 8 e 14, em parcelas das três cultivares e em três árvores por cultivar.

Os azeites foram extraídos laboratorialmente em equipamento OLIOMIO 50. Para cada amostra, procedeu-se à determinação dos polifenóis totais, dos orto-difenóis e dos tocoferóis.

A determinação dos polifenóis totais baseou-se no método proposto pelo Instituto de la Grasa y sus Derivados, por extracção líquido/líquido, desenvolvimento de cor pelo reagente Folin-Ciocalteu e posterior quantificação por leitura das absorvâncias a 725 nm, em triplicado. A concentração de polifenóis totais é expressa em mg de ácido cafeico por kg de azeite.

Para a quantificação dos orto-difenóis usou-se outro método, também seguido pelo Instituto de la Grasa y sus Derivados, por adição de molibdato de sódio e medição da absorvância a 370 nm, em triplicado. O teor de orto-difenóis é expresso em mg de ácido cafeico por kg de azeite.

A quantificação dos tocoferóis baseou-se na técnica proposta por Rovellini et al. (1997), por cromatografia líquida (HPLC), com detecção a 292 nm e condições isocráticas (Rovellini et al., 1997). A fase móvel era composta por metanol/acetoneitrilo/ácido fosfórico 0,5 %, 47:47:6 (v/v/v), com um caudal de 1,2 ml/min. Na preparação da amostra, pesou-se 1 g de azeite (precisão  $\pm$  1 mg), para um balão volumétrico de 10 ml e completou-se o volume com acetona. A solução foi filtrada com filtro Gelman PN 4560T. O volume de injeção foi de 10  $\mu$ L.

O equipamento utilizado constou de um espectrofotómetro UV/VIS de duplo feixe JASCO modelo 7800 e um cromatógrafo líquido HEWLETT PACKARD modelo 1100, com detector de comprimento de onda variável e forno equipado com uma coluna de fase inversa Lichrosorb ODS 25  $\mu$ m RP<sub>18</sub>, comprimento 25 cm e diâmetro interno 4,6 mm (MERCK).

Para a análise estatística dos resultados utilizou-se o programa estatístico Statgrafics versão 2.1 para Windows, análise de variância simples (ANOVA), seguida do teste Scheffe (comparação de médias) para um intervalo de confiança de 95 %.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 1 e 2 resumem os resultados dos teores em polifenóis e orto-difenóis obtidos no presente trabalho.

Relativamente aos polifenóis totais ocorrem variações importantes, tanto em cada cultivar como entre cultivares. O azeite ‘Galega’ registou os teores médios mais baixos de polifenóis (116,8 mg/kg), com diferenças significativas ( $P \leq 0,05$ ) relativamente aos dos azeites ‘Bical’ e ‘Cordovil’ (293,9 e 241,5 mg/kg, respectivamente). Entre estes dois azeites não se observaram diferenças significativas.

Estes resultados, no que respeita à influência varietal, são semelhantes aos referidos em trabalhos anteriores: o azeite ‘Galega’ apresentou sempre teores inferiores de polifenóis totais comparativamente aos azeites ‘Bical’ e ‘Cordovil’ (Henriques et al., 2001; Peres et al., 2002). Contudo, os valores encontrados apresentam-se com teores globalmente mais elevados do que os observados em épocas anteriores (Henriques et al.,

2001), provavelmente em resultado de diferentes condicionalismos climáticos (Pannelli et al., 1990).

Relativamente aos orto-difenóis, foi também o azeite 'Galega' que apresentou os teores médios mais baixos (10,5 mg/kg), seguindo-se o azeite 'Cordovil' (23,6 mg/kg). O azeite 'Bical' apresentou os valores mais elevados (26,7 mg/kg). A análise estatística indica que o azeite 'Galega' difere significativamente ( $P \leq 0,05$ ) dos azeites 'Bical' e 'Cordovil'.

Encontraram-se valores elevados de orto-difenóis em amostras de azeite que também revelaram teores elevados de polifenóis totais, por exemplo em azeites 'Bical' (47,6 e 39,3 mg/kg) e em azeites 'Cordovil' (48,2 mg/kg). Entre as concentrações destes grupos de compostos foi possível estabelecer uma relação linear ( $r^2 = 0,88$ ) (Fig. 3).

Os resultados apresentados na Tabela 1 referem os teores de  $\alpha$ -tocoferol e do conjunto  $\beta$ + $\gamma$ -tocoferol. A análise de tocoferóis por HPLC (com detecção a 292 nm), utilizando colunas de fase inversa C18 e fase móvel metanol/água, não separa o  $\beta$ -tocoferol e o  $\gamma$ -tocoferol (Kochnar e Rosal, 1990).

Os teores de  $\alpha$ -tocoferol variaram entre 113,9 e 393,4 mg/kg, valores semelhantes aos azeites gregos (Psomiadou e Tsimidou, 1998) e superiores aos azeites espanhóis (Cert et al., 1996) e italianos (Rovellini et al., 1997). Os azeites 'Galega' e 'Bical' apresentaram teores médios de tocoferóis muito semelhantes (254,6 e 253,5 mg/kg, respectivamente), embora mais elevados do que os registados no azeite 'Cordovil' (164,6 mg/kg). Os teores de  $\beta$  e  $\gamma$ -tocoferol das três cultivares são relativamente baixos, menores do que 10 % dos teores de  $\alpha$ -tocoferol.

Trabalhos anteriores mostram que a estabilidade oxidativa dos azeites 'Galega' é mais elevada do que a dos azeites 'Bical' e 'Cordovil' (Henriques et al., 2001; Peres et al., 2002). Tal facto tem sido interpretado pela composição em ácidos gordos polinsaturados, mais rica nos dois últimos relativamente ao primeiro, já que a composição em polifenóis totais conduziria a conclusão oposta.

Os teores relativos de polifenóis totais nos azeites monovarietais agora estudados confirmam os apontados em trabalhos anteriores. Os teores de orto-difenóis, seguindo uma relação linear com aqueles, nada acrescentam relativamente à interpretação da estabilidade oxidativa dos mesmos azeites. Os teores de tocoferóis, por seu turno, podem ter um efeito sinérgico na estabilidade oxidativa sobretudo no caso do azeite 'Galega', pobre em polifenóis.

Resta sublinhar, ainda, o património vitamínico, pelo maior teor em  $\alpha$ -tocoferol, que a cultivar 'Galega', confere ao azeite da Beira Baixa, já que é maioritária na Região, património que se vem juntar a outro não menos importante no aspecto nutricional: um elevado teor em ácido oleico conferido também pela mesma cultivar.

## AGRADECIMENTOS

Trabalho financiado pelo Projecto PAMAF-IED 6025 - "O Olival de Azeitona Galega, Bical e Cordovil na Parte Sul do Distrito de Castelo Branco - Selecção de Morfotipos, Caracterização Isoenzimática e Qualidade dos Azeites Elementares". Erro! Marcador não definido. Os Autores agradecem à Eng<sup>a</sup> Paula Vasconcelos, do Laboratório de Estudos Técnicos do Azeite (ISA), pelos esclarecimentos prestados na instalação da técnica de determinação dos tocoferóis por HPLC.

## REFERÊNCIAS

Barranco, D., Fernandez-Escobar, R. e Rallo, L. (eds.) 1998. El Cultivo del Olivo. Co-edición Mundi-Prensa /Junta de Andalucía. Madrid.

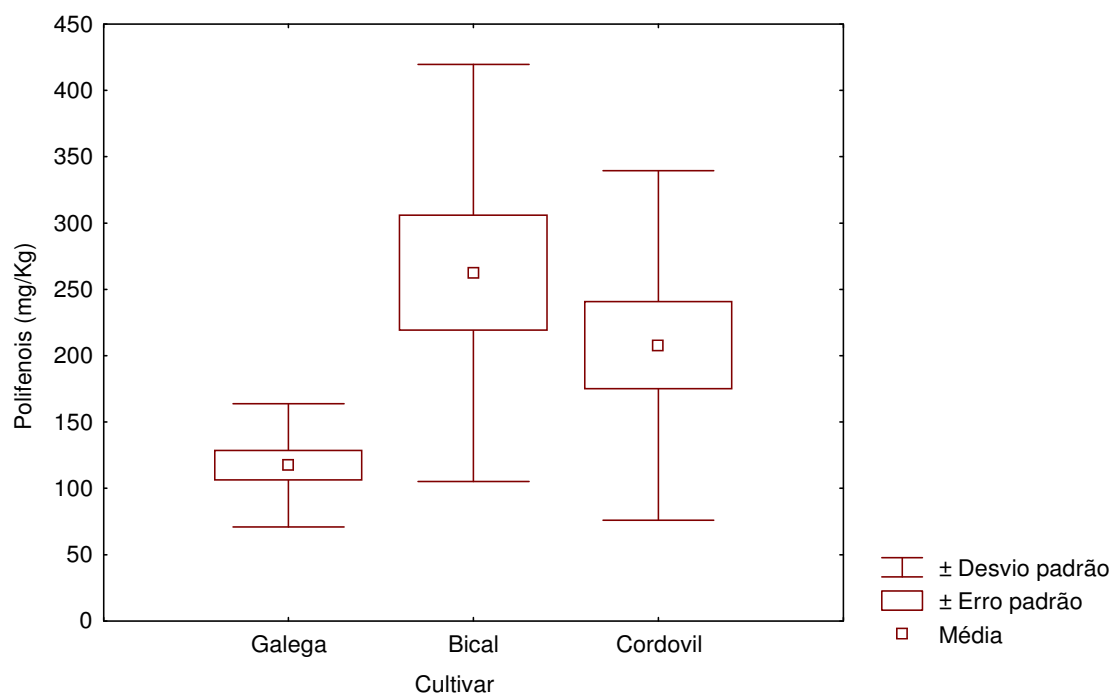
- Cert, A., Alba, J., León-Camacho, M., Moreda, W. e Pérez-Camino, M.C. 1996. Effects of Talc Addition and Operating Mode on The Quality and Oxidative Stability of Virgin Olive Oils Obtained by Centrifugation. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3930-3934.
- Henriques, L.R., Peres, M.F., Vitorino, M.C., Pinheiro-Alves, M.C. e Simões, P. 2001. Estabilidade Relativamente à Oxidação de Azeites Monovarietais da Beira Baixa. *Rev. Ciências Agrárias*, XXIV: 193-198.
- Hoffman, G. 1989. *The Chemistry and Tecnology of Edible Oils and Their High Fat Products*. Academic Press, London.
- Kochnar, S.P. e Rossel, J.B. 1990. Detection, Estimation and Evaluation of Antioxidants in Food Systems. In: B.J.F. Hudson (ed.). *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science Publishing, New York, 19-64.
- Pannelli, G., Famiani, F., Servili, M. e Montedoro, G.F. 1990. Agro-climatic Factors and Characteristics of the Composition of Virgin Olive Oils. *Acta Horticulturae*, 286: 477-480.
- Peres, M.F., Henriques, L.R., Pinheiro-Alves, M.C. e Simões, P. 2002. Characterization of Three Monovariety Olive Oils of Beira Baixa (Portugal). *Acta Horticulturae*, 586: 641-644.
- Perrin, J.L. 1992. Les Composés Mineurs et les Antioxygènes Naturels de l'Olive et de Son Huile. *Rev. Fse. des Corps Gras*, 1/2.
- Primo Yúfera, E. 1997. *Química de los Alimentos*. Editorial Síntesis, SA., Madrid.
- Psomiadou, E. e Tsimidou, M. 1998. Simultaneous HPLC Determination of Tocopherols, Carotenoids and Clorophylls for Monitoring Their Effect on Virgin Olive Oil Oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5132-5138.
- Rovellini, P., Azzolini, M. e Cortesi, N. 1997. Tocoferoli e Tocotrienoli in Oli e Grassi Vegetali Mediante HPLC. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 74: 1-5.

## FIGURAS E TABELAS

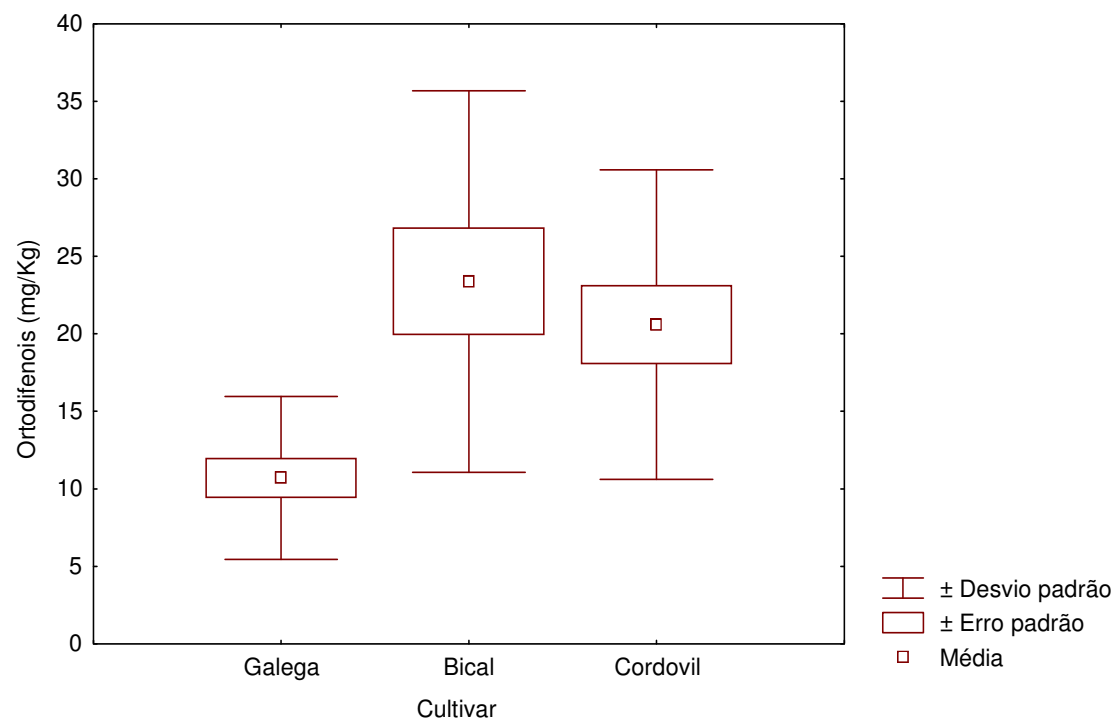
**Tabela 1** – Teores de tocoferóis (mg  $\alpha$ -tocoferol/kg de azeite) nas três cultivares

		$\alpha$ - tocoferol	$\beta, \gamma$ - tocoferol	Tocoferóis totais ( $\alpha, \beta, \gamma$ )
'Galega'	Média $\pm$ D.P.	254,6 $\pm$ 71,24	15,7 $\pm$ 4,39	270,3 $\pm$ 74,49
	Máximo	393,4	25,5	418,7
	Mínimo	155,5	8,6	166,4
'Bical'	Média $\pm$ D.P.	253,5 $\pm$ 36,15	16,2 $\pm$ 4,33	269,6 $\pm$ 38,35
	Máximo	294,8	23,7	309,1
	Mínimo	146,9	9,5	158,6
'Cordovil'	Média $\pm$ D.P.	164,6 $\pm$ 26,42	15,7 $\pm$ 3,21	180,2 $\pm$ 27,61
	Máximo	206,2	20,8	221,9
	Mínimo	113,9	8,4	129,2

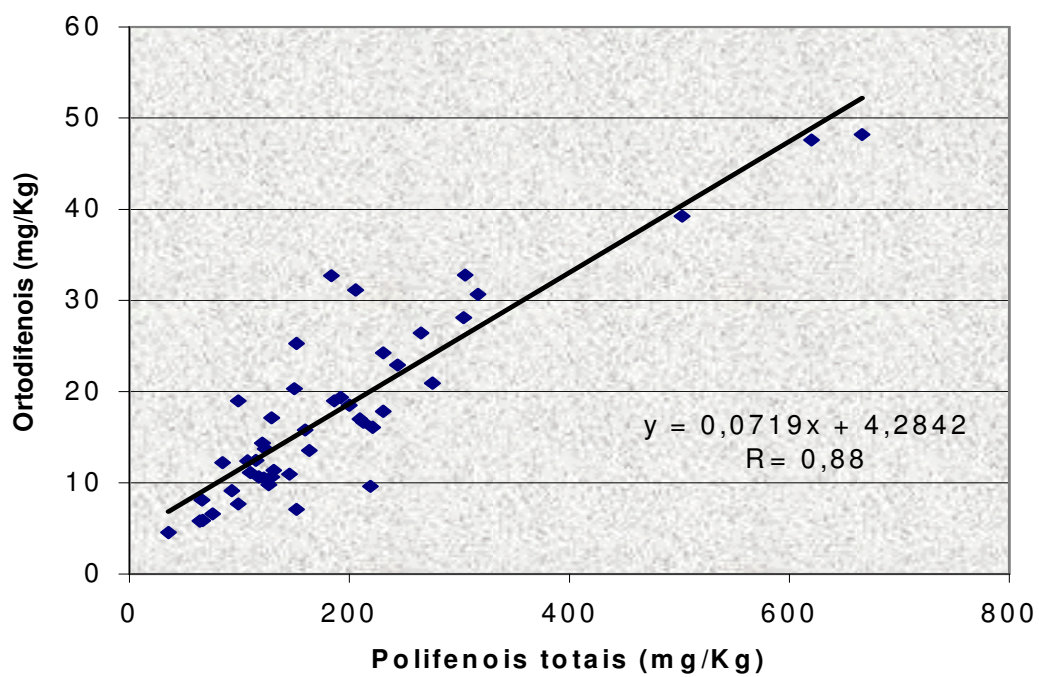
D.P. – Desvio-padrão



**Figura 1** – Polifenóis totais das três cultivares estudadas (mg ác. cafeico/kg de azeite).



**Figura 2** – Orto-difenóis das três cultivares estudadas (mg ác. cafeico/kg de azeite)



**Figura 3** – Orto-difenóis *versus* polifenóis totais (mg ác. cafeico/kg de azeite)