

III Simpósio Nacional de Olivicultura
Castelo Branco, 29 a 31 de Outubro de 2003

Evolução do teor de esteróis e alcoóis triterpénicos no envelhecimento de azeites monovarietais e loteados de seis cultivares no Norte Alentejano

L.R. Henriques¹, P. Simões-Lopes², M.F. Peres¹ e M.C. Pinheiro-Alves²

¹Escola Superior Agrária de Castelo Branco, IPCB, Apartado 119,
6001-909 Castelo Branco, Portugal. fperes@esa.ipcb.pt

²Departamento de Olivicultura, Estação Nacional de Melhoramento de Plantas,
Apartado 6, 7350-951 Elvas, Portugal

RESUMO

A legislação europeia limita os teores de alguns esteróis no azeite virgem: valores máximos de colesterol, de brassicasterol, de campesterol, de estigmasterol e de $\Delta 7$ -estigmasterol; e valores mínimos do β -sitosterol aparente e do total de esteróis. O presente trabalho mostra o efeito de um ano de envelhecimento – em frascos de vidro âmbar a 25 °C – nos teores destes esteróis em azeites monovarietais e loteados de seis cultivares no Norte Alentejano, da campanha de 2001/02. O envelhecimento foi geralmente acompanhado pelo aumento dos teores de β -sitosterol aparente, de $\Delta 5$ -avenasterol e de esteróis totais e pela diminuição dos teores de campesterol e de estigmasterol.

Palavras-chave: esteróis, alcoóis triterpénicos

ABSTRACT

Sterols contents and triterpenic alcohols contents after aging of monovarietal and blended olive oils from six cultivars of “Norte Alentejano”. The european legislation limits the contents of some olive oil sterols: maximum values of cholesterol, brassicasterol, campesterol, stigmasterol and $\Delta 7$ -stigmasterol; and minimum values of apparent β -sitosterol and total sterols. This paper shows the effect of one year aging – in brown glass bottles at 25 °C – for monovarietal and blended olive oils of six cultivars of *Olea europaea* from the “Norte Alentejano” region: the olive oils mostly evidence increasing of apparent β -sitosterol, $\Delta 5$ -avenasterol and total sterols and decreasing of campesterol and stigmasterol.

Keywords: sterols, triterpenic alcohols

INTRODUÇÃO

Os esteróis são alcoóis constituídos por quatro anéis alifáticos, três hexagonais e um pentagonal, e por uma cadeia linear ramificada de 8 a 10 átomos de carbono (Fig. 1). As diferenças estruturais entre os diversos esteróis situam-se principalmente na cadeia linear, mas também no que respeita à posição da dupla ligação dos anéis hexagonais.

A legislação europeia (Reg. (CEE) N° 2568/91) regula a composição da fracção esterólica do azeite virgem: os valores máximos do colesterol (< 0,5 %), do brassicasterol (< 0,2 %), do campesterol (< 4,0 %), do estigmasterol (< campesterol) e do $\Delta 7$ -estigmasterol (< 0,5 %); e os valores mínimos do β -sitosterol aparente (> 93,0 %) e do total de esteróis (> 1 g/kg de azeite). O β -sitosterol aparente reúne os teores de quatro esteróis: clerosterol, sitostanol, $\Delta 5$ -avenasterol e o próprio β -sitosterol. Valores elevados da razão β -sitosterol aparente/(campesterol + estigmasterol) caracterizam os óleos provenientes da azeitona. Teores de brassicasterol elevados indiciam presença de óleos de

soja, de colza e de linhaça, enquanto os teores elevados de $\Delta 7$ -estigmastenol indiciam a presença de óleos de girassol, de milho e de amendoim.

A legislação europeia regula também o teor conjunto de eritrodiol e uvaol do azeite virgem (< 4,5 % da fracção total de esteróis). Trata-se de dois dióis triterpénicos constituídos por cinco anéis hexagonais (Fig. 1). O eritrodiol e o uvaol provêm sobretudo do epicarpo das azeitonas e estão presentes em pequenas quantidades nos azeites virgens mas em muito maiores quantidades nos óleos extraídos por solventes, devido à sua relativa insolubilidade nos lípidos.

Os limites fixados pela legislação podem eventualmente não contemplar azeites virgens monovarietais mesmo os com Denominação de Origem Protegida (DOP). Trabalhos anteriores sobre azeites monovarietais da Beira Baixa extraídos em laboratório (Pinheiro-Alves et al., 2000; 2001) referem que, nas campanhas de 1998/99 e 1999/00, 19 % dos azeites 'Bical' e 45 % dos azeites 'Cordovil' apresentaram teores de eritrodiol e uvaol que excederam o limite legal.

O presente trabalho reporta-se à campanha de 2001/02 e estuda as alterações produzidas nos teores de esteróis e de alcoóis triterpénicos de azeites do Norte Alentejano por um envelhecimento de 1 ano em frascos de vidro âmbar, a 20 °C. São referidos exclusivamente os compostos cujos teores se encontram fixados na legislação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados os azeites monovarietais 'Arbequina', 'Azeiteira', 'Carrasquenha', 'Cobrançosa', 'Galega' e 'Picual' e 14 lotes 1:1 (v/v) obtidos a partir desses azeites. A extracção dos azeites (monovarietais) foi efectuada em sistema Oliomio. A determinação analítica dos esteróis e alcoóis triterpénicos foi feita por cromatografia gasosa (Gouveia, 1995) em cromatógrafo de gás modelo 5890 da Hewlett Packard, coluna Permabond SE-52-0,25 μ m, temperatura 265 °C, durante 38 minutos. A interpretação estatística dos resultados foi obtida pelo programa SGPLUS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Azeites monovarietais: influência do ano de produção: Os teores de esteróis e de alcoóis triterpénicos dos azeites virgens são influenciados pelo ano de produção (Gouveia, 1995). Nos azeites monovarietais, cujo envelhecimento foi estudado (campanha de 2001/02), os teores destes compostos não se distinguiram significativamente dos teores nos azeites monovarietais da campanha anterior, mas 37 % dos valores diferiram significativamente ($P < 0,05$) dos teores nos azeites monovarietais da campanha seguinte (valores não publicados). Este facto foi verificado sobretudo nos teores de estigmasterol, de $\Delta 5$ -avenasterol e do conjunto de eritrodiol e uvaol, responsáveis por 28 % das diferenças (Tabela 1).

Azeites monovarietais: envelhecimento: A comparação estatística dos teores de esteróis dos azeites monovarietais da campanha 2001/02, antes do envelhecimento, mostra que estes azeites só se distinguem significativamente entre si no que respeita aos teores de $\Delta 5$ -avenasterol ($P < 0,05$)

O efeito de envelhecimento encontra-se resumido na Tabela 2. De um modo geral, observa-se um decréscimo dos teores de colesterol, de campesterol e de estigmasterol e um aumento dos teores de $\Delta 5$ -avenasterol, de esteróis totais e de eritrodiol e uvaol. Contudo – à excepção do teor de esteróis totais – as variações observadas nem sempre foram estatisticamente significativas (Tabela 3). O azeite 'Picual' constituiu a excepção deste comportamento geral no que respeita aos teores de esteróis totais e ao conjunto de

eritrodiol e uvaol. O azeite ‘Carrasquenha’ após o envelhecimento apresentou um teor de eritrodiol e uvaol de 5,7 % que ultrapassa o limite superior legislado.

Azeites loteados: envelhecimento: Os teores médios de esteróis dos azeites loteados (obtidos a partir de azeites monovarietais da campanha 2001/02), analisados logo após o loteamento, mostram que é mais difícil distinguir entre si os lotes do que os azeites monovarietais correspondentes. Mesmo os teores de $\Delta 5$ -avenasterol não permitem agora distinguir todos os lotes entre si.

A Tabela 4 mostra o efeito de envelhecimento nos azeites loteados. Verifica-se um comportamento semelhante ao observado para os azeites monovarietais no que respeita aos teores de colesterol, de campesterol e de estigmasterol, que mostram tendência a diminuir, e também no que respeita aos teores de $\Delta 5$ -avenasterol e de esteróis totais, que tendem a aumentar. O teor conjunto de eritrodiol e uvaol apresenta um comportamento diferente, decrescendo em oito dos lotes e aumentando nos restantes seis. O β -sitosterol só decresce – e apenas 0,1 % – no lote ‘Arbequina’/‘Azeiteira’, acompanhando a diminuição de 0,2 % do teor do $\Delta 5$ -avenasterol. O teor de $\Delta 5$ -avenasterol baixa também no lote ‘Azeiteira’/‘Picual’, em 0,3 %.

A Tabela 5 informa sobre a comparação pelo teste t dos resultados analíticos obtidos antes e depois do ensaio de envelhecimento e mostra que não são significativos os decréscimos apontadas para os teores de β -sitosterol e $\Delta 5$ -avenasterol e também o aumento de teor de estigmasterol observado para o lote ‘Galega’/‘Picual’.

REFERÊNCIAS

- Gouveia, J.M.N.B. 1995. Azeites Virgens do Alto Alentejo. Comportamento Químico, Tecnológico e Sensorial. U.T.L. Lisboa.
- Pinheiro-Alves, M.C., Simões, P., Henriques, L.R. e Peres, M.F. 2000. Azeites Monovarietais da Beira Baixa: Esteróis nas Campanhas 1998/99 e 1999/00 em Olivais da Parte Sul do Distrito de Castelo Branco. Actas do XIV Encontro Luso-Galego de Química, 3-12.
- Pinheiro-Alves, M.C., Simões, P., Henriques, L.R. e Peres, M.F. 2001. Fração Esterólica de Azeites Monovarietais da Beira Baixa. Rev. Ciências Agrárias, XXIV (1-2): 205-209.
- Regulamento n° 2568, JOCE L 248, 1991

FIGURAS E TABELAS

Tabela 1 – Teores de esteróis e de álcoois triterpénicos dos azeites monovarietais nas campanhas de 2000/01, 2001/02 e 2002/03

		Cols	Bras	Camp	Estig	β -sit	$\Delta 5$	$\Delta 7$	Total	E+U
‘Arbequina’	(a)	0,2	0,1	3,4	0,8	94,0	16,8	0,1	1563	1,6
	(b)	0,00	0,01	0,03	0,20	0,90	2,13	0,04	7,2	0,43
‘Azeiteira’	(a)	0,3	0,1	2,5	1,7	94,1	9,6	0,2	1396	1,6
	(b)	0,22	0,01	0,17	1,07	1,45	2,01	0,03	210,7	0,46
‘Carrasquenha’	(a)	0,4	0,1	2,6	1,3	94,6	7,9	0,2	1763	2,5
	(b)	0,17	0,01	0,16	0,20	0,66	0,13	0,06	33,6	0,55
‘Cobrançosa’	(a)	0,3	0,1	2,6	0,8	95,4	11,5	0,1	1568	1,4
	(b)	0,03	0,01	0,06	0,34	0,04	1,41	0,06	59,8	0,16
‘Galega’	(a)	0,2	0,1	2,9	1,1	94,6	6,8	0,2	1881	1,1
	(b)	0,00	0,01	0,11	0,49	0,65	2,48	0,05	103,6	0,00
‘Picual’	(a)	0,3	0,1	3,0	0,9	94,6	7,5	0,2	1327	1,6
	(b)	0,03	0,01	0,03	0,39	0,51	2,79	0,10	39,1	0,43

(a) média

(b) desvio-padrão

Cols: colesterol; Bras: brassicasterol; Camp: campesterol; Estig: estigmasterol; β -sit: β -sitosterol; $\Delta 5$: $\Delta 5$ -avenasterol; $\Delta 7$: $\Delta 7$ -estigmastenol; Total: esteróis totais; E+U: eritrodiol + uvaol

Tabela 2 – Teores de esteróis e álcoois triterpénicos dos azeites monovarietais na campanha de 2001/02 antes (a) e depois (b) do ensaio de envelhecimento

		Cols	Bras	Camp	Estig	β -sit	$\Delta 5$	$\Delta 7$	Total	E+U
‘Arbequina’	(a)	0,2	0,01	3,3	1,0	94,5	17,9	0,1	1555	1,3
	(b)	0,1	0,03	3,1	0,8	94,0	19,5	0,2	1849	3,2
‘Azeiteira’	(a)	0,5	0,02	2,6	2,3	93,3	8,5	0,2	1526	1,8
	(b)	0,1	0,02	2,7	2,0	93,7	10,1	0,1	1750	2,3
‘Carrasquenha’	(a)	0,5	0,02	2,6	1,4	94,3	7,9	0,2	1786	2,8
	(b)	0,1	0,01	2,4	1,2	94,3	10,2	0,3	2037	5,7
‘Cobrançosa’	(a)	0,2	0,01	2,5	0,9	95,4	10,7	0,1	1537	1,5
	(b)	0,1	0,01	2,1	0,8	95,9	12,7	0,1	1797	3,5
‘Galega’	(a)	0,1	0,02	2,9	1,3	94,4	5,4	0,2	1937	1,0
	(b)	0,1	0,02	2,7	1,1	94,7	7,8	0,1	2010	2,7
‘Picual’	(a)	0,3	0,04	3,0	1,1	94,3	5,9	0,2	1347	1,3
	(b)	0,1	0,01	2,8	1,1	95,0	6,2	0,1	1171	1,1

(a) média

(b) desvio-padrão

Cols: colesterol; Bras: brassicasterol; Camp: campesterol; Estig: estigmasterol; β -sit: β -sitosterol; $\Delta 5$: $\Delta 5$ -avenasterol; $\Delta 7$: $\Delta 7$ -estigmastenol; Total: esteróis totais; E+U: eritrodiol e uvaol

Tabela 3 – Comparação pelo teste t (valor *P*) das médias dos teores de esteróis e de alcoóis triterpénicos dos azeites monovarietais antes e depois do ensaio de envelhecimento (campanha 2001/02).

	Cols	Bras	Camp	Estig	β-sit	Δ5	Δ7	Total	E+U
‘Arbequina’	0,0677	0,3701	0,0572	0,0075	0,0828	0,0064	0,4234	0,0001	<0,0001
‘Azeiteira’	0,0042	0,8149	0,3295	0,0390	0,4560	0,0206	0,3241	0,0019	0,0657
‘Carrasquenha’	0,0004	0,5155	0,0474	0,8899	0,8820	0,0001	0,0161	0,0126	0,0003
‘Cobrançosa’	0,1012	0,1345	0,0782	0,0241	0,0657	0,0001	0,0609	0,0003	0,0002
‘Galega’	0,2002	0,7676	0,6779	0,0132	0,3475	0,0002	0,1161	0,0052	0,0007
‘Picual’	0,0537	0,1043	0,2794	0,9999	0,0204	0,2028	0,0161	0,0004	0,0913

Cols: colesterol; Bras: brassicasterol; Camp: campesterol; Estig: estigmasterol; β-sit: β-sitosterol; Δ5: Δ5-avenasterol; Δ7: Δ7-estigmastenol; Total: esteróis totais; E+U: eritrodiol e uvaol

Tabela 4 – Teores de esteróis e alcoóis triterpénicos dos azeites loteados antes (a) e depois (b) do ensaio de envelhecimento

Lotes		Cols	Bras	Camp	Estig	β-sit	Δ5	Δ7	Total	E+U
ARB-AZE	(a)	0,2	0,01	3,0	1,6	94,4	14,1	0,1	1766	2,3
	(b)	0,1	0,01	2,5	1,4	94,3	13,9	0,1	1824	2,2
ARB-CAR	(a)	0,1	0,01	3,0	1,2	94,9	13,3	0,1	1603	2,1
	(b)	0,1	0,01	2,0	1,1	95,4	15,1	0,04	1904	2,4
ARB-COB	(a)	0,3	0,01	3,0	0,9	94,9	14,7	0,1	1593	1,5
	(b)	0,1	0,01	2,6	0,9	95,3	15,7	0,1	1777	2,4
ARB-GAL	(a)	0,2	0,01	3,1	1,1	94,6	11,6	0,1	1712	1,5
	(b)	0,1	0,01	2,8	0,9	94,7	13,7	0,1	2008	1,0
ARB-PIC	(a)	0,1	0,01	3,3	1,1	94,5	12,3	0,2	1413	1,6
	(b)	0,1	0,01	2,8	0,9	95,2	14,6	0,1	1569	1,5
AZE-COB	(a)	0,2	0,01	2,5	1,6	94,6	10,3	0,1	1569	1,9
	(b)	0,1	0,02	2,2	1,5	95,5	12,1	0,1	1821	1,3
AZE-GAL	(a)	0,2	0,02	2,6	1,6	94,7	7,4	0,1	1716	1,2
	(b)	0,1	0,01	1,8	1,3	96,1	11,4	0,1	2090	1,6
AZE-PIC	(a)	0,1	0,01	2,8	1,8	94,5	7,5	0,1	1384	1,5
	(b)	0,1	0,01	2,8	1,8	94,5	7,2	0,1	1547	1,8
CAR-COB	(a)	0,2	0,01	2,6	1,2	94,9	9,3	0,1	1620	2,3
	(b)	0,1	0,03	1,9	1,0	95,5	13,3	0,1	1687	1,9
CAR-GAL	(a)	0,2	0,01	2,8	1,3	95,1	7,5	0,1	1814	2,2
	(b)	0,04	0,01	2,2	1,1	95,4	11,5	0,1	1954	2,7
CAR-PIC	(a)	0,3	0,02	2,6	1,3	94,9	7,1	0,1	1536	3,1
	(b)	0,1	0,01	2,2	1,0	95,0	10,9	0,2	1804	2,1
COB-GAL	(a)	0,2	0,02	2,7	1,2	95,0	7,5	0,1	1756	1,4
	(b)	0,1	0,03	2,4	1,0	95,4	10,6	0,1	1780	2,4
COB-PIC	(a)	0,1	0,01	2,5	1,0	95,5	9,0	0,1	1524	3,3
	(b)	0,1	0,02	2,1	0,7	95,7	12,8	0,1	1673	1,6
GAL-PIC	(a)	0,2	0,01	2,9	1,2	94,8	5,7	0,1	1602	1,5
	(b)	0,1	0,01	2,6	1,3	95,6	9,2	0,1	1799	1,2

ARB – ‘Arbequina’; AZE – ‘Azeiteira’; CAR – ‘Carrasquenha’; COB – ‘Cobrançosa’; GAL – ‘Galega’; PIC – ‘Picual’.

Cols: colesterol; Bras: brassicasterol; Camp: campesterol; Estig: estigmasterol; β-sit: β-sitosterol; Δ5: Δ5-avenasterol; Δ7: Δ7-estigmastenol; Total: esteróis totais; E+U: eritrodiol e uvaol.

Tabela 5 – Comparação pelo teste t (valor *P*) das médias dos teores de esteróis e de alcoóis triterpénicos dos azeites loteados antes e depois do ensaio de envelhecimento.

Lotes	Cols	Bras	Camp	Estig	β-sit	Δ5	Δ7	Total	E+U
ARB-AZE	0,3739	0,2635	0,0717	0,3465	0,7953	0,6910	0,2840	0,0816	0,8512
ARB-CAR	0,7953	0,9564	0,0327	0,1012	0,1321	0,0034	0,1065	0,0003	0,3295
ARB-COB	0,0485	0,1823	0,0111	0,9999	0,1054	0,1673	0,5371	0,0010	0,0325
ARB-GAL	0,1424	0,5221	0,2051	0,2302	0,5391	0,0027	0,1543	0,0009	0,1741
ARB-PIC	0,8538	0,7427	0,0344	0,0022	0,0046	0,0039	0,5955	0,0076	0,7376
AZE-COB	0,0069	0,7875	0,1926	0,1841	0,0491	0,0335	0,4353	0,0008	0,0171
AZE-GAL	0,0224	0,2262	0,0332	0,1926	0,0187	0,0035	0,1369	0,0005	0,1688
AZE-PIC	0,3739	0,0927	0,9999	0,9999	0,8149	0,2062	0,2116	0,0025	0,1757
CAR-COB	0,1161	0,2302	0,0129	0,0075	0,0325	0,0001	0,0572	0,0097	0,0699
CAR-GAL	0,0341	0,3352	0,0020	0,0705	0,1318	0,0033	0,07183	0,0038	0,4862
CAR-PIC	0,3005	0,3814	0,1323	0,1161	0,8502	0,0011	0,7953	<0,0001	0,0993
COB-GAL	0,3392	0,2460	0,0502	0,0474	0,1549	0,0173	0,4438	0,7742	0,0166
COB-PIC	0,8538	0,0022	0,0651	0,0158	0,6130	0,0005	0,8105	0,0133	0,0040
GAL-PIC	0,1170	0,4267	0,1757	0,8389	0,0304	0,0042	0,3209	0,0031	0,3168

ARB – ‘Arbequina’; AZE – ‘Azeiteira’; CAR – ‘Carrasquenha’; COB – ‘Cobrançosa’; GAL – ‘Galega’; PIC – ‘Picual’.

Cols: colesterol; Bras: brassicasterol; Camp: campesterol; Estig: estigmasterol; β-sit: β-sitosterol; Δ5: Δ5-avenasterol; Δ7: Δ7-estigmastenol; Total: esteróis totais; E+U: eritrodiol e uvaol.

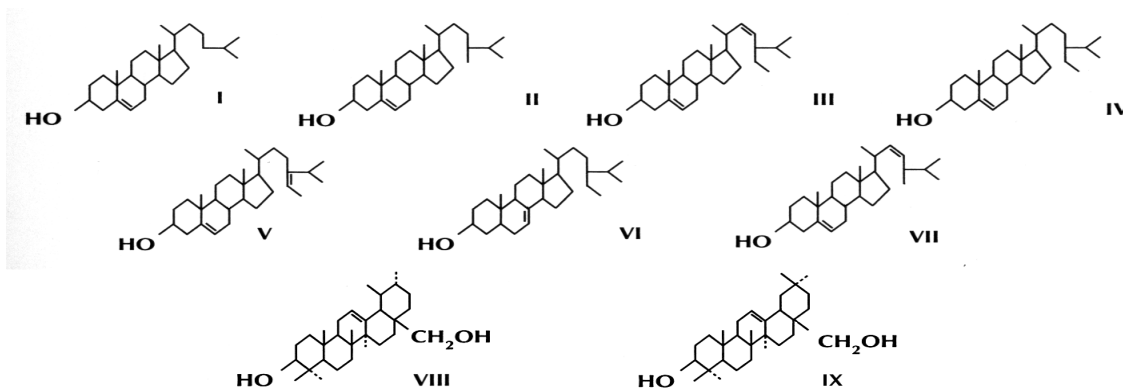


Figura 1 – Esteróis e dióis triterpénicos presentes no azeite virgem referidos no Regulamento (CEE) N^o 2568 para controlo de autenticidade (I – Colesterol; II – Campesterol; III – Estigmasterol; IV – β-sitosterol; V – Δ⁵-avenasterol; VI – Δ⁷-estigmastenol; VII – Brassicasterol; VIII – Uvaol; IX – Eritrodiol).