



## **Composição em triacilgliceróis, ácidos gordos e esteróis em azeites com Denominação de Origem Protegida Beira Interior**

Rebeca Milca Burhhardt Rosa

### **Orientadores**

Maria de Fátima Prata Peres

Ana Domingos

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica da Doutora Maria de Fátima Pratas Peres, do Instituto Politécnico de Castelo Branco, e da Eng<sup>a</sup> Ana Domingos da APABI.

**Julho de 2021**



## **Agradecimentos**

O trajeto foi longo, feito de altos e baixos, mas hoje é com um sorriso no rosto que afirmo CONSEGUI e sei que sozinha não seria capaz de chegar onde tanto desejei.

A conclusão do presente trabalho, não seria possível sem a ajuda e apoio de algumas pessoas que me acompanharam nas várias fases de elaboração do relatório de estágio. Desta forma quero agradecer:

Aos meus pais, que nunca me abandonou, digo com toda certeza que a minha gratidão corre léguas.

À Professora Doutora Fátima Peres um especial agradecimento pela orientação dada, disponibilidade, empenho e todo ensinamento transmitido.

À Eng<sup>a</sup> Ana Domingos pela disponibilidade e oportunidade que me foi concedida de realizar o estágio curricular na APABI.

À Eng<sup>a</sup> Conceição Vitorino pela transmissão de conhecimentos.

A todos os colegas e amigos que me acompanharam e apoiaram.

E o mais importante, agradeço a Deus por me dar forças sempre que achei que não teria.

A todos o meu sincero e profundo Muito Obrigada!



## Resumo

A produção de azeite com denominação de origem protegida (DOP) tem vindo a aumentar nas últimas décadas em Portugal, representando atualmente cerca de 4% da produção nacional de azeite virgem. Em Portugal existem seis DOP para azeite e desde 1996 está registado a DOP Azeites da Beira Interior (Azeite da Beira Alta, Azeite da Beira Baixa). No que se refere à composição química do azeite, os ácidos gordos, a fração esterólica e os triacilgliceróis contribuem para o reconhecimento da qualidade, da autenticidade e das propriedades funcionais. Assim, no presente trabalho estudaram-se estes compostos em azeites virgens extra certificados dos últimos 5 anos com DOP da Beira Interior, de forma a avaliar eventuais diferenças entre azeites DOP Beira Alta e Beira Baixa. No que se refere aos triacilgliceróis, a trioleína (OOO) apresentou teores mais elevados nos azeites DOP Beira Alta. Por seu turno, os azeites DOP Beira Baixa apresentaram teores dos triacilgliceróis PPO e POL mais elevados. Na composição em ácidos gordos, registaram-se diferenças significativas na percentagem dos ácidos oleico, palmítico, palmitoleico e esteárico, sendo mais elevados nos azeites DOP da Beira Baixa; estes azeites apresentam os teores mais elevados de ácidos gordos saturados e consequentemente os mais baixos teores em ácidos gordos insaturados. Relativamente à composição esterólica, o  $\Delta$ -7-Estigmastenol, apresenta valores médios superiores nos azeites provenientes da Beira Alta. O estigmasterol apresentou teores médios superiores nos azeites da Beira Baixa. Em relação ao  $\beta$ -Sitosterol, os azeites da Beira Alta apresentaram os teores médios mais elevados. Não se encontraram diferenças significativas entre os esteróis totais nos azeites das duas regiões.

## Palavras chave

Beira Alta; Beira Baixa; Insaturados; Trioleína;  $\beta$ -Sitosterol



## **Abstract**

The production of olive oil with a protected designation of origin (PDO) has been increasing in recent years in Portugal, currently representing around 4% of the national production of virgin olive oil. In Portugal there are six PDO for olive oil and since 1996 the PDO Azeites da Beira Interior (Azeite da Beira Alta, Azeite da Beira Baixa) has been registered. With regard to the chemical composition of olive oil, fatty acids, sterol fraction and triacylglycerols contribute to the recognition of quality, authenticity and functional properties. In the present work these compounds were evaluated in extra virgin certified in the last 5 years with PDO from Beira Interior, in order to assess differences between PDO Beira Alta and Beira Baixa oils. With regard to triacylglycerols, triolein (OOO) had higher levels in DOP Beira Alta oils. In turn, the DOP Beira Baixa oils had higher levels of triacylglycerols PPO and POL. In fatty acid composition, there were significant differences in the percentage of oleic, palmitic, palmitoleic and stearic acids, being higher in PDO oils Beira Baixa; these oils have the highest levels of saturated fatty acids and consequently the lowest levels of unsaturated fatty acids. Regarding the sterol composition,  $\Delta$ -7-Stigmastenol had higher average contents in olive oils from Beira Alta. Stigmasterol had higher contents in olive oils from Beira Baixa. In relation to  $\beta$ -Sitosterol, olive oils from Beira Alta showed the highest average values. For total sterols, no significant differences were found between olive oils from the two regions.

## **Keywords**

Beira Alta; Beira Baixa; Triolein; Insaturated fatty acids;  $\beta$ -Sitosterol





# Índice geral

1. Introdução.....	1
2. Composição Química do Azeite.....	2
2.1 Triacilgliceróis.....	2
2.2 Ácidos gordos.....	3
2.3 Esteróis e álcoois triterpénicos.....	4
2.4 Outros compostos.....	5
3. Regimes de qualidade Europeus para azeite virgem .....	5
4. DOP portuguesas para azeites virgens e respetivas características.....	8
4.1 Moura .....	9
4.2 Trás-os-Montes.....	10
4.3 Ribatejo.....	10
4.4 Beira Interior.....	10
4.5 Norte Alentejano.....	15
4.6 Alentejo Interior.....	15
5. Material e métodos .....	16
5.1 Material.....	16
5.2 Métodos de análise.....	17
5.2.1 Composição em Triacilgliceróis .....	17
5.2.2 Ácidos gordos componentes .....	17
5.2.3 Composição Esterólica, esteróis totais e eritrodiol e uvaol .....	18
5.3 Tratamento estatístico dos resultados .....	19
6. Resultados.....	19
6.1 Triacilgliceróis dos azeites DOP Beira Alta e Beira Baixa.....	19
6.2 Ácidos gordos dos azeites DOP Beira Alta e Beira Baixa.....	20
6.3 Esteróis e álcoois triterpénicos dos azeites DOP Beira Alta e Beira Baixa .....	22
6.4 Análise em componentes principais.....	24
7. Conclusões.....	25
Referências bibliográficas.....	26



## Índice de figuras

<b>Figura 1-</b> Logotipos de esquemas de qualidade da União Europeia. Adaptado com permissão da Comissão Europeia. ( <a href="https://ec.europa.eu/info/food-farmingfisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained_en#logos">https://ec.europa.eu/info/food-farmingfisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained_en#logos</a> ).....	6
<b>Figura 2-</b> Mapa de Portugal com referência às variedades utilizadas em cada azeite DOP (Cintra, 2014).....	9
<b>Figura 3-</b> Cromatograma HPLC dos triacilgliceróis de um azeite virgem. Principais componentes dos picos cromatográficos (Reg N <sup>o</sup> 1348/2013). 1: LLL; 2: OLLn+PoLL; 3: PLLn; 4: OLL; 5: OOLn+PoOL; 6: PLL+PoPoO; 7: POLn+PPoPo+PPoL; 8: OOL+LnPP; 9: PoOO; 10: SLL+PLO; 11: PoOP+SPoL+SOLn+SPoPo; 12: PLP; 13: OOO+PoPP; 14: SOL; 15: POO; 16: POP; 17: SOO; 18: POS+SLS. ....	17
<b>Figura 4-</b> Cromatograma dos ácidos gordos de um azeite da cultivar 'Galega Vulgar' (CG) (ESACB).....	18
<b>Figura 5-</b> Cromatograma da fração esterólica obtida por cromatografia em fase gasosa de um azeite. (1) Colesterol, (2) $\alpha$ -colestanol, (3) brassicasterol, (4) 24-metilenocolesterol, (5) campesterol, (6) campestanol, (7) estigmasterol, (8) $\Delta$ 7-campesterol, (9) $\Delta$ 5,23-estigmastadienol, (10) clerosterol, (11) $\beta$ -sitosterol, (12) sitostanol, (13) $\Delta$ 5-avenasterol, (14) $\Delta$ 5,24-estigmastadienol, (15) $\Delta$ 7-estigmastenol, (16) $\Delta$ 7-avenasterol, (17) eritrodiol, (18) uvaol (Reg UE) N <sup>o</sup> 2019/1604). ....	18
<b>Figura 6-</b> Análise em componentes principais dos ácidos gordos componentes e dos triacilgliceróis. BA- Beira Alta e BB- Beira Baixa.....	24



## Lista de tabelas

<b>Tabela 1-</b> Triacilgliceróis maioritários no azeite (%).....	2
<b>Tabela 2-</b> Ácidos gordos do azeite virgem, grau de insaturação e respetivos limites.....	3
<b>Tabela 3-</b> Limites da composição esteróica em azeite virgem.....	4
<b>Tabela 4-</b> Azeites registados nos sistemas de qualidade da UE nos países da UE....	7
<b>Tabela 5-</b> Principais cultivares de Espanha, Itália, Grécia e Portugal. ....	8
<b>Tabela 6-</b> Ácidos gordos maioritários (%) de azeites de cultivares presentes nos azeites da Beira Interior.....	11
<b>Tabela 7-</b> Teores médios (%) e desvio padrão dos triacilgliceróis maioritários para quatro cultivares produzidas na Beira Alta.....	12
<b>Tabela 8-</b> Teores médios de campesterol, estigmasterol, $\beta$ -sitosterol esteróis totais e eritrodiool+ uvaol.....	12
<b>Tabela 9-</b> Ácidos gordos maioritários em azeites provenientes da Beira Alta e Beira Baixa.....	13
<b>Tabela 10-</b> Teor de triacilgliceróis maioritários em azeites provenientes da Beira Alta e Beira Baixa.....	14
<b>Tabela 11-</b> Campesterol, Estigmasterol, $\beta$ -Sitosterol, $\Delta$ -7-Estigmasterol e Esteróis Totais em amostras de azeites provenientes da Beira Alta e Beira Baixa. ....	14
<b>Tabela 12-</b> Distribuição anual e por região de origem do número amostras avaliadas no presente trabalho.....	16
<b>Tabela 13-</b> Triacilgliceróis maioritários dos azeites certificados DOP (2015-2020) da Beira Alta e Beira Baixa. Valores médios e desvios padrão, mínimo e máximo. Na mesma linha letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com base no teste de Tukey. ....	19
<b>Tabela 14-</b> Diferença do NCE 42.....	20
<b>Tabela 15-</b> Ácidos gordos dos azeites certificados DOP (2015-2020) da Beira Alta e Beira Baixa. Valores médios e desvios padrão, mínimo e máximo. Em cada linha os índices sobrescritos indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com base no teste de Tukey.....	20
<b>Tabela 16-</b> Ácidos gordos saturados e insaturados (%) dos azeites certificados DOP (2015-2020) da Beira Alta e Beira Baixa. Valores médios e desvios padrão, mínimo e máximo. Em cada linha os índices sobrescritos indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com base no teste de Tukey.....	21
<b>Tabela 17-</b> Relações entre os ácidos gordos saturados e insaturados dos azeites certificados DOP (2015-2020) da Beira Alta e Beira Baixa. Valores médios e desvios padrão, mínimo e máximo.....	22
<b>Tabela 18-</b> Valores médios e desvios padrão, mínimo e máximo dos esteróis dos azeites certificados (2015-2020) da Beira Alta e Beira Baixa. Em cada linha os índices sobrescritos indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com base no teste de Tukey.....	23
<b>Tabela 19-</b> Valores médios e desvios padrão, mínimo e máximo da relação $\beta$ -Sitosterol aparente/campesterol dos azeites certificados (2015-2020) da Beira Alta e Beira Baixa.....	24