ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FOLHAS DE DUAS VARIEDADES DE OLIVEIRA E A CONTEXTUALIZAÇÃO DESTE COPRODUTO DA PRODUÇÃO PAULISTA E MUNDIAL DE AZEITE DE OLIVA.

TERAMOTO, Juliana Rolim Salomé
Instituto Agronômico/ Secretaria de Agricultura e Abastecimento do estado de São Paulo

SACHS, Raquel Castelluci Caruso
Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Tanquinho, Pólo Regional Centro Sul/ Secretaria de Agricultura e Abastecimento do estado de São Paulo

GARCIA, Vera Lúcia
UNICAMP

OLIVEIRA, Adriana da Silva Santos de
UNICAMP

DUARTE, Marta Cristina
UNICAMP

Resumo: No estado de São Paulo é crescente o número de produtores e a folha da oliveira é considerada um resíduo na planta extratora de azeite ou mesmo no campo, como resto de podas de condução. Estudos recentes mostraram que nos últimos anos a produção de oliveira tem aumentado no Estado e a avaliação dos coprodutos é necessária. Assim, este trabalho teve como objetivo contextualizar a produção de azeite de oliva no Estado de São Paulo e avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de duas variedades de oliveira (Arbosana e Koroneiki) frente a alguns fungos e bactérias. O extrato etanólico da folha da variedade Koroneiki foi a que apresentou melhores resultados. A concentração inibitória mínima (CIM) para *S. enteritidis* foi de 0,35 mg/mL e para *S. cholerasuis* de 0,5 mg/mL, enquanto a variedade Arbosana não apresentou nenhuma inibição. Para a *E. coli* a CIM foi de 1 mg/mL para o extrato de Koroneiki e de 2 mg/mL para a variedade Arbosana. Já para *S. aureus,* ambas as variedades apresentaram inibição na concentração de 2 mg/mL. Para os outros micro-organismos testados, ou seja, *C. albicans, P. aeruginosa, E. hirae e S. epidermides,* não foi observada inibição.

Palavras-Chaves: Folhas de oliveira; Produção; São Paulo

Abstract: *In the state of São Paulo there is a growing number of producers and the olive leaf is considered as a residue in the olive oil extraction plant or even in the field, like other prunings of conduction. The objective of this work was to contextualize the production of olive oil in the State of. And to evaluate the antimicrobial activity of the leaf extract of two olive varieties (Arbosana and Koroneiki) for some fungi and bacteria. Results have shown that in recent years olive production has increased in the State and the evaluation of co-products, are necessary. The ethanolic extract of the Koroneiki variety leaf showed the best results. The minimum inhibitory concentration (MIC) for S. enteritidis was*

0.35 mg / mL and for S. cholerasuis of 0.5 mg / mL, in contrast, the Arbosana variety showed no inhibition. For E. coli MIC was 1 mg / mL for the Koroneiki extract and for the Arbosana 2 mg / mL variety. For S. aureus, both varieties presented inhibition at the concentration of 2 mg / mL. For the other microorganisms tested C. albicans, P. aeruginosa, E. hirae and S. epidermides, there was no inhibition.

Key-Words: Olive leaves; Production; São Paulo

Introdução

A oliveira é uma das mais importantes árvores frutíferas nos países mediterrâneos e desde a pré-história é de grande importância para o homem. Por seleção iniciou-se o melhoramento genético da espécie em diferentes habitats humanos à volta do Mediterrâneo, transformando assim a oliveira selvagem *(Olea europea,* var.*sylvestris*/oleaster) nas atuais variedades da *Olea europea L.,* que hoje já se disseminou a todos os continentes (BOHM, J, 2013) . Os produtos e subprodutos da oliveira eram utilizados desde os tempos remotos, quando se fazia uso do suco de seus frutos para a iluminação dentro de lampiões, chamados em Portugal de “lampiões de cegonha”. Após o advento da iluminação pelo azeite, este cedeu lugar ao gás, ao petróleo e à eletricidade. Se a iluminação aproveitou novas fontes de energia, a gastronomia, ao contrário, valorizou-o. O azeite teve seu consumo crescente, com o refinar da qualidade, tanto na culinária salgada, quanto doce. Mas este foi e é também utilizado como matéria-prima da saboaria, desde os antigos sabões preto e branco, às recentes variedades, bem como na cosmética, o qual, na farmacopeia, entrou como bálsamo e medicamento, e produto básico de outras áreas. O óleo extraído dos frutos da oliveira, denominado de azeite de oliva é constituído em sua maior parte por lipídeos, sendo a maioria constituída pelos ácidos graxos monoinsaturados, principalmente o ácido oleico. Além deste composto bioativo, o azeite possui inúmeros outros compostos benéficos, fazendo por isso parte da dieta do Mediterrâneo (ABRUNHOSA, 2009).

Já existem algumas experiências com a produção de oliveiras no Brasil, em microclimas favoráveis a cultura, como é o caso de algumas regiões da serra da Mantiqueira nos estados de Minas Gerais e São Paulo, com altitudes maiores que 1000 metros e regiões do sul do Brasil, com condições naturais

para cultivo, como nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Seu cultivo tem se expandido no país, de forma a assegurar sua qualidade, sem as interferências da grande cadeia logística a que passa para chegar, dos países produtores (mediterrâneo) aos consumidores brasileiros, e sem também sofrer modificações no que tange as fraudes criadas nos países fornecedores. Poucos são os conhecimentos agronômicos e fitoquímicos dos materiais produzidos no país, como também de seus subprodutos, uma vez que grande parte dos materiais resultantes de poda dos olivais e da extração do azeite são todos descartados, sem destino produtivo (BERTONCINI, TERAMOTO, PRELA-PANTANO, 2010).

O presente estudo teve por objetivo realizar a contextualização da produção do azeite de oliva no Estado de São Paulo e avaliar a atividade antimicrobiana das folhas (coproduto) de duas variedades de oliveira (Arbosana e Koroneiki) contra algumas bactérias e fungos.

Materiais e Métodos

Levantamento das informações sobre o mercado de azeite de oliva no Mundo e Brasil (Estado de São Paulo)

Os dados secundários foram provenientes da Food and Agriculture Organization of the United National (FAO), do Internacional Olive Council (IOC/COI) e da Secretaria de Comércio Exterior (SECEX), do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC) e foram utilizados para qualificar, quantificar e analisar informações referentes à produção mundial de azeite de oliva dos principais países produtores e do Brasil. Para este estudo foi realizado a coleta e organização das informações, foram elaboradas tabelas e gráficos comparativos entre os países. As discussões sobre o tema foram embasadas em ampla revisão bibliográfica e fruto da participação em vários cursos, visitas técnicas nacionais e internacionais e vivências decorrente das ações do grupo Oliva SP instituído pela Portaria n. 230 de 31/03/2011 da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. Também foram coletados dados técnicos e informações sobre a cultura por meio de visitas técnicas as propriedades dos produtores paulistas de oliveira realizada pelos participantes.

Atividade Antimicrobiana

Preparo das amostras

As folhas de oliveira da variedade Arbosana e Koroneiki foram coletadas no município de São Sebastião da Grama-SP e colocadas para secagem em estufa à 40C durante 36 h. Os extratos de cada variedade foram obtidos a partir de 10g das folhas secas e moídas com solução hidroalcoólica (70:30), seguido de agitação a 200 rpm em temperatura ambiente, por 3h. Os extratos foram filtrados e os resíduos re-extraídos. Finalmente, os filtrados combinados foram evaporados à vácuo até a secura. Para o uso nos testes de atividade antimicrobiana, os extratos foram diluídos em água e Tween 80, sendo a concentração máxima testada de 2 mg/mL. Os meios de culturas utilizados foram o meio Mueller-Hinton para bactéria e meio RPMI-1640 para fungo (levedura).

Preparo de inóculo padronizado - Cultivo de fungo (levedura)

A levedura *Candida albicans* foi cultivada em tubo de ensaio contendo o meio ágar *Saboraud* a 35 °C por 48h. Após o crescimento das células, alíquotas da cultura foram retiradas com alça de platina e transferidas para tubo de ensaio contendo 4 mL de solução salina 0,85% estéril. A solução de levedura foi homogeneizada em vortex e uma alíquota (2 mL) lida em espectrofotômetro (Shimadzu UV mini 1240) a 530 nm e ajustada com solução salina 0,85% para uma DO de 0,09 a 0,11, correspondente à 5,0 x 10^6 UFC/mL. À suspensão remanescente (2mL), foi adicionada a mesma quantidade de solução salina utilizada na leitura em espectrofotômetro. A partir da solução padronizada foi realizada a diluição seriada obtendo-se ao final da mesma 5,0 x 10^4 UFC/mL. Por fim, 1 mL da solução diluída foi transferida para um tubo de ensaio contendo 9 mL de caldo RPMI-1640, correspondendo à concentração de 2,5 x 10^3 UFC/mL ou 2,5 x 10^2 UFC em 100µL (NCCLS, 2002b).

2.2.3. Preparo de inóculo padronizado - Cultivo de bactérias

O preparo dos inóculos para os testes de susceptibilidade foram realizados segundo as recomendações do protocolo M7-A6 para bactérias

(NCCLS, 2003). Culturas de bactérias de 24h cultivadas em meios específicos foram transferidas para tubos de ensaio contendo 4 mL de solução salina estéril. As soluções de bactérias foram homogeneizadas em vortex e alíquotas de 2 mL foram tomadas para leitura em espectrofotômetro (Shimadzu UV mini 1240) a 625nm e ajustadas com solução salina para DO de 0,08 a 0,10 correspondente à concentração de 1,5 x 10^8 UFC/mL. Aos 2 mL remanescentes das suspensões de bactérias, foram adicionadas as mesmas quantidades de solução salina utilizada no ajuste em espectrofotômetro. A partir das soluções padronizadas, procedeu-se a diluição seriada de forma a se obter, ao final da mesma, a concentração de 1,5 x 10^6 UFC/mL e, destas últimas soluções, 6 mL foram transferidos para tubos contendo 3 mL de meio de cultura (Caldo Mueller Hinton ou BHI), estabelecendo-se uma concentração de 1 x 10^6 UFC/mL ou 1,0 x 10^5 em 100 µL, sendo que nos poços das microplacas inoculados as concentrações resultaram em 5 x 10^5 UFC/mL.

Teste da microdiluição

Em uma microplaca estéril de 96 orifícios ou poços (8 linhas A-H/1-12 colunas) foram depositados 100 µL de caldo RPMI-1640. Na primeira coluna foram depositados 50 µL do extrato diluído (controle de esterilidade das amostras). Na segunda coluna foram depositados 100 µL de cada extrato, sendo o conteúdo dos orifícios homogeneizados com o meio e transferidos para os orifícios da coluna seguinte, repetindo-se o procedimento até a coluna 12, sendo os 100 µL finais desprezados. As concentrações avaliadas variaram entre 2000 e 1,95 µg/mL para os extratos. Posteriormente, da coluna 2 a 12 foram adicionados 100 µL do inóculo padronizado (leveduras ou bactérias), sendo as placas contendo solução de esporos seladas com *parafilm*. Após a inoculação, as placas foram incubadas a 35 °C por 48h (levedura). A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração dos extratos capaz de inibir o crescimento dos microrganismos, verificado com a mudança da coloração original do meio de cultura de rosa para amarelo.

Para as bactérias, as placas foram incubadas em estufa a 25 °C por 24h ou 48h. Decorrido o período de incubação, foram depositados em todos os poços 50 µL de solução 0,1% de cloreto de trifenil tetrazólio (TTC) e as placas

re-incubadas por um período de 2h. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de impedir o aparecimento de coloração vermelha, conferida ao meio quando as células apresentam atividade respiratória (NCCLS, 2003). No caso das bactérias, foram realizadas leituras das placas no início e final de cada ensaio, em leitora de microplacas de Elisa (ASYS) para confirmação da presença ou ausência de crescimento microbiano. Segundo ALIGIANNIS, et al. (2001), podemos considerar como de forte atividade, compostos obtidos a partir de plantas medicinais e aromáticas que apresentem CIM de até 0,5 mg/ml.

Resultados e discussão

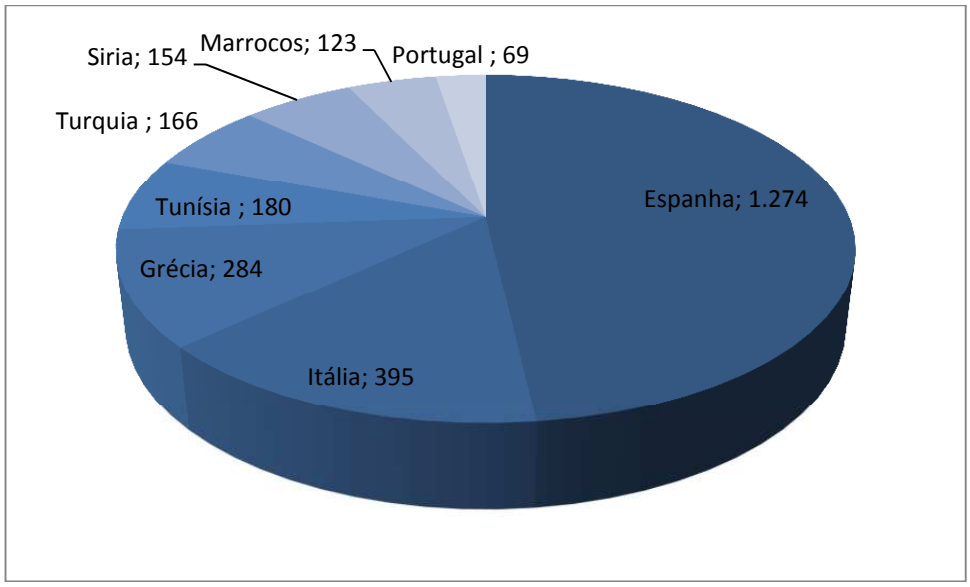
Mais de 11 milhões de hectares de oliva são cultivadas no mundo, espalhados por cinco continentes, dois hemisférios e 47 países onde o azeite de oliva é produzido. Azeitonas cultivadas para produção de azeite são colhidas de outubro a abril no hemisfério norte e de fevereiro a julho no hemisfério sul, embora a grande maioria das olivas do mundo são colhidas na região do Mediterrâneo. Dados mais recentes mostram que o azeite de oliva é consumido em mais de 160 países (INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL- COI, 2015). A cultura da oliveira está presente e mistura-se com o desenvolvimento das civilizações de vários países da Europa, sendo que nas últimas décadas a oliveira foi difundida em vários outros continentes, como: Oceania (Austrália), Américas (Chile, Argentina, Uruguai, Brasil), Africano (África do Sul) e Ásia (China), existindo no mundo mais de 2.000 cultivares de oliveira. Do passado até os dias atuais a utilização de seus produtos e subprodutos se consagram na história. O azeite de oliva é utilizado para iluminar, como medicamento, como cosmético e como alimento; seus frutos utilizados como alimento, sua madeira na fabricação de móveis e utensílios e suas folhas para a produção de chás, cosméticos e ornamento.

Atualmente e segundo os últimos dados disponíveis e estimados (FAO 2014), a produção mundial de oliveira em 2014 foi de 15 milhões de toneladas em uma área de 1.035.183 ha. Esta produção vem oscilando e nos últimos 5 anos e apresentou o menor valor para o ano de 2014 e o maior para 2013, com uma produção aproximada de 22 milhões de toneladas de frutos.

Quando se analisa a média de um histórico de período maior, a Espanha e Itália são os principais países produtores no mundo. Para o último ano analisado, 2014, a Espanha foi o principal país produtor e apresentou uma produção para 2014/2015 de 4,6 milhões de toneladas do fruto, seguida pela Grécia (2,3 milhões de toneladas), Itália (2 milhões de toneladas), Turquia (1,8 milhões de toneladas) e Marrocos com 1,2 milhões de toneladas.

O maior mercado da cultura é o da produção de azeite de oliva, a Espanha e Itália despontam neste mercado no mundo apresentando as maiores médias de produção nos últimos 6 anos. A Espanha apresentou 1 milhão 274 mil toneladas de azeite de oliva, seguido da Itália com 395 mil toneladas de azeite de oliva, Grécia, Tunísia, Turquia, Síria, Marrocos e Portugal, conforme GRAF.1.

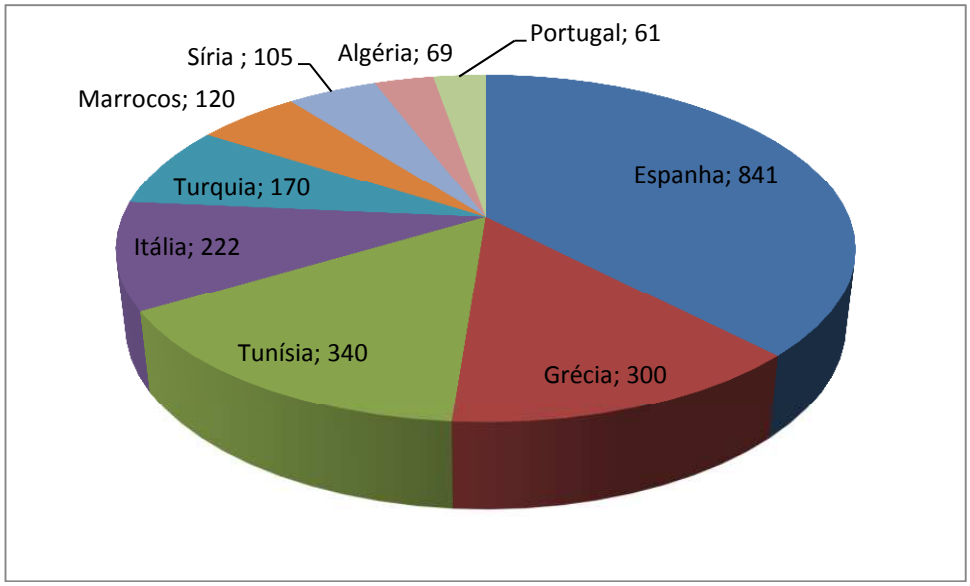
GRÁFICO 1. Valores de produção de azeite de oliva médio dos últimos 6 anos (2010 a 2015) em mil toneladas dos maiores produtores mundiais.



Fonte: Elaborado pelos autores a partir dos dados do COI 2015.

Dados preliminares do COI indicam que a produção mundial 2014/1015 foi de 2.444 milhões de toneladas de azeite de oliva. Países da União Européia representaram 70% deste valor, sendo a Espanha o país que mais produziu azeite de oliva com 841.500 toneladas, seguida da Grécia 300 mil toneladas e Itália 222 mil toneladas, conforme pode ser visto no Graf. 2.

GRÁFICO 2. Estimativas de valores de produção de azeite de oliva ano 2014/2015 em mil toneladas, dos principais produtores mundiais.



Fonte: Elaborado pelos autores a partir dos dados do COI 2015.

Em 2014 na Espanha e na Itália, os maiores produtores de azeite, tiveram baixa colheita de frutos, ou melhor, níveis tão baixos que podem ser comparados aos dos anos 1990-91. Na Espanha, houve uma redução de 54 por cento na produção de azeite: apenas 825.700 toneladas de azeite de oliva em 2014/2015 em comparação com a produção recorde do ano 2013/2014 de 1.780.000 toneladas. A produção na Itália diminuiu de 461,200 toneladas para 302.500 toneladas - uma queda de 34 por cento quando comparamos as safras 2013/2014 e 2014/2015. A colheita de azeitonas da Espanha foi prejudicada pelo clima quente durante o período de floração e pela alta incidência de doenças.

A queda na colheita de azeitonas da Itália foi afetada por uma série de eventos negativos: em junho, uma grande onda de calor causou o secamento das flores colocando em risco a produção de frutos. As frutas sobreviventes também tiveram de lutar contra a alta umidade, chuvas abundantes e pouco sol, em períodos posteriores, condições ideais para doenças e pragas, como é o caso da mosca (*Olea Bactrocera*) que disimou muitos olivais. Outro fator que também contribuiu com esta queda foi a forte chuva de granizo que ocorreu durante o mes de setembro do último ano da análise (2014/2015) na Toscana, local de excelência em produção mas que apresentou colapso da produção, chegando a atingir picos de queda de 90%, mas em média, entre 70 a 50% na queda de produção.

Enquanto isso, alguns países têm experimentado um excedente. Grécia, o terceiro maior produtor de azeite no mundo, conforme Grafico 1. este ano vai estar dentro do alcance do rendimento esperado de 300.000 toneladas, contra 132.000 no ano passado (um aumento de 127%), enquanto a produção da Tunísia aumentou significativamente para 340.000 toneladas (2014/2015) de 70.000 (2013/2014) (um aumento quase que cinco vezes) de acordo com estimativas do COI.

As importações mundiais de azeite de oliva é uma crescente desde o ano de 2008/2009 chegando a um valor de 891 mil toneladas do produto. Os principais países importadores de azeite de oliva do mundo foram, segundo a estimativa dos últimos dados do COI de 2014/2015, os EUA (294,5 mil toneladas), Espanha (102 mil toneladas), Itália (79,3 mil toneladas) e Brasil (66,5 mil toneladas). Vale ressaltar que Espanha e Itália importam em parte estes azeites da Tunísia, Grécia entre outros, para engarrafar e revender com suas marcas ao Mundo.

O Brasil é totalmente dependente das importações de azeite de oliva. De acordo com os dados do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior e levando-se em consideração as mercadorias de azeite de oliva que entram no país que são: azeite de oliva virgem, azeite de oliva refinado e outros azeites de oliva, o país importou em 2015, 55.931 toneladas destes. Quando comparamos com o ano anterior, 2014, que houve uma importação de 73.088 toneladas, podemos notar uma queda de aproximadamente 23%, em virtude do agravamento da crise econômica brasileira e desaquecimento do consumo, porém historicamente quando se analisa períodos de tempo maiores, o consumo e importação de azeite de oliva são quase sempre crescentes. Os principais países exportadores de azeite de oliva para o Brasil são: Portugal que historicamente sempre foi o principal exportador para o país desde o Brasil Colônia, seguido por Espanha, Itália, Argentina e Chile que se revezam entre a segunda e quinta posição.

O consumo de azeite de oliva pelo mundo varia de 16,3 kg/por pessoa/por ano no caso da Grécia, seguido pela Espanha com 10,4 kg/por pessoa/por ano e no Brasil este valor encontra-se em 0,4 kg/por pessoa/por ano (COI, 2015), que apesar de baixo, vem crescendo nos últimos anos em

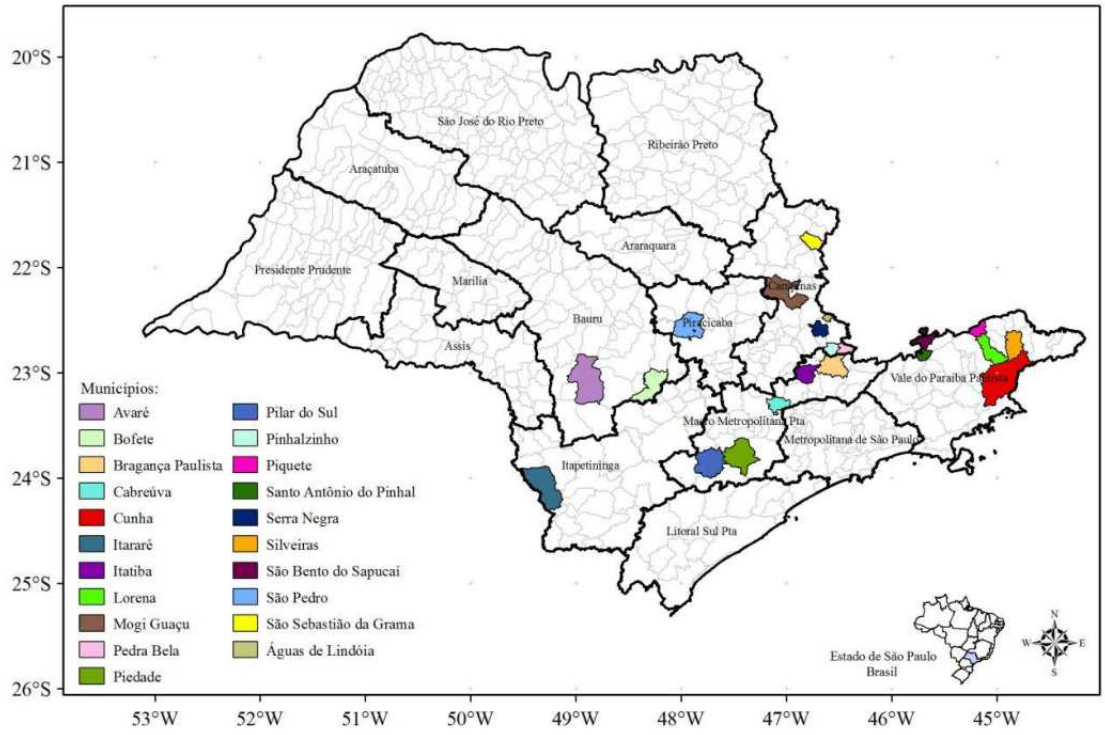
virtude dos inúmeros benefícios que o produto trás para saúde, da disseminação da dieta do mediterrâneo, do maior acesso e conhecimento dos azeites de oliva importados. Entretanto quando verificamos a qualidade de algumas marcas de azeites de oliva importados, um grande desafio é gerado ao mercado interno brasileiro, pois no Brasil não há regulamentação efetiva de controle destes produtos, então produtos vindo de várias partes do mundo, enfrentam uma cadeia logística quase que na sua maior parte não adequada ao produto, passam pelo processo de engarrafamento longe de suas origens e podem ainda sofrer adulterações. Atualmente há inúmeras análises químicas contempladas por normativas internacionais a fim de se evitar estas fraudes, porém estas ainda são atrasadas e ineficientes quando comparadas com o mercado de mistura e adulteração de azeites de oliva.

O desenvolvimento e aperfeiçoamento da produção nacional brasileira da cultura de oliveira para produção de azeite é um grande desafio e vem crescendo nas últimas décadas. Segundo GOMES (1979), algumas iniciativas no país ocorreram no pós guerra, contudo foi apenas nas últimas décadas que especialistas, produtores, pesquisadores e técnicos estão voltados a descrever, adaptar, desenvolver e aperfeiçoar sistemas de produção agrícola, qualidade do produto e mercado da oliveira. Algumas boas experiências em nível de Estados brasileiros, já podem ser vistas com a produção de algumas marcas de azeites nacionais, como é o caso dos estados do Rio Grande do Sul e Minas Gerais.

Em São Paulo a partir de 2009, devido as demandas internas de produtores, a Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, através da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, criou a Portaria APTA nº 230, de 31-3-11 que trata da efetivação da Comissão Técnica para assessoramento técnico-científico da cultura da oliveira no Estado de São Paulo no qual esta comissão é formada por um grupo de pesquisadores especialistas em diversas áreas da cadeia produtiva para estudar e aperfeiçoar a produção interna de azeite de oliva. Atualmente no estado de São Paulo, de acordo com os questionários aplicados pelo grupo, podemos obter um panorama da situação produtiva da cultura.

O estado de São Paulo apresentava segundo dados levantados, até o ano de 2016 uma área de 337,4 hectares implantados com a cultura, totalizando aproximadamente 131.613 plantas no campo. Estas áreas produtivas estavam distribuídas em 21 municípios paulistas, caracterizados de acordo com a divisão por regiões do IBGE, conforme pode ser observado na FIG.1, totalizando aproximadamente 32 propriedades rurais.

FIGURA 1- Municípios paulistas que possuem área implantada com a cultura de oliveira, segundo levantamentos aplicados pelos autores.



As regiões que apresentam maior número de produtores são as regiões de Campinas e Vale do Paraíba Paulista, sendo que a região de Campinas concentra o município que possuía maior área com a cultura da oliveira, que é o de São Sebastião da Grama, com aproximadamente 130 hectares, representando 38% da área total implantada no Estado, conforme TAB.1. Os sistemas de produção de oliveiras mais antigos e ainda existentes, levantados pela pesquisa, no estado de São Paulo datam do ano de 2008 em diante, sendo assim ainda muito recente para obtermos dados para caracterização do olival e comparação com dados das regiões produtores do mediterrâneo. No Estado, apesar de algumas pequenas extrações de azeite, ainda não temos

nenhum produtor que tenha obtido dados de produção de azeite por mais de 5 anos.

TABELA 1- Municípios paulistas que possuem área implantada com a cultura de oliveira, valor da área implantada (hectares) e número de plantas no campo.

Municipio do olival	Área Olival (ha)	Numero de plantas
Avaré	7,20	3000
Aguas d Lindoia	5,00	2000
Bofete	1,60	650
Bragrança Paulista	1,20	480
Cabreúva	3,50	1400
Cabreúva	0,30	120
Cunha	3,00	1200
Itararé	12,50	5000
Itatiba	7,50	3000
Lorena	9,60	4000
Mogi Guaçu	0,80	245
Pedra Bela	10,00	4000
Pedra Bela	4,00	1600
Pedra Bela	6,00	2400
Pedra Bela	0,10	40
Piedade	0,32	128
Pilar do Sul	0,47	190
Piquete	7,50	3000
Pinhalzinho	3,00	1080
Santo Antonio do Pinhal	2,50	1000
Santo Antonio do Pinhal	13,00	5100
São Bento do Sapucaí	2,00	900
São Bento do Sapucaí	7,00	2800
São Bento do Sapucaí	19,90	8000
São Bento do Sapucaí	1,00	400
São Pedro	7,00	3000
São Sebastião da Grama	80,50	32.880
São Sebastião da Grama	49,00	15000
Serra Negra	46,00	18500
Serra Negra	3,70	1500
Silveiras	7,20	3000
Silveiras	15,00	6000
TOTAL	**337,39**	**131.613**

Através das visitas técnicas realizadas por parte da equipe técnica do trabalho, juntamente com as informações obtidas através da Associação ASSOLIVA e da OlivaBR, pode-se notar que a maioria das propriedades rurais que cultivam oliveira configuram-se como de pequenos produtores, porém com alto grau de instrução. Muitos iniciaram a produção sem saber muito sobre o cultivo em condições brasileiras. A maioria destes cultivos estavam com 3-7 anos de idade. As principais variedades de oliveira plantadas no estado vão de Arbequina, Arbosana, Ascolana, Coratina, Frantoio, Grapolo, Leccino, Koroneiki, Maria da Fé, Picual, sendo estas variedades para a produção de azeite e adquiridas exclusivamente de três empresas: Agromillora (Empresa espanhola que trabalha, dentre outras espécies, com cultivares de oliveira, sendo a primeira empresa comercial a introduzir mudas desta planta no país), a Epamig (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais que através de suas pesquisas desenvolveu um cultivar mais adaptado às condições brasileiras e a Tecnoplanta do Rio Grande do Sul.

Assim como a azeitona e o azeite de oliva que têm propriedades importantes para a saúde humana. As folhas de oliva são usadas tradicionalmente como remédio na forma de extrato, chás ou em pó na Europa e países do mediterrâneo para curar certas doenças. Sendo que muitos desses produtores de azeite europeus pagam uma taxa aos produtores de oliva para Disponibilização das folhas de oliva (OZCAN; MATTHAUS, 2017).

Historicamente as folhas de oliva foram usadas como remédio para febre e doenças como malária podendo também serem usadas como: antimicrobiano tendo atividade contra viroses, retroviroses, bactérias, fungos, leveduras e outros parasitas, gastroprotetor, hipotensivo e problemas do coração (CIAFARDINI et al, 2002; BISIGNANO et al, 1999; MARKIN e DUEK 2003; AZIZ et.al, 1998; DEKANSKI, 2009; KHAYYAL et al, 2002.

No Brasil as condições tropicais, favorecem o crescimento vegetativo da planta, o que faz com que especialmente nas épocas de podas, gere-se muita folha, obtidas por este processo de manejo do olival, com baixo indice de aproveitamento.

De acordo com SIMÕES et al (2004), alguns flavonóides são responsáveis por atividades antiinflamatórias e antimicrobianas. Segundo

COWAN (1999), os terpenos são ativos contra bactérias, vírus, fungos e protozoários. Terpenos são citados por apresentarem atividade antimicrobiana contra várias bactérias, tais como: *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtillis*, *S. aureus, V. cholerae, Pseudomonas aeruginosa* e menor atividade contra *Candida albicans*, dependendo do terpeno. Assim estes compostos podem estar envolvidos, isoladamente ou em associação, na atividade antimicrobiana do extrato hidro-alcoólico das folhas. Mesmo não tendo sido realizada a análise da composição química das folhas, trabalhos mostram que estas são ricas em compostos fenólicos. O trabalho de PEREIRA et al, 2007 mostrou que o uso das folhas de oliva como nutracêutico pode diminuir o risco de infecções microbianas, particularmente no trato intestinal e respiratório principalmente por causa dos compostos fenólicos.

As folhas de oliveira contêm diferentes grupos de componentes tais como: iridóides , polifenóis, flavonas e hidratos de carbono (GARIBOLDI , et al. 1986; HEIMLER et al, 1992. ; LE TUTOUR E GUEDON , 1992). A oleuropeína, um secoiridoide fenólico, é usado como o composto marcador típico de extractos fazendo parte da Farmacopéia Européia 5, e sua concentração é significativamente maior nas folhas do que nos frutos ou óleo, podendo ser responsável por inúmeros benefícios da utilização dos diferentes tipos de extratos contento folhas.

Para a atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de oliveira, os resultados podem ser visto na TAB.2.

TABELA 2- Concentração inibitória mínima do extrato etanólico bruto das folhas de oliveira das variedades Arbosana e KoroneiKI frente aos diferentes microrganismos.

	CIM mg/mL							
Amostras	*C. albicans*	*P. aeruginosa*	*E. coli*	*E. hirae*	*S. aureus*	*S. epidermides*	*S. enteritides*	*S. choleraesuis*
Extrato KF	*	*	1	*	2	*	0,35	0,5
Extrato AF	*	*	2	*	2	*	*	*

Legenda: Extrato KF = Extrato de folhas da variedade Koroneiki, Extrato AF = Extrato de folhas da variedade Arbosana

O trabalho aqui apresentado mostrou que para as duas variedades estudadas, as folhas da variedade Koroneiki foram as que melhor desempenharam atividade antimicrobiana para a *Salmonella choleraesuis*, (podendo ser encontrada em suinos).

A salmonelose em suínos é responsável por elevar os custos da produção pelo fato da necessidade de utilização de antibióticos e do aumento de mortalidade, em especial nos animais mais jovens, possuindo importância na saúde pública, pois pode ser responsável por surtos de infecções e toxinfecções alimentares. Os suínos atuam como reservatório deste agente, então seu controle se faz importante para os produtores de carne suína, (Weiss, 2002).

Da mesma forma para a *Salmonella enteritidis,*o extrato da folha da variedade Koroneiki foi o que apresentou melhores resultados*.* A *S. enteritidis* é uma bactéria que pode estar presente em frango de corte, produzindo várias implicações para a saúde pública. Esta bactéria se dissemina cada vez mais, devido ao processo de criação intensivo e ao uso indiscriminado de antibióticos na ração, possibilitando o desenvolvimento de bactérias resistentes, sendo a maior causa de surtos de enfermidades transmitidas por alimentos em alguns países como os EUA. Alimentos de origem animal como carne de aves, ovos e derivados, continuam sendo os principais responsáveis por esta infecção podendo provocar quadro diarréico grave e óbito, principalmente em crianças e idosos, ou pessoas com baixa imunidade. Nas aves, a importância da salmonelose, deve-se ao elevado prejuízo causado pela mortalidade, queda na produção de ovos e perda de peso devido à baixa conversão alimentar (CARDOSO E TESSARI, 2013).

Apresentando menor atividade, mas em intensidade mediana a fraca, ambas as variedades apresentaram atividade para a *Escherichia coli*, sendo o extrato da variedade Koroneiki o que apresentou também, melhor resultado. A *E. coli* é a bactéria mais comum e antiga do homem, gram-negativa e que pode ocasionar intoxicação alimentar nos seres humanos, sendo este um organismo indicador da contaminação fecal em amostra de alimentos, uma vez que constitue a flora intestinal humana. Já apresentando atividade antimicrobiana considerada fraca (2mg/mL), ambas as variedades tiveram comportamento igual para a *Staphylococcus aureus.* Esta é uma bactéria gram-positiva encontrada geralmente na pele de pessoas saudáveis e nas fossas nasais, podendo provocar infecções de grau leve à grave. È um patógeno oportunista sendo comum em ambientes hospitalares. Hoje podemos encontrar cepas desta bactéria resistente a meticilina, alternativa terapêutica que atuava na

enzima lactamase, a qual trazia resistência a penicilina (HIRAMATSU et al., 1997). Para os demais microorganismos testados, *Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus hirae e Staphylococcus epidermidis,* os extratos testados não trouxe nenhuma inibição de crescimento para estes,

A olivicultura em condições paulistas, ainda apresenta muitas incógnitas a serem respondidas até a sua completa validação, como por exemplo: quais os melhores cultivares a serem produzidos em nossas condições para a extração de azeite, quais as melhores técnicas e manejo apropriado para estas variedades, qual é a representatividade do manejo de pragas e doenças dentro do custo de produção, uma vez que ainda há inconstâncias de informações sobre o reflexo deste manejo em condições paulistas, qual a produtividade real em nossas condições e seu comportamento ao longo dos anos, qual será o tempo de retorno do investimento do produtor, aplicação e aproveitamento dos coprodutos da cultura, como as folhas, o bagaço, água de lavagem dos maquinários, entre outras. Mas inúmeras são as oportunidades a serem estudadas, no sentido de descrever biologicamente, quimicamente e agronomicamente as variedades que estão sendo implantadas em nosso Estado e País e descobrir aplicações para seus produtos e subprodutos.

Conclusão

Através deste trabalho verificou-se que no que tange ao mercado de azeites, azeites brasileiros e paulistas poderão suprir com qualidade parte desta demanda de mercado, uma vez que no Estado de São Paulo iniciativas de produtores já estão em desenvolvimento. A produção nacional profissionalizada poderia trazer ao mercado consumidor produtos mais frescos, e de maior saudabilidade. O estado de São Paulo tem realizado estudos e acompanhado a evolução dos olivais implantados. Alguns destes ainda em fase de adequação e da busca da melhor condução agronômica, porém visando a excelência na produção. Trabalhar com seus subprodutos também pode trazer lucratividade ao produtor. Neste trabalho podemos notar que as folhas de algumas variedades de oliveira podem apresentar potencial aplicação em diversos mercados como os de ração animal. Neste contexto outros

trabalhos estão sendo realizados pela equipe de modo a agregar cada vez ao desenvolvimento desta cadeia produtiva.

Bibliografia

BOHN, J. **O Grande Livro da Oliveira e do Azeite**, editor Dinalivro, Lisboa, Portugal, 2013. 286p.

ABRUNHOSA, A. O Lado Saudável do Azeite. **Revista Az-zait**, Casa do Azeite, 40-55p.

ALIGIANNIS, N; KALPOTZAKIS, E; MITAKU, S; CHINOU, I.B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two Origanum species. **J. Agric. Food Chem**. v.40, 2001, p. 4168-4170.

AZIZ,N.H; FARAG, S.E., MOUSA, L.A., ABO-ZAID, M.A. COmparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. Microbios, 93, 1998, p.43-54.

BERTONCINI, E.I.; TERAMOTO, J.R.S; PRELA-PANTANO **Desafios para produção de azeite no Brasil**. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/DesafioOliva/index.htm. Acesso em: 12/8/2016.

BISIGNANO, G.; TOMAINO, A.; CASCIO, R.L.; CRISAFI, G.; UCCELA, N.; SAIJA, A. On the in vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. **J. Pharm, Pharmaco**. 51, 1991, p.971-974.

CARDOSO, A. L. S. P; TESSARI, E.N.C. *Salmonella enteritidis* em aves e na saúde pública: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano XI, numero 21, 2013, 27p.

CIAFARDINI, G.; ZULLO, B.A. Microbiological activity in stored olive oil. Int.J.Food Microbiol. 75, 2002, p.111-118.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, v.12, 1999, p.564-82.

DEKANSKI, D.; JANICIJEVIC-HUNDOMAL, S.; TADIC, V.; MARKOVIC, G., ARSIC, I.; MESTROVIC, D.M. Photochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. **J.Serb. Chem. Soc**. 74, 2009, p.367-377.

GARIBOLDI, P; JOMMI, G; VEROTTA, L. Secoiridoids from *Olea europaea*. **Phytochemistry** 25, 1986, p.865–869.

GOMES, P. A olivicultura no Brasil. Edições melhoramentos, 1979, 208p.
HEIMLER, D; PIERONI, A; TATTINI, M; CIMATO, A. Determination of flavonoids, flavonoid glycosides and biflavonoids in *Olea europaea* L. leaves. **Chromatographia** 33, 1992, p.369–373.

HIRAMATSU K, HANAKI H, INO T, YABUTA K, OGURI T, TENOVER FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother, 40, 1997, p.135-136. Acessível em: http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/40/1/135

KHAYYAL, M.T.; EL-GHAZALY M.A.; ABDALLAH, D.M.; NASSAR, N.N.; OKPANYI, S.N.; KREUTER, M.H. Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (Olea europaea) in L-NAME induced hypertension in rats. ***Arzneimittelforschung***, 52(11), 2002, p. 797-802.

LE TUTOUR, B; GUEDON, D. Antioxidative activities of *Olea europaea* leaves and related phenolic compounds. **Phytochemistry**, 31, 1992, p.1173–1178.

MARKIN, D., DUEK, L., BERDICEVSKY, I. In vitro antimicrobial avtivity of olive leaves. **Mycoses**. 46, 2003, p.132-136

NCCLS., 2002a. Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica – 2ª. edição, M27-A2, 22, 15.

NCCLS., 2002b. Referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica dos fungos filamentosos, M38A, 22, 16.

NCCLS., 2003. Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico - 6ª. edição, M7-A6, 23, 2.

INTERNACIONAL OLIVE COUNCIL - COI. International Olive Oil Production – Costs Study. Outubro de 2015. Disponível em: http://www.internationaloliveoil.org/documents/index/1815-international-olive-oil-production-costs-study?lang=en_US. Acesso em: 16 fevereiro 2016.

OZCAN, M; MATTHAUS, B. A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves**. European Food Research & Technology,** vol. 243 Issue 1, 2017, p89.

PEREIRA, A.P; FERREIRA, I.C.F.R; MARCELINO, F; VALENTÃO, P; ANDRADE, P.B. SEABRA, R; ESTEVINHO, L; BENTO, A; PEREIRA, J.A. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (Olea europea L. Cv. Cobrançosa) Leaves. **Molecules.** 12, 2007, p.1153-1162.

Proteste, Azeites decepcionam novamente em teste do Proteste. Disponível em:https://www.proteste.org.br/institucional/imprensa/press-release/2016/azeites-decepcionam-novamente-em-teste-da-proteste, agosto de 2016 e dezembro de 2013.

SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. 1102p.

WEISS, L.H.N. et al. Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras., v. 2, n. 3, 2002, p. 104-108.

DADOS AUTORES

Juliana Rolim Salomé Teramoto- Graduada em 2001 em Engenharia Agronômica pela Universidade de São Paulo (Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"ESALQ/ USP), sendo bolsista CAPES e CNPQ (entre os anos 1997-2001). Mestre em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) sob a orientação de Ricardo Ferraz de Oliveira com bolsa CAPES (2005-2007) e especialista em Gerenciamento Ambiental pela Universidade de São Paulo (ESALQ/ USP) ano 2003. Atualmente é pesquisadora científica do Instituto Agronômico (IAC) na área de Fitoquímica. Tem experiências em bioquímica de produtos vegetais (química orgânica e analítica), atuando principalmente com produtos agrícolas alimentares, nutrientes e compostos ativos. Email: juliana@iac.sp.gov.br.

Raquel Castelluci Caruso Sachs- Engenheira Agrônoma pela Universidade de São Paulo (1998), Licenciada em Ciências Agrárias pela Universidade de São Paulo (2001), mestre em Economia Aplicada pela Universidade de São Paulo (2002) e doutora em Economia Aplicada pela Universidade São Paulo (2015). Atualmente é pesquisadora científica V da Agência Paulista de Teconologia dos Agronegócios - Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (APTA/SAA). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Estatística, atuando principalmente nos seguintes temas: métodos econométricos; cana-de-açúcar; setor sucroenergético e desenvolvimento regional. Email: raquelsachs@apta.sp.gov.br

Vera Lúcia Garcia Rehder- Graduada Química pela Universidade Federal de São Carlos (1980), mestrado em Química pela Universidade Federal de São Carlos (1984) e doutorado em Química pela Universidade Estadual de Campinas (1991). Atualmente é pesquisador B no Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da UNICAMP. Tem experiência na área de Química, com ênfase em Semi-síntese de produtos naturais e Fitoquímica de Plantas Medicinais, atuando principalmente em projetos multidisciplinares nas seguintes linhas de pesquisa: 1- Semi-síntese de derivados de produtos naturais, 2- Estudos químicos de plantas medicinais bioguiados por ensaios de atividades anti-parasitária (esquistossomose e

estrongiloidiase), microbiológica, antiproliferativa,entre outras, destacando as seguintes plantas do gênero Phyllanthus, Mikania, Aldama (Viguiera), entre outros; 3- Extração, análise e isolamento de compostos de Óleos essenciais de interesse farmacêutico e cosmético. Credenciada nos cursos de pós-graduação Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos do IB da UNICAMP. Email: rehder@cpqba.unicamp.br

Marta Cristina Teixeira Duarte- Possui graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1982), Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Atualmente é pesquisadora A da Universidade Estadual de Campinas na Divisão de Microbiologia do CPQBA/UNICAMP, Diretora Associada do CPQBA/UNICAMP e Professora plena dos programas de pós-graduação em Odontologia da FOP/UNICAMP - Piracicaba e de Ciência de Alimentos da FEA/UNICAMP. Tem experiência na área de Microbiologia, com ênfase em Bioquímica de Microrganismos, atuando principalmente nos seguintes temas: Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas, Enzimologia, Fermentações e Microbiologia do Ar. Email: mduarte@cpqba.unicamp.br

Adriana da Silva Santos de Oliveira- Atualmente trabalha na Divisão de Química Orgânica e farmacêutica do Centro Pluridisciplinar de Pequisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da UNICAMP. Tem experiência na área Química, com ênfase em cromatografia e produtos naturais, atuando principalmente nos seguintes temas: análises cromatográficas, isolamento de princípios ativos de plantas, estudos de óleos essenciais, etc. E-mail: adriana@cpqba.unicamp.br