

LAURA CIRIBELLI BORGES DOMINGUETE

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
COMPOSTOS BIOATIVOS DE FRUTOS DE OLIVEIRA
AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO**

Faculdade de Farmácia, UFMG

Belo Horizonte, MG

2016

LAURA CIRIBELLI BORGES DOMINGUETE

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
COMPOSTOS BIOATIVOS DE FRUTOS DE OLIVEIRA
AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos – PPGCA – da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Beatriz Abreu Glória

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Camila Argenta Fante

Faculdade de Farmácia, UFMG

Belo Horizonte, MG

2016

Dominguete, Laura Ciribelli Borges.

D671c Características físico-químicas e compostos bioativos de frutos de oliveira ao longo do desenvolvimento / Laura Ciribelli Borges Dominguete. – 2016.

75 f. : il.

Orientadora: Maria Beatriz Abreu Glória.
Co-orientadora: Camila Argenta Fante

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. *Olea europaea L* – Teses. 2. Frutos de oliveira – Teses. 3. Azeitona – Teses. 4. Azeite – Teses. 5. Compostos fenólicos – Teses. 6. Aminoácidos – Teses. 7. Aminas bioativas – Teses. I. Gória, Maria Beatriz Abreu. II. Fante, Camila Argenta. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 634.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Características físico-químicas e compostos bioativos de frutos de oliveira ao longo do desenvolvimento

LAURA CIRIBELLI BORGES DOMINGUETE

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 11 de agosto de 2016, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Dra. Maria Beatriz de Abreu Gloria - Orientadora

Profa. Dra. Camila Argenta Fante - Coorientadora e Presidente da Comissão

Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo

Profa. Dra. Flavia Beatriz Custodio

Pesq. Dr. Pedro Henrique Abreu Moura

Belo Horizonte, 11 de agosto de 2016.

Dedico este trabalho à minha família, em especial ao meu marido, Daniel; à minha mãe, Maria Aparecida; aos meus irmãos, Otávio e Álvaro, e aos meus queridos sobrinhos José Pedro e Maria Antônia.

“Agora, portanto, permanecem fé, esperança, caridade, estas três coisas. A maior delas porém, é a caridade” 1 Coríntios 13,13.

Agradecimentos

A Deus, que na presença do Espírito Santo, me acompanha em todas as etapas de minha vida, me dando saúde, força, amor, motivação e alegria para seguir fazendo Sua vontade! A Ele, toda honra e toda glória sejam dadas;

À Maria Santíssima, minha eterna mãezinha e intercessora;

Ao meu marido Daniel, por todo companheirismo, apoio, compreensão, motivação e amor tão fundamentais, e a todos da família Dominguetes;

À minha mãe, Maria Aparecida, meu maior exemplo de fé, fortaleza, sabedoria e amor;

Aos meus irmãos Otávio e Álvaro, meus grandes amigos, meus exemplos; e a todos os meus familiares, pelas orações, apoio e amor;

À minha orientadora, Dra Maria Beatriz de Abreu Glória, pela oportunidade, por acreditar em mim e por ser este exemplo profissional;

À minha co-orientadora, Dra Camila Argente Fante, pelo privilégio de suas orientações e pela motivação que me concedeu;

À EPAMIG (Maria da Fé) que gentilmente cedeu as amostras para a realização deste trabalho, em especial aos pesquisadores doutores Pedro Henrique Abreu Moura e Luiz Fernando Oliveira da Silva, que foram tão solícitos em todo o tempo;

À CAPES, pela bolsa de Mestrado e pelo papel essencial que desempenha no meio científico no nosso país;

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica de Alimentos: Nilton, Andrezza, Edinéia, João, Patrícia, Letícia, Warley, José Maria, Raquel, Guilherme, Caroline, Bruno. Agradeço imensamente às queridas Gisela e Flávia, que incansavelmente me auxiliaram com todo carinho e competência;

À Aisa, por sua presença, dedicação e auxílios essenciais para que cumprisse esta etapa;

À Isabel, Débora e Júlia, pelos auxílios no laboratório, tão importantes;

Ao Danilo Bastos, por sua valiosa contribuição em estatística;

À Kátia Carvalho, por seus auxílios fundamentais e sua boa vontade sem medida;

A todos colegas da pós-graduação, especialmente ao Mauro, Luciana, Gustavo, Natália, Aline, Ronália, Elaine, Bárbara, Verônica e Michael, por terem tornado esta caminhada mais especial;

A todos os funcionários da Faculdade de Farmácia da UFMG, especialmente a Úrsula, Batista e Arlene, e a todos os professores do Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia;

À professora Raquel Linhares por ter-me permitido usar as dependências de seu laboratório;

Aos amigos da Santíssima Trindade, da São Mateus e do EJC, por tornarem minha vida mais feliz;

Ao Tio Totó, por sua presença e palavras de sabedoria;

E a todos que acreditaram em mim e, de alguma forma, contribuíram para que este trabalho fosse realizado. Deus lhes recompense!

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	12
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	13
INTRODUÇÃO.....	14
REVISÃO DA LITERATURA.....	17
1. PRODUÇÃO E CONSUMO DOS PRODUTOS DA OLIVEIRA.....	17
1.1. Panorama mundial.....	17
1.2. Olivicultura e produção de azeitonas no Brasil.....	19
2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA OLIVEIRA (<i>Olea europaea L.</i>) E DE SEUS FRUTOS.....	20
3. COMPOSIÇÃO DOS FRUTOS DA OLIVEIRA.....	24
3.1. Compostos bioativos em produtos da oliveira.....	26
3.1.1. Compostos fenólicos.....	27
3.1.2. Aminas bioativas.....	30
3.1.2.1. <i>Poliaminas</i>	32
3.1.2.2. <i>Aminas biogênicas</i>	35
MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
1. MATERIAL.....	38
1.1. Amostras.....	38
1.2. Reagentes.....	39
2. MÉTODOS.....	40
2.1. Caracterização física dos frutos.....	40
2.2. Determinação da relação polpa/caroço dos frutos.....	40
2.3. Determinação do teor de umidade.....	40
2.4. Determinação dos teores de lipídeos totais.....	41
2.5. Determinação dos teores de compostos fenólicos totais.....	41
2.6. Determinação dos teores de aminoácidos livres e aminas bioativas.	42
2.6.1. Otimização da extração de aminas bioativas em azeitona.....	42
2.6.2. Determinação de aminas bioativas por cromatografia líquida de alta eficiência.....	43

SUMÁRIO (continuação)

2.6.3. Determinação de aminos bioativas e aminoácidos livres por cromatografia líquida de ultra eficiência.....	44
2.7. Análise estatística.....	45
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AZEITONAS.....	47
1.1. Dimensões longitudinal e transversal.....	47
1.2. Massas.....	48
1.3. Relação polpa/caroço.....	50
2. TEORES DE UMIDADE E LIPÍDEOS.....	51
2.1. Teor de umidade.....	52
2.2. Teores de lipídeos.....	53
3 AMINOÁCIDOS LIVRES.....	54
4. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	55
5. AMINAS BIOATIVAS.....	57
5.1. Otimização de método de extração de aminos bioativas nas azeitonas.....	57
5.2. Teores de aminos bioativas por CLAE par iônico.....	59
5.3. Teores de aminos bioativas por UPLC.....	59
6. CORRELAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS ANALISADOS.....	62
CONCLUSÕES.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
APÊNDICE.....	75

RESUMO

A oliveira, planta de clima temperado da família oleaceae, tem sido cultivada em diversos países do mundo, incluindo o Brasil. Estudos que caracterizem as cultivares cultivadas neste país, como Arbequina e Grappolo 541 podem contribuir para a produção de azeites e azeitonas de mesa de alta qualidade. No presente trabalho, objetivou-se avaliar parâmetros físico-químicos e compostos bioativos de frutos de oliveira das cultivares Arbequina e Grappolo 541, cultivados em Maria da Fé, MG, colhidos aos 86, 106, 124, 141, 162 e 177 dias após a antese ou floração. Foram avaliadas dimensões físicas (diâmetros longitudinal e transversal, massa média e relação polpa/caroço), teores de lipídeos totais, umidade, aminoácidos livres, fenólicos totais e aminas bioativas dos frutos. Os parâmetros físico-químicos foram avaliados por metodologias oficiais e a análise de aminoácidos e aminas bioativas por cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC). Ambas as cultivares apresentaram um aumento linear de suas dimensões físicas ao longo do tempo, sendo a cultivar Grappolo 541 a que apresentou maiores dimensões no último tempo avaliado, e portanto a que mais se adequou à produção de azeitonas de mesa nas condições do presente estudo. Os teores de umidade e de fenólicos totais reduziram, e os teores de lipídeos totais aumentaram para ambas as cultivares, sendo a cultivar Arbequina a que apresentou maior teor de lipídeos ao final, e portanto, foi a mais apropriada para a obtenção de azeite de oliva. Dentre os 17 aminoácidos pesquisados, foram encontradas prolina, arginina e tirosina nos frutos, sendo tirosina a de maior prevalência tendo apresentado alta correlação com fenólicos totais. A arginina foi encontrada apenas nos dois últimos tempos de colheita, e a prolina, encontrada na cultivar Arbequina em sua maturidade fisiológica. Dentre as aminas bioativas livres avaliadas, histamina, agmatina e feniletilamina foram as únicas encontradas nos frutos. A histamina, amina bioativa mais prevalente, foi encontrada durante todo o desenvolvimento dos frutos. Já a feniletilamina, foi encontrada no início do desenvolvimento dos frutos. A agmatina foi encontrada apenas na cultivar Grappolo 541. Mais estudos devem ser conduzidos afim de se compreender melhor a função dessas aminas no desenvolvimento dos frutos da oliveira.

Palavras-chave: *Olea europaea L.*, frutos de oliveira, compostos fenólicos, aminoácidos, aminas bioativas.

ABSTRACT

The olive tree, temperate plant from oleaceae family, has been grown in several countries, including Brazil. Studies characterizing the cultivars adapted to this country as Arbequina and Grappolo 541 may contribute to the production of olive products of high quality. The objective of this study was to investigate the physicochemical characteristics and bioactive compounds in Arbequina and Grappolo 541 olives cultivated in Maria da Fé, MG, Brazil, harvested at 86, 106, 124, 141, 162 and 177 days after anthesis or bloom. Physical dimensions (longitudinal and transversal diameters, mass and pulp-stone ratio - PSR) and contents of total lipids, moisture, total phenolics, free amino acids and bioactive amines were determined. The physicochemical parameters were evaluated by official methods and analysis of amino acids and bioactive amines by ultra performance liquid chromatography (UPLC). Both cultivars showed linear increase in physical dimensions with time; Grappolo 541 had larger dimensions and higher increase rates; it was the best table olive. Moisture and phenolics contents decreased with time, whereas lipids increased for both cultivars. Ripened Arbequina had higher lipids contents which is desirable for olive oil. Free proline, arginine and tyrosine were found in the olives. Tyrosine was detected throughout development and correlated positively with phenolics. Arginine was detected in both cultivars when the fruit reached physiological maturity. Proline was detected only in Arbequina at physiological maturity. Among the ten amines investigated, only histamine, agmatine and phenylethylamine were detected, and histamine was the most prevalent. Agmatine was present only in Grappolo 541, and phenylethylamine in both cultivars but only in early stages of development. Histamine levels increased in Arbequina, but decreased in Grappolo 541 in early development stages. Agmatine was detected throughout development. Studies should be conducted to further investigate the functions of these amines in the olive fruit.

Keywords: *Olea europaea L.*, olive fruit, phenolics, amino acids, bioactive amines.

LISTA DE FIGURAS

1	Produção mundial de azeitonas, em toneladas, no período de 2013 a 2014.....	17
2	Importações de azeite de oliva no Brasil, de 1980-2014.....	18
3	Anatomia da azeitona <i>in natura</i> , em corte transversal.....	21
4	Estádios do desenvolvimento do fruto da oliveira	22
5	Azeitonas das cultivares Arbequina – A e Grappolo 541 – B.....	24
6	Classificação e estrutura química de algumas aminas bioativas.....	31
7	Via metabólica das poliaminas e do etileno.....	33
8	Vias metabólicas de formação das aminas biogênicas	36
9	Foto ilustrativa de azeitonas Grappolo 541 e Arbequina (quarta coleta) preparadas para o transporte para a UFMG	39
10	Quarteamento feito com os frutos de azeitonas para a determinação da relação polpa/caroço.....	41
11	Massas médias (g) de azeitonas Arbequina e Grappo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG durante o desenvolvimento (86, 106, 124, 141, 162 e 177 dias após antese).....	49
12	Teores de compostos fenólicos totais (g EAG/100 g) em base seca durante o desenvolvimento (86, 106, 124, 141, 162 e 177 dias após antese) de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG.....	56
13	Frequência de ocorrência de aminas bioativas em azeitonas das cultivares Arbequina e Grappolo 541 durante o desenvolvimento (86, 106, 124, 141, 162 e 177 dias após antese).....	59
14	Teores de aminas bioativas em azeitonas das cultivares Grappolo 541 (A) e Arbequina (B) durante o desenvolvimento de 86 a 177 dias após antese.....	61

LISTA DE TABELAS

1	Gradiente de eluição para as fases móveis: (A) solução tampão de acetato de sódio 0,2 mol/L e octanosulfonato de sódio 15 mmol/L e (B) acetonitrila utilizadas na determinação de aminas por HPLC.....	44
2	Gradiente das fases móveis utilizado para a separação das aminas bioativas e aminoácidos livres nos extratos de azeitona por UPLC.....	45
3	Diâmetro longitudinal (DL) e transversal (DT) (mm) durante o desenvolvimento das azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG	47
4	Equações das retas e coeficientes de regressão linear dos diâmetros longitudinais e transversais durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG	48
5	Equações das retas e coeficientes de regressão linear das massas médias durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG.....	50
6	Relação polpa/caroço durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fé, MG	50
7	Equações das retas e coeficientes de regressão linear das relações polpa-caroço (RPC) durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG	51
8	Teores de umidade (g/100 g) durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fé, MG	52
9	Equações das retas e coeficientes de regressão linear do teor de umidade durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG	52
10	Teores de lipídeos (g/100 g) em base seca durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fé, MG.....	53
11	Teores de aminoácidos livres avaliados durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fé, MG.....	55
12	Percentuais médios de recuperação de aminas bioativas de azeitonas adicionadas de nove aminas durante extração com ácido tricloroacético 5% e com ácido clorídrico 1 mol/L	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACO: ácido carboxílico oxidase

ACS: ácido carboxílico sintase

ADC: arginina descarboxilase

AQC: 6-aminoquinolil-carbamato de N-hidroxisuccinimidil

CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência

CV: cultivar

DAO: diaminoxidase

DL: diâmetro longitudinal

DT: diâmetro transversal

EAG: equivalente em ácido gálico

EMATER: Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPAGRI: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

EPAMIG: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

FAD: dinucleotídeo de flavina-adenina

GABA: ácido γ -aminobutírico

IAPAR: Instituto Agrônômico do Paraná

INIA: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

ODC: ornitina descarboxilase

OPA: o-ftaldialdeído

PAO: poliaminaoxidase

RPC: relação polpa/caroço

SAM: S-adenosil metionina

SAMS: S-adenosil metionina sintase

SAMDC: S-adenosil metionina descarboxilase

SPDS: espermidina sintase

SPMS: espermina sintase;

TCA: ácido tricloroacético

UCS: Universidade de Caxias do Sul

UERGS: Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

UFPEL: Universidade Federal de Pelotas

UPLC: cromatografia líquida de ultra eficiência

INTRODUÇÃO

Pertencente à família Oleaceae, a oliveira (*Olea europaea*) é uma planta de clima temperado com grande importância e extensivo cultivo pelo mundo, devido a seus frutos serem matérias-primas para a produção de azeitonas em conserva e azeite. Esses produtos apresentam atributos sensoriais e benefícios à saúde que são os principais fatores que os fazem ser cada vez mais consumidos (PESTANA-BAUER, GOULARTE-DUTRA e ZAMBIAZI, 2011). Diversos estudos têm associado o consumo destes alimentos a efeitos benéficos à saúde, como ação antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, prevenção de câncer, de doenças neurológicas, cardiovasculares e circulatórias (PESTANA-BAUER, GOULARTE-DUTRA e ZAMBIAZI, 2011; GHANBARI et al., 2012; AKTAS et al., 2014). A exemplo disso, uma menor incidência de câncer, doenças cardíacas e maior longevidade tem sido observada na região do mediterrâneo, onde o azeite de oliva é componente essencial da dieta alimentar (BINH, SODA e KAWAKAMI, 2010; OMAR, 2010; ZIOGAS et al., 2010). Alguns desses efeitos benéficos à saúde são atribuídos aos ácidos graxos monoinsaturados e principalmente aos compostos fenólicos, presentes nos produtos da oliveira (RIGANE et al., 2011; KHLIF et al., 2015). Estes últimos são responsáveis também por conferir características sensoriais intrínsecas a esses produtos e retardarem a oxidação lipídica principalmente do azeite de oliva (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; CONDE, DELROT e GERÓS, 2008; HBAIEB et al., 2015).

Outros compostos bioativos que também foram recentemente correlacionados a benefícios à saúde pela ingestão dos produtos da oliveira são as poliaminas (BINH, SODA e KAWAKAMI, 2011). As poliaminas fazem parte das aminas bioativas, que são compostos orgânicos nitrogenados de baixo peso molecular, protonados em meio fisiológico, e que apresentam atividade antioxidante e efeitos neuro- e vaso-ativos em organismos vivos (GLORIA, 2005; BANDEIRA, EVANGELISTA e GLÓRIA, 2012; KALAC, 2014). Esses compostos também exercem papéis importantes na planta, conferindo maior resistência a condições de estresse e ao ataque de predadores (AGUDELO-ROMERO et al., 2013; TSANIKLIDIS et al., 2016). Além disso, as aminas são importantes do ponto de vista tecnológico e toxicológico em alimentos, algumas delas podendo ser relacionadas à qualidade de processos fermentativos (GLORIA, 2005; BANDEIRA, EVANGELISTA e GLÓRIA, 2012). São escassos os estudos relatando a ocorrência e evolução de aminas e de seus respectivos aminoácidos precursores ao longo do desenvolvimento dos frutos de oliveira. Os poucos estudos

existentes sobre aminas em frutos de oliveira, investigaram apenas as poliaminas nos tempos iniciais do desenvolvimento (até cerca de 30 dias após a antese ou abertura floral) (GOMEZ-JIMENEZ et al., 2010) ou investigaram o papel das poliaminas durante o desenvolvimento dos frutos da oliveira, com enfoque na abscisão dos frutos (GIL-AMADO e GOMEZ-JIMENEZ, 2012). Sendo assim, não há estudos sobre as aminas bioativas no período intermediário do desenvolvimento desses frutos (a partir de 30 dias após a antese até 170 dias após a antese), o que motiva mais investigações do tema, nesse período específico.

No Brasil, a olivicultura é uma atividade relativamente recente, com destaque no Rio Grande do Sul e Sul de Minas Gerais (COUTINHO, RIBEIRO e CAPPELLARO, 2009; SILVA, 2011). O sucesso do plantio de oliveira depende da escolha da melhor variedade para cada região, que consiste não somente na sobrevivência e produção em quantidade significativa, mas também que se alcance uma produção de azeitonas e de azeite de qualidade, de acordo com padrões internacionais (WREGGE et al., 2015).

Dentre as variedades cultivadas em Minas Gerais, a Arbequina é a cultivar que tem sido mais extensivamente estudada, principalmente por ser cultivada mundialmente (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; CAPELLARO, 2010; BARROS, 2011; HAMMAMI, MANRIQUE e RAPOPORT, 2011; MEFTAH, BOUGHADAD e BOUCHELTA, 2014). Já outras variedades cultivadas no Brasil, como a Koroneiki (CAPELLARO, 2010); Maria da Fé (SOUZA e MARTINS, 2014) Ascolano (linhagem 315) (CARDOSO, 2006) e Grappolo (OLIVEIRA et al., 2012; SOUZA e MARTINS, 2014) tem sido menos intensivamente estudadas, sendo que nenhum estudo foi encontrado a respeito das alterações bioquímicas dos frutos da cultivar Grappolo durante seu desenvolvimento.

Uma vez que a qualidade dos produtos da oliveira está diretamente relacionada à qualidade e composição de seu fruto (PANTANO, BEERTONCINI e WREGGE, 2014; WREGGE et al., 2015), é de grande relevância o estudo da composição físico-química e de compostos bioativos desses frutos em diferentes tempos de desenvolvimento, para que seja feita a colheita no período ideal e para se obter produtos com alta qualidade.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo geral determinar características físico-químicas e compostos bioativos em frutos de oliveira (cultivares Arbequina e Grappolo 541) cultivados em Maria da Fé, MG, do 86º dia após antese até a maturidade fisiológica (177 dias após antese). Os objetivos específicos foram: i) avaliar o crescimento do fruto por meio dos parâmetros físicos; ii) investigar os teores de lipídeos totais e de umidade dos frutos ao longo de seu desenvolvimento; iii) avaliar

o perfil e os teores de aminoácidos livres ao longo do desenvolvimento do fruto; iv) determinar os compostos fenólicos totais e aminas bioativas ao longo do desenvolvimento do fruto; e iv) correlacionar os diferentes parâmetros avaliados.

REVISÃO DA LITERATURA

1. PRODUÇÃO E CONSUMO DOS PRODUTOS DA OLIVEIRA

1.1. Panorama mundial

A oliveira, pertencente à família oleaceae (*Olea europaea L.*), é uma planta eudicotiledônea de clima temperado cuja origem tem sido atribuída à Síria ou Líbia, aonde era cultivada há mais de 10.000 anos a.C. (WREGE et al., 2009; ALAGNA et al., 2012; WREGE et al., 2015). Os maiores volumes de produção, importância econômica e social situam-se na área do mediterrâneo, totalizando uma extensão de cultivo de 8 milhões de hectares, correspondendo a cerca de 98% do cultivo de oliveira de todo o mundo (RIGANE et al., 2011; GHANBARI et al., 2012; TALHAOUI et al., 2015a).

Além da região do mediterrâneo, os frutos da oliveira são cultivados nas Américas do Norte e do Sul, no Norte da África, na Austrália e em alguns países da Ásia, de acordo com dados da *Food and Agriculture Organization of The United Nations* (FAOSTAT, 2014) do período de 2013 a 2014, como pode ser visto na Figura 1.

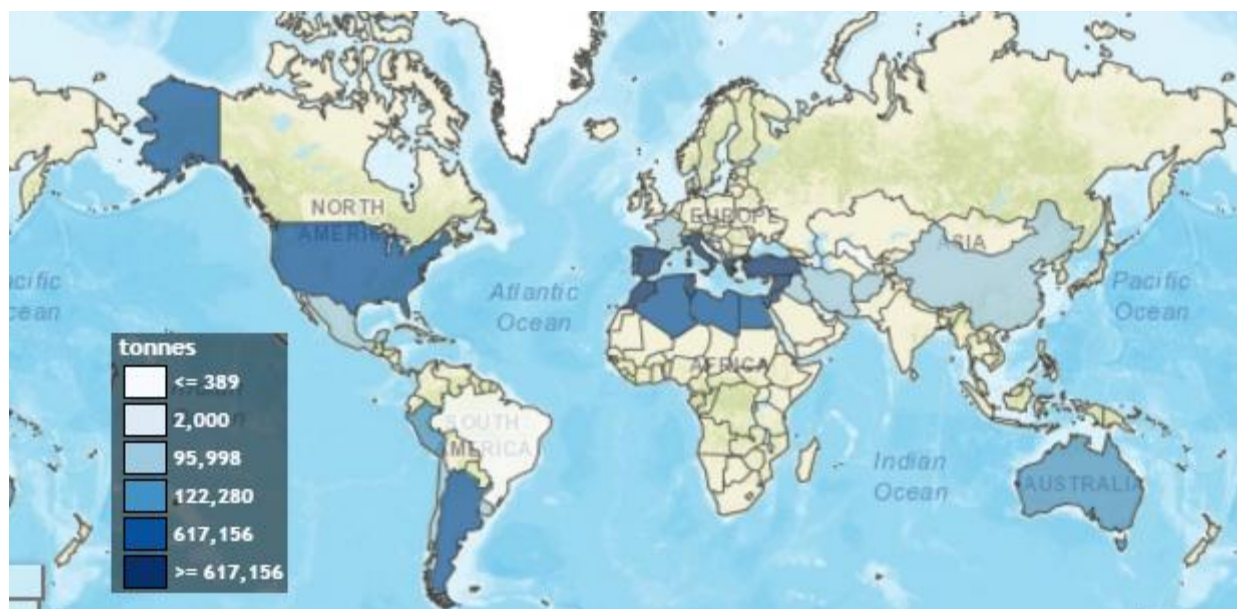


Figura 1. Produção mundial de azeitonas, em toneladas no período de 2013 a 2014. Fonte: FAOSTAT (2014).

A olivicultura possui grande importância mundial devido a seus frutos serem matérias-primas para obtenção de azeitonas de mesa e azeite de oliva, produtos com

atributos sensoriais únicos e compostos bioativos importantes, sendo alguns intensivamente estudados pela ação benéfica à saúde (PESTANA-BAUER, GOULARTE-DUTRA e ZAMBIAZI, 2011; TALHAOUI et al., 2015b).

O Brasil destacou-se como o segundo maior importador de azeitonas de mesa e de azeite de oliva, e situou-se entre os dez maiores consumidores de azeitona de mesa do mundo, em 2015 (CAPPATO et al., 2015; IOOC, 2015). De acordo com dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016), foram importados, no ano de 2015, 58 mil toneladas de azeite de oliva, o que representa 277 milhões de dólares em importações somente com este produto. Dados do *International Olive Oil Council* (IOOC, 2015) mostram o crescimento da importação de azeite de oliva, de 1980 até 2014, no Brasil (Figura 2).

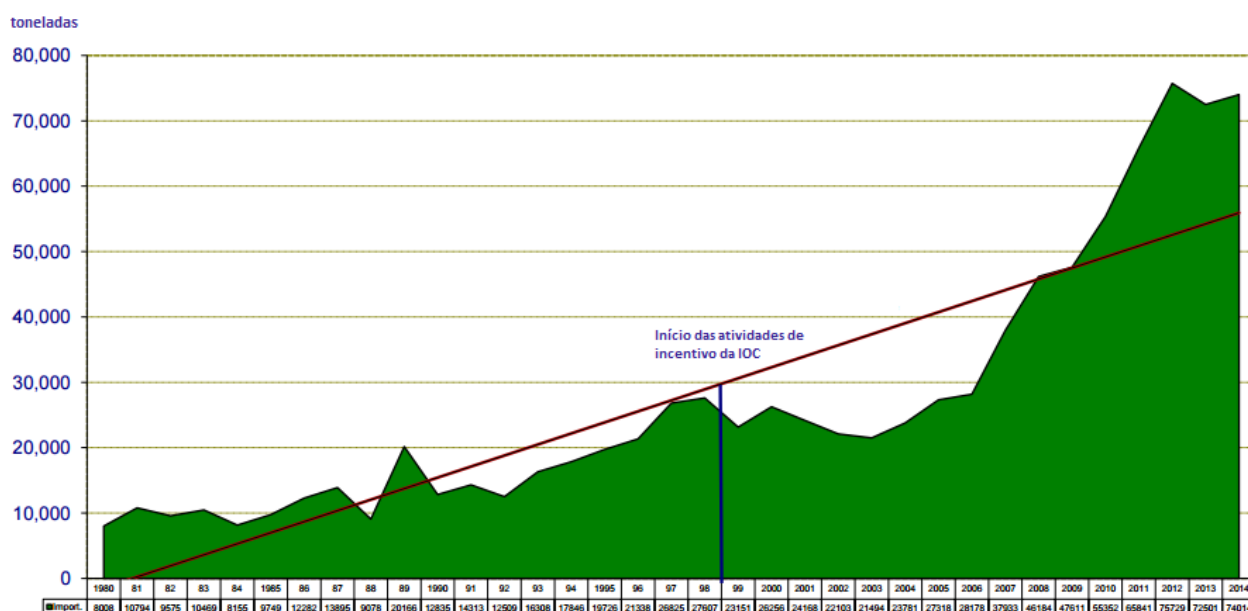


Figura 2. Importações de azeite de oliva no Brasil, de 1980-2014 (Inclui óleo de bagaço de azeitona). Fonte: IOC (2015).

Tais dados reforçam a importância de se investir na olivicultura no Brasil, que embora seja um país tropical, possui um vasto território com regiões de clima e características adequadas ao cultivo da oliveira, e possui potencial para produção de produtos da oliveira de qualidade (CARDOSO, 2006). Esta atividade possui destaque no país no Rio Grande do Sul e no Sul de Minas Gerais, apresentando grande potencial de crescimento (PESTANA-BAUER, GOULARTE-DUTRA e ZAMBIAZI, 2011; SILVA, 2011).

1.2. Olivicultura e produção de azeitonas no Brasil

No Brasil, o cultivo de oliveira ocorre principalmente no Rio Grande do Sul e em Minas Gerais, e se encontra em expansão mais recentemente no estado de São Paulo (PANTANO, BEERTONCINI e WREGGE, 2014).

A olivicultura foi introduzida no Rio Grande do Sul em 1948, por ações da Secretaria de Agricultura (setor oleícola) para a realização de pesquisas, as quais perduraram por mais 40 anos. O município de Uruguaiana foi um dos pioneiros com 72.000 oliveiras plantadas pelo Embaixador Batista Luzardo, sendo as mudas provenientes da Argentina. As azeitonas e azeites produzidos no Brasil foram analisados em laboratórios nacionais e italianos, sendo comprovada a boa qualidade dos produtos brasileiros em relação aos estrangeiros, o que motivou a intensificação da atividade na região. Entretanto, apenas em 2006 foi avaliada a viabilidade do cultivo comercial da oliveira nessa região, por meio de ações conjuntas da Embrapa Clima Temperado (Rio Grande do Sul), Embrapa Semi-Árido, EPAGRI, INIA (Uruguai), IAPAR, EPAMIG, UFPEL, UCS, UERGS, Emater-RS, Câmara de Comércio Portuguesa no Brasil-RS e Empresa Agromillora SA (WREGGE et al., 2009). Os principais municípios do Rio Grande do Sul que mantiveram os plantios comerciais foram Bagé, Cachoeira do Sul, Dom Pedrito, Encruzilhada do Sul, Rio Grande, Santana do Livramento e Vacaria (COUTINHO, RIBEIRO e CAPPELLARO, 2009).

Em Minas Gerais, o cultivo de oliveira teve início em 1935 pelas mãos de Emídio Ferreira dos Santos, um agricultor vindo de Portugal. As primeiras mudas foram plantadas no município de Maria da Fé, localizada no Sul do estado. O interesse pela oliveira foi crescendo e ganhou impulso em 2008, quando ocorreu a primeira extração de azeite extra virgem brasileiro (SILVA, 2011; CANÇADO et al., 2012).

Apesar de possuir um alto valor de investimento para implantação e o tempo de retorno ser relativamente grande, girando em torno de dez anos, a oliveira possui vantagens como uma grande longevidade, produzindo frutos por um período de cerca de 60 anos, além do alto valor agregado de seus produtos, especialmente o azeite. Tudo isso faz com que o cultivo de oliveira no país seja uma promissora alternativa de renda para investidores e produtores rurais (GUATIMOSIM, 2012; CANÇADO et al., 2012). Entretanto a dificuldade de adaptação da oliveira em locais diferentes de seu ambiente de origem, como no Sul de Minas Gerais, exige o uso de variedades melhoradas associado a técnicas de manejo desenvolvidas nas condições dessa região, para se obter melhores produções (LIVRAMENTO e OLIVEIRA, 2006).

Para que as técnicas de manejo sejam capazes de maximizar os recursos ambientais e financeiros existentes no cultivo da oliveira, é necessário conhecer os processos fisiológicos da planta e trabalhar os componentes que determinam a colheita, como: o número de ramos frutíferos, frutos/ramo, rendimento em óleo e tamanho do fruto (LIVRAMENTO e OLIVEIRA, 2006).

Os resultados positivos obtidos com a olivicultura no Brasil indicam que essa atividade pode ser uma alternativa econômica viável para produtores rurais das regiões produtoras no país, o que demonstra que maiores investimentos na olivicultura devem ser feitos, e podem gerar produtos de qualidade comparável e até mesmo superior aos produtos da oliveira existentes no mercado internacional (PESTANA-BAUER, GOULARTE-DUTRA e ZAMBIAZI, 2011).

2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA OLIVEIRA (*Olea europaea L.*) E DE SEUS FRUTOS

A oliveira, pertencente ao grupo das angiospermas eudicotiledôneas, é uma planta de clima temperado que se desenvolve bem em ambientes com verões longos, quentes e secos, devido à sua estrutura xerófita, sendo capaz de suportar temperaturas de até 40 °C. Entretanto, acima de 30 °C ocorre inibição do desenvolvimento do tubo polínico e acima de 35 °C ocorre fechamento dos estomas, mecanismo vegetal para evitar evapotranspiração, prejudicando o desenvolvimento da planta (BARROS, 2011; SILVA, 2011). Para o desenvolvimento vegetativo da oliveira é necessário que a temperatura esteja entre 10 °C e 30 °C; e temperaturas inferiores a - 5 °C podem gerar danos à planta, dependendo da cultivar, limitando assim seu cultivo (BARROS, 2011).

A temperatura é um importante fator que influencia a floração (inicial, plena e final), a polinização e a fixação dos frutos da oliveira (CAPPELLARO, 2010). O florescimento é fortemente influenciado pelas condições ambientais, como ocorre no sul de Minas Gerais, em que algumas oliveiras apresentam variabilidade na floração de um ciclo para o outro, devido à instabilidade térmica do inverno (BARROS, 2011; PANTANO, BEERTONCINI e WREGGE, 2014).

Os processos que levam à frutificação necessitam de dois anos consecutivos, sendo o primeiro ano aquele no qual ocorre a formação de gemas e sua indução, após período de repouso; e o segundo ano, no qual se dá o desenvolvimento da flor, a floração, o crescimento e a maturação do fruto (SILVA, 2011). A temperatura adequada

para a frutificação das oliveiras varia entre 25 °C e 35 °C (PANTANO, BEERTONCINI e WREGE, 2014).

Os frutos da oliveira são drupas que possuem um baixo conteúdo de açúcares, quando comparado a outras drupas, como o pêssego e a cereja, e um teor de lipídeos que pode variar dependendo da época do ano e da variedade em uso. Estas drupas possuem um componente amargo denominado oleuropeína, que apesar do sabor desagradável não é nocivo à saúde (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008; IOOC, 2016).

O fruto da oliveira pode ser dividido em três partes, como está demonstrado na Figura 3, sendo elas: exocarpo ou pele, que consiste do tecido mais externo; mesocarpo ou polpa, que corresponde à parte mais macia e comestível, e o endocarpo ou caroço, que consiste em um revestimento lenhoso que contém uma ou mais raramente, duas sementes (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008).

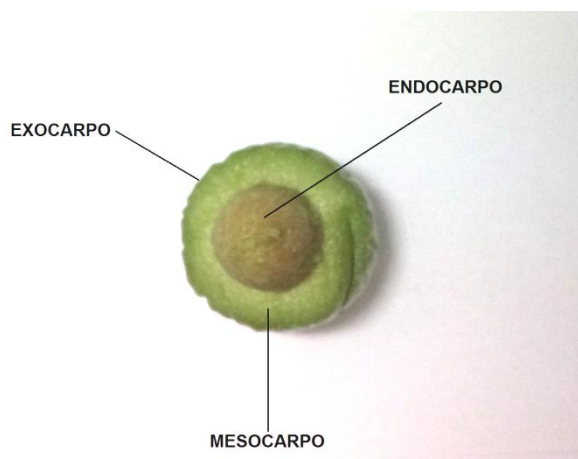


Figura 3. Anatomia da azeitona *in natura*, em corte transversal. Fonte: autoria própria.

Os teores de massa da polpa e endocarpo em relação à massa total em frutos desenvolvidos por completo são respectivamente 70 a 90% e 9 a 27%, variando de acordo com a cultivar, o estágio de maturação e a produção da planta (OLIVEIRA e ABRAHÃO, 2006; CONDE, DELROT e GERÓS, 2008).

A azeitona é um fruto não climatérico, cujo tempo de crescimento e amadurecimento varia em torno de cinco a sete meses, sendo mais lento em condições climáticas cujas temperaturas são menores (GHANBARI et al., 2012; NOGUEIRA, 2012; BELTRÁN et al., 2015). O processo de desenvolvimento do fruto da oliveira pode ser dividido em cinco etapas (Figura 4), predominantemente mas não exclusivamente, na seguinte sequência: (i) fecundação e frutificação, desde a floração até cerca de 30 dias depois, caracterizada por rápida divisão celular que promove o crescimento do

embrião; (ii) desenvolvimento da semente, havendo rápido crescimento do fruto devido à intensa divisão celular e alargamento envolvendo o crescimento e desenvolvimento do endocarpo, com pequeno desenvolvimento da polpa; (iii) endurecimento do caroço, etapa em que o fruto cresce lentamente e as células do endocarpo param de se dividir; (iv) desenvolvimento do mesocarpo, no qual ocorre o segundo maior período de crescimento do fruto, em que as células pré-existentes da polpa se expandem, havendo também intenso acúmulo de óleo; e (v) amadurecimento, fase em que os frutos passam de coloração verde-limão escuro para verde claro-arroxeados, e sua textura se torna mais macia e o fruto adequado para a colheita (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008).

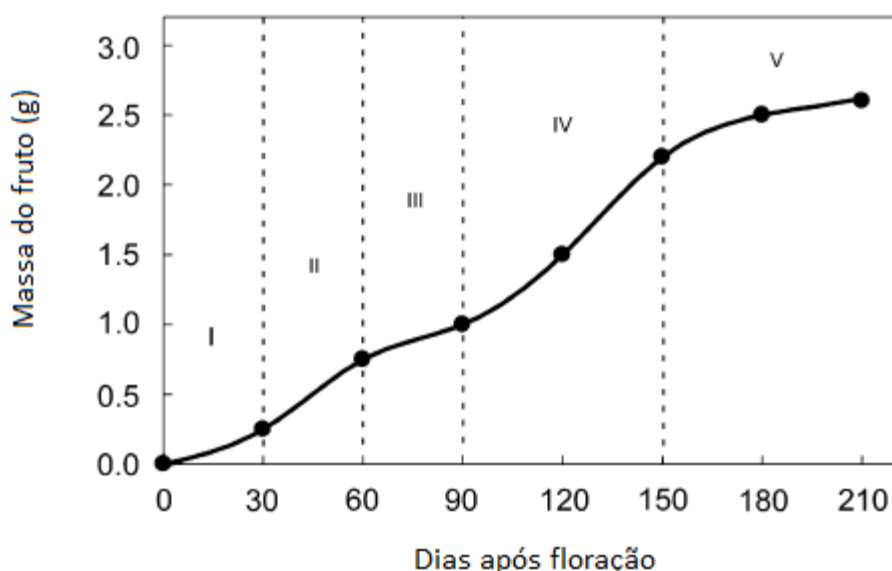


Figura 4. Estádios do desenvolvimento do fruto da oliveira. Estádios I: fecundação e floração; II: desenvolvimento da semente; III: endurecimento do caroço; IV: desenvolvimento do mesocarpo; V: amadurecimento (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008).

O tamanho final do fruto da oliveira é influenciado por fatores externos, como temperatura e disponibilidade de água, e fatores internos como a produtividade da colheita e a genética, sendo também dependente da duração e intensidade da sua fase de divisão celular (GOMEZ-JIMENEZ et al., 2010a; HAMMAMI, MANRIQUE e RAPOPORT, 2011). A qualidade do fruto é avaliada por seu tamanho, pela porcentagem de óleo e pela relação polpa/caroço (LIVRAMENTO e OLIVEIRA, 2006; HAMMAMI, MANRIQUE e RAPOPORT, 2011).

A azeitona, em geral, possui formato elíptico, um diâmetro que varia de 0,6 a 2 centímetros e um comprimento que pode estar entre 1 e 4 centímetros, dependendo da

variedade. As características das diferentes variedades de azeitona, como seu tamanho, composição química e propriedades organolépticas, definirão qual a finalidade mais adequada para cada uma delas, ou seja, se serão destinadas à produção de azeitona de mesa (azeitonas em conserva) ou para a produção de azeite, ou ainda, para ambas as finalidades (FERREIRA, 2015). No que diz respeito à aptidão para produção de azeitonas de mesa, as propriedades mais adequadas para esta finalidade estão relacionadas ao tamanho, sabor, forma, relação polpa/caroço do fruto e facilidade de desprendimento da polpa de seu caroço (NOGUEIRA, 2012).

Para a produção de azeitonas de mesa, que são as azeitonas em conserva, a quantidade de polpa deve ser relativamente maior que o caroço, a massa deve ser superior a 4 g/fruto e é necessário avaliar a forma e textura do mesmo (NOGUEIRA, 2012). A relação polpa/caroço (RPC) é também um parâmetro que pode ser associado ao rendimento em azeite do fruto, uma vez que a azeitona madura contém essencialmente água e óleo, e sua polpa possui mais de 90% do conteúdo lipídico do fruto (RAMALHEIRO, 2009). Entretanto, Oliveira et al. (2012) reportaram alto teor de lipídeos em azeitonas com menor RPC, demonstrando que é necessário mensurar o teor de lipídeos para se conhecer mais precisamente o rendimento em óleo do fruto.

Duas importantes variedades produzidas no Brasil são a Arbequina e a Grappolo, sendo a primeira conhecida e produzida mundialmente. A variedade Arbequina é originária da Espanha e ocupa uma área superior a 55 mil ha na região da Catalunha. Fora do seu local de origem, a Argentina, Estados Unidos, Austrália e Chile são os países que possuem maior extensão de área plantada desta variedade (COUTINHO, 2012). Esta pode ser classificada como uma planta pouco vigorosa, com copa de densidade mediana que possui a finalidade de produção de azeite devido ao seu alto conteúdo de óleo, estando entre 16 e 18%. Seu azeite é considerado de excelente qualidade: é muito frutado, suave, aromático e sem amargor (COUTINHO, RIBEIRO e CAPPELLARO, 2009; NETO et al., 2011; COUTINHO, 2012; MEFTAH, BOUGHAD e BOUCHELTA, 2014). Entretanto, sua estabilidade oxidativa é baixa devido à presença de pequena quantidade de compostos antioxidantes e alto teor de ácidos graxos poli-insaturados (MEFTAH, BOUGHAD e BOUCHELTA, 2014). Corroborando com isso, Hbaieb et al. (2015), recomendam que a colheita dos frutos da cultivar Arbequina para produção de azeites seja feita no estágio de maturação mais precoce, uma vez que uma colheita precoce levaria a uma menor perda de compostos fenólicos presentes no fruto, estes que são responsáveis pela redução da oxidação dos azeites, e que o armazenamento seja por um curto período de tempo, pela mesma razão.

Quando os frutos colhidos da cv. Arbequina (Figura 5A) estão em estágio avançado de maturação, produz-se azeite de frutado maduro com toque de maçã e amêndoa, e ligeiramente doce; e, quando as azeitonas colhidas estão verdes, origina-se azeite de frutado verde com aroma de folhas e ervas (COUTINHO, 2012). Ainda, apresenta grande adaptabilidade a diferentes condições climáticas e de solo, e seus frutos são de formato esférico e tamanho pequeno, o que dificulta a colheita mecânica (COUTINHO, RIBEIRO e CAPPELLARO, 2009; COUTINHO, 2012).



Figura 5. Azeitonas das cultivares Arbequina – A e Grappolo 541 – B. Fonte: EPAMIG – Maria da Fé, MG.

A cultivar Grappolo (Figura 5B) pode ser classificada como uma planta de vigor médio e tem origem na Itália (NETO et al., 2011; CANÇADO et al., 2012). É uma variedade de dupla finalidade, ou seja, pode servir como matéria-prima para produção de azeitonas de mesa e de azeite (GUATIMOSIM, 2012). Isso ocorre, pois esta variedade possui considerável teor de lipídeos e uma alta relação polpa/caroço. Há poucos relatos na literatura científica sobre esta cultivar, e nenhum estudo foi encontrado sobre a caracterização bioquímica da cv. Grappolo 541 durante seu desenvolvimento.

3. COMPOSIÇÃO DOS FRUTOS DA OLIVEIRA

O conhecimento sobre os componentes do fruto da oliveira é imprescindível quando se quer produzir azeites e azeitonas de mesa de qualidade. A composição dos frutos depende essencialmente do estágio de maturação em que foi colhido, da cultivar em questão e das condições ambientais de crescimento das azeitonas, incluindo tanto

fatores bióticos quanto abióticos (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008; GHANBARI et al., 2012; MACHADO, 2013).

A azeitona *in natura* possui 50 a 67% de umidade; 12 a 22% de lipídeos, 1,5 a 2,2% de proteínas; 1,5% de minerais; de 20 a 25% de carboidratos e de 1 a 3 % de compostos fenólicos, dependendo da cultivar (ZAMORA, ALAIZ e HIDALGO, 2001; BIANCHI, 2003; HAMMAMI, MANRIQUE e RAPOPORT, 2011; LUO, 2011; GHANBARI et al., 2012; TALHOUI et al., 2015b). Os ácidos orgânicos presentes na polpa da azeitona representam uma proporção aproximada de 1,5% do total do fruto (GHANBARI et al., 2012; AKTAS et al., 2014). Dentre os ácidos orgânicos encontrados em diferentes cultivares de azeitonas estão o cítrico, succínico, málico e galacturônico (AKTAS et al., 2014).

Os açúcares, componentes solúveis presentes nos tecidos da azeitona, fornecem energia para as alterações metabólicas do fruto, atuando como precursores da biossíntese de lipídeos. Ainda, carboidratos estão presentes na parede celular, afetando sua textura (MARSILIO et al., 2001). Glicose, frutose, sacarose, xilose, ramnose e manitol são os principais açúcares solúveis presentes em azeitonas (AKTAS et al., 2014).

Além dos carboidratos, malato, citrato e aminoácidos podem estar envolvidos na biossíntese de lipídeos em vegetais (FERRI, 1985; NERGIZ e ENGEZ, 2000). A formação de lipídeos no vegetal aumenta sua capacidade de armazenamento de energia, pois estes apresentam alto conteúdo energético e são estocados em condições mais anidras que seus precursores (FERRI, 1985).

Os triacilgliceróis, componentes lipídicos, são formados e armazenados no fruto de azeitona, sendo que na semente estes compostos possuem a função de nutrir o embrião, e no mesocarpo atraem a ação de dispersores de sementes (SANCHEZ, 1994). A porção lipídica dos frutos de azeitona é composta majoritariamente por ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oléico (representando até 84% da composição lipídica), em concentração que varia de 2,5 a 21% de ácido linoléico e um teor de ácido palmítico de 10 a 20% (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008; MACHADO, 2013; SERVILI et al., 2014).

Após cerca de 70 a 84 dias da floração ou antese, ocorre o endurecimento do caroço do fruto, marcando o início da síntese de triacilgliceróis, sendo que o acúmulo de lipídeos nas sementes é mais rápido (dura cerca de 70 dias) que o acúmulo de lipídeos no mesocarpo. Este último ocorre lentamente, atingindo um platô após 140 dias da antese (SANCHEZ, 1994). Após cerca de 150 dias da antese, inicia-se o

período de amadurecimento da azeitona, fase em que sua coloração passa de verde-limão escuro para verde claro arroxeadado (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008).

Em relação aos pigmentos, os carotenoides totais aumentam progressivamente no fruto da azeitona durante as primeiras semanas de crescimento. No momento da perda da coloração verde e o aparecimento da cor preta nos frutos, no amadurecimento, ocorre a síntese de antocianinas, enquanto os teores de clorofila e carotenóides totais começam a reduzir. Apesar de seus teores reduzidos nas azeitonas, os carotenóides desempenham um importante papel, juntamente com a clorofila, de fornecer a cor característica do azeite de oliva virgem. A diferença, principalmente quantitativa, de pigmentos presentes em frutos ou em azeites de oliva virgem pode ser usada para estabelecer afinidades ou diferenças taxonômicas das diversas cultivares de azeitona (CRIADO et al., 2007; LOPEZ-SANCHEZ, AYORACÁÑADA E MOLINA-DÍAZ et al., 2010).

Em estudo desenvolvido por Zamora, Alaiz e Hidalgo (2001) o teor de proteínas no mesocarpo das azeitonas, em base seca, variou de 1,3 a 1,8%, sendo que a mudança da cultivar ou do grau de amadurecimento do fruto não acarretaram mudanças significativas. Poucos são os estudos sobre a fração proteica das azeitonas, devido à grande maioria dos trabalhos discorrerem sobre compostos fenólicos e ácido graxos. Entretanto, é possível que compostos proteicos, que estão presentes em pequena proporção no fruto, desempenhem funções na estabilidade do óleo de oliva e sejam benéficos à saúde humana (ZAMORA, ALAIZ e HIDALGO, 2001; CAPRIOTTI et al., 2013). Sabe-se ainda que os aminoácidos livres podem ser precursores de metabólitos secundários nitrogenados (WINK, 1997). Dessa forma, o conteúdo de aminoácidos livres nas azeitonas pode ser relevante na formação de aminas biogênicas, que são compostos bioativos (GLORIA, 2005).

3.1. Compostos bioativos em produtos da oliveira

Os compostos bioativos são provenientes do metabolismo secundário de plantas e podem apresentar efeitos benéficos à saúde do homem. Esses compostos nos alimentos podem agir de diferentes formas, tanto no que se refere aos alvos fisiológicos como aos seus mecanismos de ação (SINGH et al., 2016). Nas plantas, esses compostos participam de funções fisiológicas e/ou na proteção contra agressores presentes no ambiente. Dessa forma, a produção de tais compostos está diretamente ligada ao ambiente onde a planta se desenvolve e os mesmos podem interferir no

desenvolvimento do vegetal (CHITARRA e CHITARRA, 2005; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; KUSANO et al., 2008; AGUDELO-ROMERO et al., 2013; TIBURCIO et al., 2014; TSANIKLIDIS et al., 2016).

Os compostos fenólicos são exemplos de substâncias bioativas que estão presentes em frutas, vegetais, vinho, chá, azeite de oliva extravirgem, chocolate, entre outros alimentos, e tem atraído grande atenção devido à capacidade antioxidante, e outras propriedades benéficas à saúde humana (HAN, SHEN e LOU, 2007; YANG et al., 2011).

Outra classe de compostos biologicamente ativos que foram correlacionados com produtos da oliveira são as aminas bioativas (BIHN, SODA e KAWAKAMI, 2011). Tais compostos possuem ação antioxidante, além de serem importantes fatores de crescimento, manutenção e funcionamento normal das células vivas (LOVAAS, 1996; KALAC, 2014). Além disso, esses compostos são considerados índices de frescor, deterioração e qualidade para produtos alimentícios frescos e processados, o que possui relação direta com a qualidade das matérias-primas utilizadas e com as condições de higiene do processamento (GLÓRIA, 2005; EFSA, 2011a). Portanto, o conhecimento sobre a presença das aminas é importante não somente por sua participação no desenvolvimento de frutos, mas também por estar relacionada à qualidade de frutos fermentados, como é o caso das azeitonas de mesa.

3.1.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são aqueles que contêm um anel aromático (benzeno) em sua estrutura, com pelo menos um grupo hidroxila, podendo apresentar inúmeros isômeros e uma ampla diversidade de compostos, que vão desde os mais simples até os altamente polimerizados (CHITARRA e CHITARRA, 2005; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; HAN, SHEN e LOU, 2007). Devido à diversidade dos compostos fenólicos existentes, são chamados genericamente de “polifenóis” e individualmente são classificados de acordo com sua estrutura química, como por exemplo: fenóis simples (C6), ácidos hidrobenczoicos (C6-C1), acetofenonas (C6-C2), ácidos hidroxinâmicos (C6-C3), entre outros (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Os polifenóis são metabólitos secundários presentes nas plantas, que podem ter origem pelas vias biosintéticas da pentose fosfato, chiquimato e fenilpropanoides e em sua maioria, estão presentes nos vegetais na forma conjugada a mono ou

polissacarídeos (MORELLÓ et al., 2005; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; TALHAOUI et al., 2015a). De modo geral, o metabolismo desses compostos pode ser alterado em decorrência de variadas situações como condições ambientais adversas, baixas temperaturas, ataque de micro-organismos, e danos mecânicos (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

São considerados fisiologicamente e morfológicamente importantes em vegetais por desempenharem relevante função no crescimento, reprodução e proteção contra patógenos e predadores. A suberina e a lignina são exemplos de substâncias fenólicas que atuam de maneira a impedir a penetração de patógenos no fruto gerando resistência mecânica nas paredes celulares deste e agindo como barreira de difusão de nutrientes para o patógeno. Além disso, os polifenóis possuem o papel de conferir coloração e sabor característico, podendo gerar adstringência, acidez ou amargor aos alimentos (CHITARRA e CHITARRA, 2005; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Os compostos fenólicos são os principais metabólitos secundários presentes no fruto da oliveira (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; ALAGNA, 2012). Estão presentes de 1 a 3% na azeitona *in natura*, sendo responsáveis por conferir características organolépticas, químicas e nutricionais específicas ao azeite e às azeitonas de mesa (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; CARDOSO, 2006; GHANBARI et al., 2012; TALHAOUI et al., 2015b).

A presença de compostos fenólicos em azeitonas de mesa e em azeite de oliva está relacionada a diversos efeitos benéficos à saúde. De acordo com Aktas et al. (2014), a prevenção de doença cardíaca coronariana, alguns tipos de câncer e de processos inflamatórios tem sido atribuída ao consumo de azeitonas de mesa, em função do alto conteúdo de compostos fenólicos e de ácidos graxos monoinsaturados neste alimento. Uma vez que a ingestão de alimentos ricos em compostos antioxidantes reduz o risco de danos oxidativos, os compostos fenólicos presentes nas azeitonas, por serem sequestradores de radicais livres, diminuem os danos oxidativos e conseqüentemente, reduzem o risco de diversas doenças como o câncer, inflamações e aterosclerose, cuja principal causa é o estresse oxidativo (GHANBARI et al., 2012).

Os principais compostos fenólicos presentes nos frutos de azeitonas são os secoiridoides, como a oleuropeína e seu derivado dimetil-oleuropeína; os glicosídeos fenólicos, como ligstrosídio e o verbacosídeo, um derivado do ácido hidroxicinâmico (OMAR, 2010; TALHAOUI et al., 2016).

A oleuropeína tem sido considerada a principal responsável pelas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antivirais desse alimento, além de possuir um efeito cardio- e neuro-protetor (MACHADO, 2013; BARBARO et al., 2014). Em estudo de Damak et al. (2008), a concentração de oleuropeína foi intimamente relacionada à atividade antioxidante de extratos de azeitona. O hidroxitirosol, que é o principal produto da hidrólise da oleuropeína, também possui potencial antimicrobiano (OMAR, 2010; GHANBARI et al., 2012).

Juntamente com outros fatores, as características intrínsecas ao fruto, como seu grau de amadurecimento e escolha da cultivar, afetam tanto a quantidade quanto a qualidade de compostos fenólicos presentes no azeite de oliva (MENDOZA et al., 2013; TALHAOUI et al., 2016). De acordo com Omar (2010), há três fases distintas durante o desenvolvimento da azeitona: fase de crescimento, em que ocorre acúmulo da oleuropeína; fase de verde para maduro, na qual há redução de clorofila e oleuropeína e a fase de maturação final (frutos já estão escuros), na qual aparecem as antocianinas e continua a redução dos níveis de oleuropeína.

O conteúdo de compostos fenólicos presentes no fruto da oliveira tende a reduzir durante o desenvolvimento e amadurecimento, devido ao aumento da atividade de enzimas hidrolíticas, que levam à transformação da molécula de oleuropeína, presente majoritariamente no início do desenvolvimento, em seus oligômeros hidroxitirosol e ácido elenólico (ARTAJO, ROMERO e MOTILVA, 2006; CARDOSO, 2006; DAMAK et al., 2008; BARBARO et al., 2014; TALHAOUI et al., 2015b).

De acordo com Artajo, Romero e Motilva (2006), os compostos fenólicos presentes no fruto colhido para produção de azeite refletem diretamente na composição desse produto, pois o mesmo é obtido por métodos físicos e mecânicos, sob condições específicas, especialmente de temperatura, que minimizam a perda desses compostos no óleo. Ainda, Mendoza et al. (2013) confirmam que a qualidade do azeite de oliva está relacionada às condições fisiológicas do fruto.

Apesar das condições para obtenção do azeite não serem severas, algumas alterações em sua composição original são inevitáveis devido à ruptura celular e consequente mistura de seus componentes durante a extração do óleo (esmagamento e termobatedura) (ARTAJO, ROMERO e MOTILVA, 2006). A transformação dos compostos fenólicos durante esse processo, em particular, resulta da atividade de enzimas que são liberadas durante o processo de obtenção do azeite, como por exemplo, polifenol-oxidase e β -glicosidase, que são responsáveis pela oxidação

indireta de secoiridoides e produção de agliconas de compostos fenólicos, respectivamente (TALHAOUI et al., 2016).

Os altos teores de compostos fenólicos presentes no fruto da azeitona aumentam as propriedades nutricionais do azeite de oliva, e contribuem com os efeitos benéficos à saúde da “dieta do mediterrâneo” (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008). A fração fenólica presente no azeite de oliva extravirgem tem sido associada à redução do risco de doenças cardiovasculares e prevenção de câncer, osteoporose, aterosclerose, entre outros benefícios à saúde (ALAGNA et al., 2012; SERVILI et al., 2014). A propriedade antioxidante atribuída aos compostos fenólicos presentes nesse alimento é confirmada pela baixa incidência de doenças cardíacas e de câncer, além de um reduzido risco de doenças inflamatórias crônicas e maior expectativa de vida da população do mediterrâneo, local em que o azeite de oliva é componente essencial na dieta alimentar (OMAR, 2010; ZIOGAS et al., 2010; PARKINSON e KEAST, 2014).

De acordo com EFSA (2011b), os polifenóis do azeite de oliva contribuem protegendo componentes lipídicos séricos contra estresse oxidativo, desde que o azeite tenha, no mínimo, 5 mg de hidroxitirosol e seus derivados (complexo de oleuropeína e tirosol) por 20 g de azeite.

Além de serem benéficos à saúde humana, os polifenóis contribuem fortemente com as propriedades sensoriais do azeite de oliva, conferindo o sabor tipicamente amargo e picante desse produto, retardam a auto-oxidação do mesmo por eliminação de espécies reativas e ainda, possuem a propriedade de quelar metais (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; CONDE, DELROT e GERÓS, 2008; ALAGNA et al., 2012; HBAIEB et al., 2015; TALHAOUI et al., 2016).

3.1.2. Aminas bioativas

As aminas bioativas ou biologicamente ativas são compostos orgânicos nitrogenados que realizam importantes funções metabólicas e fisiológicas em micro-organismos, vegetais e animais. Estes compostos são bases nitrogenadas de baixo peso molecular cujos hidrogênios da molécula de amônia são mono-, di- ou tri-substituídos por um grupo alquila, resultando, respectivamente, nas aminas primárias, secundárias ou terciárias (GLÓRIA, 2005). Alguns exemplos de aminas bioativas estão presentes na Figura 6.

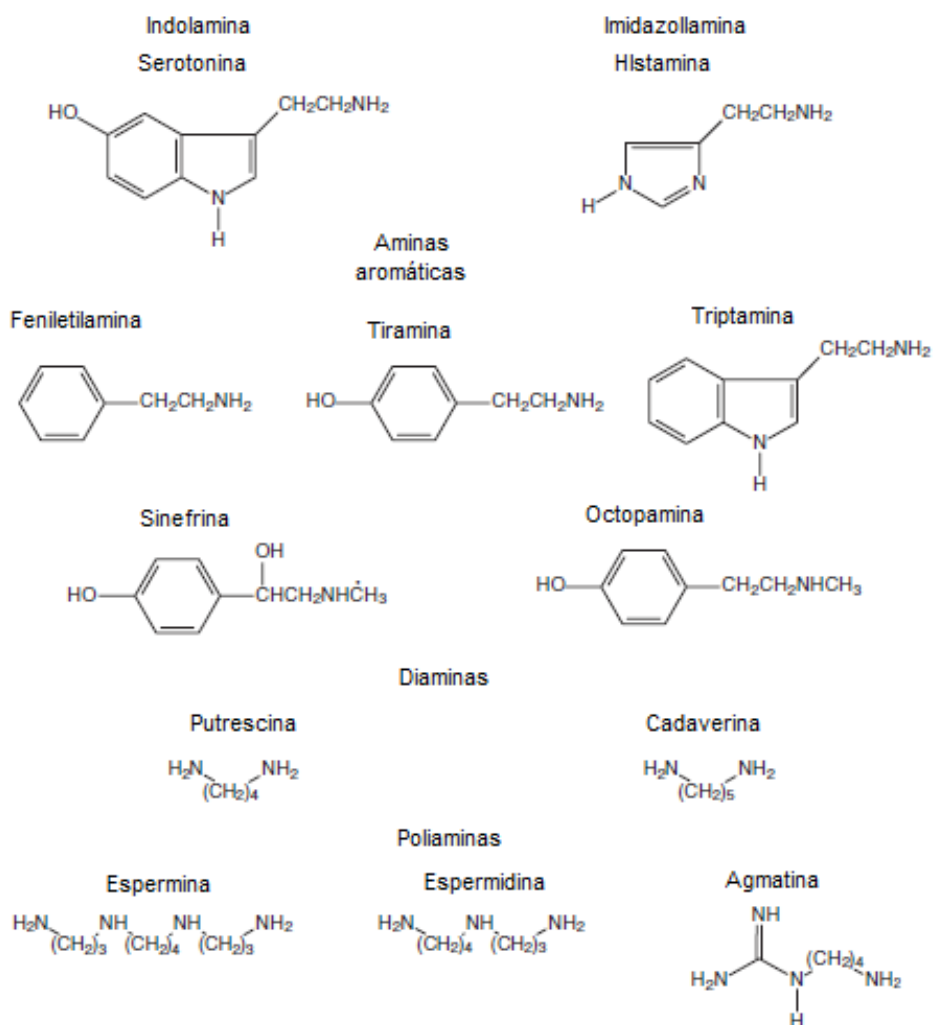


Figura 6. Classificação e estrutura química de algumas aminas. Fonte: GLÓRIA, (2005).

Tais compostos podem ser classificados de acordo com diferentes critérios, incluindo o número de grupamentos amino, estrutura química, biossíntese ou função fisiológica, conforme descrito a seguir. Baseado no número de grupamentos amino, estes compostos podem ser monoaminas, (feniletilamina e tiramina); diaminas, (histamina, serotonina, triptamina, putrescina e cadaverina) ou poliaminas, quando possuem três ou mais grupamentos amino, a saber, espermina, espermidina e agmatina (GLÓRIA, 2005; RODRIGUEZ et al., 2014).

De acordo com a estrutura química, as aminas podem ser alifáticas (putrescina, cadaverina, espermina, espermidina, agmatina), aromáticas (tiramina e feniletilamina) ou heterocíclicas (histamina, triptamina e serotonina). Ainda, podem ser classificadas como indolaminas (serotonina) e imidazolaminas (histamina) (GLÓRIA, 2005; BASHEER et al., 2011).

Em relação à sua biossíntese, podem ser naturais, que são as aminas sintetizadas *in situ* ao serem requeridas no sistema biológico (putrescina, espermidina e espermina) ou biogênicas, que são as aminas provenientes da descarboxilação de aminoácidos por bactérias (BARDÓCZ, 1995; CHITARRA e CHITARRA, 2005; GLORIA, 2005; RODRIGUEZ et al., 2014). A histamina é considerada biogênica, por ser proveniente da descarboxilação de bactérias, e natural, por ser sintetizada quando requerida e armazenada nos mastócitos e basófilos (GLÓRIA, 2005; RODRIGUEZ et al., 2014; DINIZ, 2015).

E, por fim, segundo à função fisiológica, têm-se as aminas biogênicas, que desempenham ações psicoativas ou vasoativas e as poliaminas (espermidina e espermina), que desempenham importante papel no crescimento celular (GLÓRIA, 2005; SANTIAGO-SILVA, LABANCA e GLÓRIA, 2011), sendo esta a classificação mais utilizada.

3.1.2.1. Poliaminas

As poliaminas, representadas pela espermina e espermidina se apresentam na forma policatiônica em pH fisiológico e podem ser encontradas nas células de quase todos os organismos vivos (KUSANO et al., 2008; AGUDELO-ROMERO et al., 2013; TIBURCIO et al., 2014; TSANIKLIDIS et al., 2016). Podem ser encontradas na natureza na forma de bases livres, ou associadas a moléculas como ácidos fenólicos e proteínas, sendo a forma conjugada mais comum aquela ligada covalentemente a ácidos hidroxicinâmicos (GROOPA e BENAVIDES, 2008; ALCÁZAR et al., 2010; AGUDELO-ROMERO et al., 2013).

Os teores de poliaminas livres nas células vegetais dependem não apenas de sua síntese, mas também dos processos de conjugação, transporte e catabolismo (GROOPA e BENAVIDES, 2008; ALCÁZAR et al., 2010; AGUDELO-ROMERO et al., 2013). Tecidos e órgãos com altas taxas metabólicas ou organismos jovens com rápido crescimento, possuem tipicamente altos níveis de espermina e espermidina (KALAC, 2014).

Na síntese de poliaminas em células vegetais, a putrescina, que é um intermediário obrigatório, pode ser produzida por duas rotas biosintéticas (Figura 7): a da ornitina descarboxilase e da arginina descarboxilase (AGUDELO-ROMERO et al., 2013; TSANIKLIDIS et al., 2016). Nas células de mamíferos e fungos primários, a ornitina, produzida pelo ciclo da ureia ou pela atividade da enzima arginase, sofre

descarboxilação pela ação da ornitina descarboxilase, originando a putrescina. Em alguns microrganismos e plantas, a síntese de putrescina se dá via agmatina, que é formada pela descarboxilação da arginina pela enzima arginina descarboxilase (Figura 7). A agmatina é metabolizada à putrescina pela enzima agmatinase, com formação do intermediário N-carbamoil-putrescina (GLORIA, 2005; KALAC, 2014).

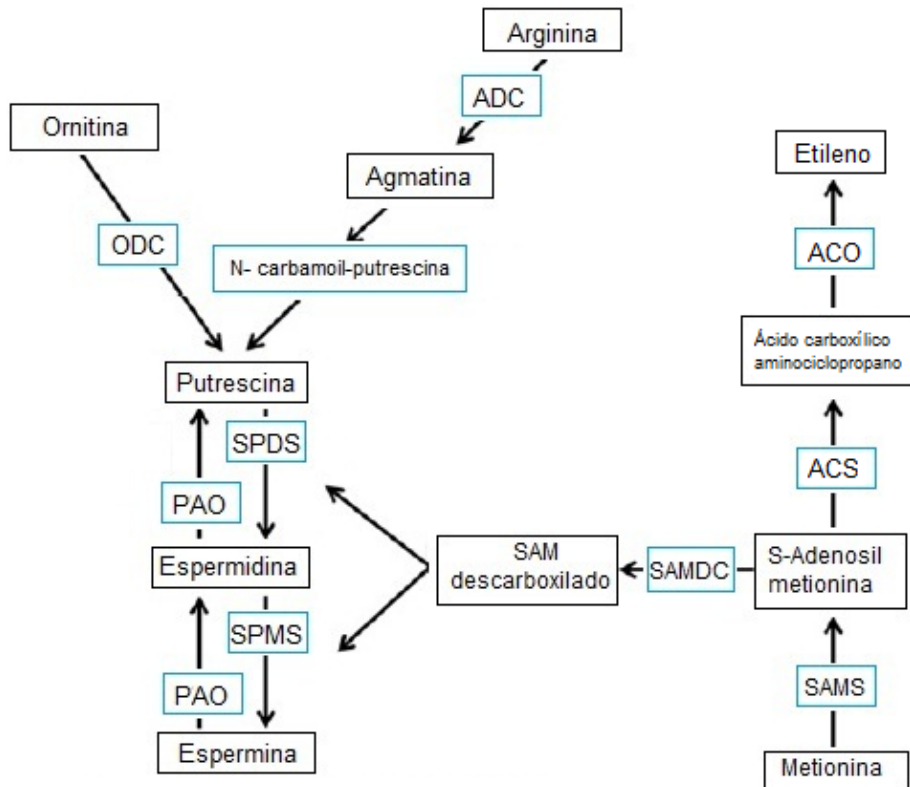


Figura 7. Via metabólica das poliaminas e do etileno (AGUDELO-ROMERO et al., 2013). ODC: ornitina descarboxilase; ADC: arginina descarboxilase; SPDS: espermidina sintase; SPMS: espermina sintase; PAO: poliamina oxidase; SAMDC: S-adenosil metionina descarboxilase; SAMS: S-adenosil metionina sintase; SAM: S-adenosilmetionina; ACO: ácido carboxílico oxidase, ACS: ácido carboxílico sintase.

As biossínteses de espermidina e espermina são mediadas especificamente pela espermidina sintase e espermina sintase, respectivamente, após a conversão de S-adenosilmetionina (SAM) em S-adenosilmetionina descarboxilado, pela ação da enzima S-adenosil-metionina descarboxilase (SAMDC). Esta enzima adiciona grupos aminopropil às substâncias precursoras da espermidina (putrescina) e da espermina (espermidina), para suas respectivas formações (TSANIKLIDIS et al., 2016).

A SAM também participa da biossíntese do etileno, o que leva a um balanço crítico entre os teores de poliaminas e etileno no fruto (CHITARRA e CHITARRA, 2005; TSANIKLIDIS et al., 2016). As rotas metabólicas de poliaminas também estão interconectadas às vias metabólicas do ácido abscísico, óxido nítrico, prolina, ciclo de

Krebs e ácido γ -aminobutírico (GABA) (ALCÁZAR et al., 2010; AGUDELO-ROMERO et al., 2013).

As poliaminas sofrem catabolismo pela atividade de uma ou mais diamina oxidases (DAOs) e poliamina oxidases (PAOs). As DAOs são enzimas que contêm cobre em sua estrutura e são capazes de catalizar a oxidação das diaminas putrescina e cadaverina a grupos primários. Estas aparecem em plantas eudicotiledôneas em altos teores. Já as PAOs são dependentes do dinucleotídeo de flavina-adenina (FAD), estão presentes em altos teores nas plantas monocotiledôneas e participam do catabolismo terminal de espermidina e espermina, ou da eliminação de grupamentos amino (conversão de volta de espermina em espermidina, por exemplo) (ALCÁZAR et al. 2010; AGUDELO-ROMERO et al., 2013).

Esses compostos estão presentes em concentrações milimolares em células procarióticas e eucarióticas desenvolvendo funções regulatórias em processos que envolvem crescimento, regeneração e metabolismo celular (GLORIA, 2005; NISHIMURA et al., 2006; RODRIGUEZ et al., 2014; TSANIKLIDIS et al., 2016). As poliaminas possuem ação antioxidante devido à capacidade de se ligarem a macromoléculas carregadas negativamente como membranas fosfolipídicas, ácidos nucléicos e proteínas (LOVAAS, 1996; KALAC, 2014). Tais interações iônicas, que são reversíveis, levam à estabilidade das moléculas de DNA, RNA, membranas e algumas proteínas, o que torna essas aminas importantes fatores de crescimento, manutenção e funcionamento normal das células vivas (KALAC, 2014).

Além de suas propriedades antioxidantes e de sua participação no desenvolvimento e crescimento celular, as poliaminas também possuem propriedades anti-inflamatórias, promovem renovação e funcionalidade ao trato digestivo e maturação da mucosa intestinal em animais (KUSANO et al., 2008; BANDEIRA, EVANGELISTA e GLÓRIA, 2012).

Em plantas, as poliaminas participam de diferentes processos fisiológicos como divisão e diferenciação celular, organogênese e embriogênese, crescimento e desenvolvimento da raiz, floração, crescimento do tubo polínico, senescência das folhas, resposta a fatores de estresse bióticos e abióticos, síntese de DNA e de proteína, transcrição gênica, apoptose, redução da rigidez da parede celular, desenvolvimento e amadurecimento do fruto (KUSANO et al., 2008; AGUDELO-ROMERO et al., 2013; TIBURCIO et al., 2014; TSANIKLIDIS et al., 2016). Por serem encontrados em todas as células e por exercerem efeito regulatório no

desenvolvimento das plantas, as poliaminas são consideradas hormônios vegetais (VIEIRA et al., 2010).

O estudo de Gomez-Jimenez et al. (2010a) com frutos da oliveira demonstrou que as poliaminas tiveram participação na floração, e na divisão celular durante as fases iniciais do desenvolvimento de azeitonas. Um outro estudo demonstrou uma correlação da amina precursora putrescina com a abscisão de frutos de azeitona maduros (GOMEZ-JIMENEZ et al., 2010b). Poucos estudos investigaram a presença e a implicação das poliaminas em frutos não-climatéricos (AGUDELO-ROMERO et al., 2013), e raros são os trabalhos sobre esses compostos em azeitonas (GOMEZ-JIMENEZ et al., 2010a; GIL-AMADO e GOMEZ-JIMENEZ, 2012), o que leva à necessidade de mais trabalhos sobre a presença os mesmos em frutos de azeitonas.

3.1.2.2 Aminas biogênicas

A formação das aminas biogênicas se dá principalmente pela descarboxilação de aminoácidos livres (Figura 8), que consiste na remoção do grupo α -carboxila da estrutura do aminoácido formando a amina correspondente. De forma geral, o nome das aminas é similar ao nome do aminoácido que lhe deu origem, como por exemplo a histamina, originada pela descarboxilação da histidina, a tiramina pela tirosina, e assim por diante, com exceção da putrescina e cadaverina, cujos nomes são associados aos fenômenos de decomposição e putrefação (GLORIA, 2005; RODRIGUEZ et al., 2014). A reação de descarboxilação se dá por meio da ação de enzimas descarboxilase endógenas (presentes naturalmente nos alimentos) ou pela atividade de enzimas descarboxilase exógenas (produzidas por micro-organismos) (RODRIGUEZ et al., 2014).

Assim sendo, algumas aminas são inerentes aos alimentos e outras podem ser formadas durante processos fermentativos ou em condições higiênicas inadequadas – aminas exógenas. Os principais fatores necessários para a formação de aminas exógenas em alimentos incluem a disponibilidade de aminoácidos livres, presença de micro-organismos produtores de aminas (presentes naturalmente ou por cultura *starter*); condições favoráveis à sua formação (temperatura e pH, por exemplo) e condições favoráveis à produção e atividade enzimática (EFSA, 2011a).

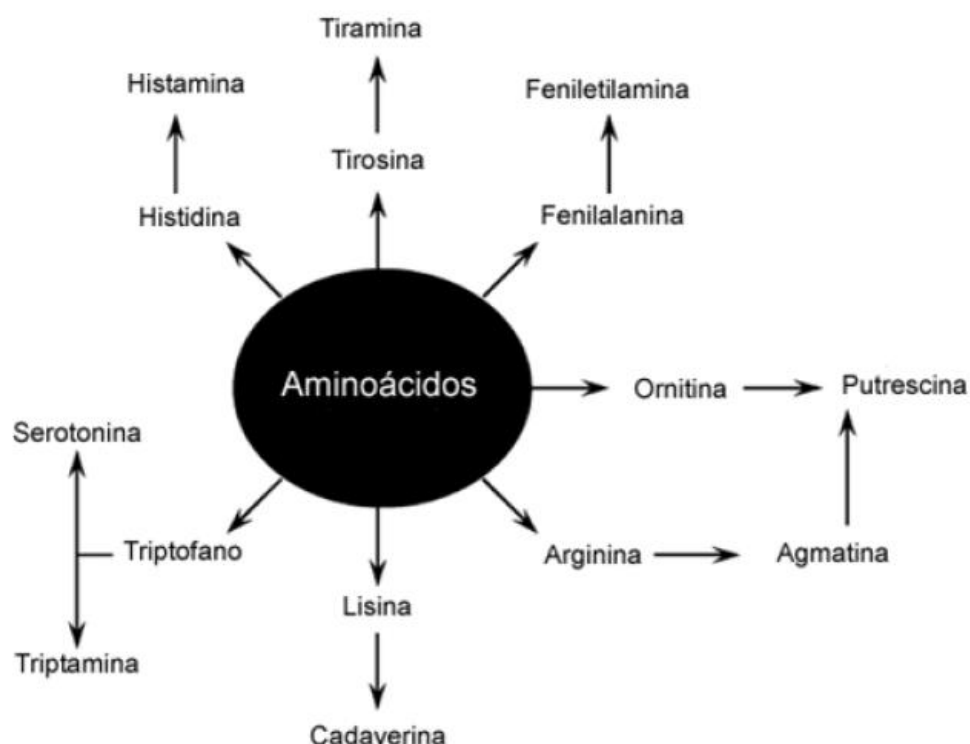


Figura 8. Vias metabólicas de formação das aminas biogênicas. Fonte: DINIZ (2015).

Algumas aminas biogênicas podem ser encontradas em plantas, como feniletilamina, serotonina, triptamina, histamina, putrescina, cadaverina, agmatina, octopamina e sinefrina. A histamina, triptamina, feniletilamina e serotonina desempenham um papel protetor contra determinados predadores; aminas alifáticas como a putrescina e cadaverina são capazes de atrair agentes polinizadores; triptamina, tiramina e feniletilamina são precursores de compostos biologicamente importantes, como hormônios vegetais e alcalóides (SMITH, 1977; GLORIA, 2005; SANTIAGO-SILVA, LABANCA e GLÓRIA, 2011; PAIVA et al., 2015).

Em animais, as aminas biogênicas podem exercer ações psicoativas ou vasoativas. Histamina e serotonina são consideradas aminas psicoativas por agirem como neurotransmissores, afetando o sistema nervoso central. Ainda, a feniletilamina e triptamina são constituintes endógenos do cérebro, sendo capazes atravessar facilmente a barreira hematoencefálica e as aminas serotonina, feniletilamina, tiramina, histamina e triptamina são capazes de regular a temperatura corporal, o volume e pH do estômago. Tiramina, triptamina, feniletilamina e histamina são vasoativas, pois atuam direta ou indiretamente no sistema vascular (BARDÓCZ, 1995; GLORIA, 2005).

Quando os teores de aminas nos alimentos são baixos, os mesmos não causam risco à saúde humana, entretanto, se o teor de aminas consumido for elevado, ou ainda, se a rota de catabolismo das aminas for inibida ou houver deficiências genéticas

no indivíduo, elas podem causar enxaqueca, distúrbios respiratórios, palpitações cardíacas, hipertensão, náusea, hemorragia intracerebral, síndrome do choque anafilático ou até mesmo a morte (OZDESTAN e UREN, 2009). De acordo com EFSA (2011a), as aminas biogênicas mais tóxicas e particularmente relevantes para a segurança alimentar são a histamina e a tiramina.

Considerando que elevados teores de aminas podem ser prejudiciais à saúde humana, faz-se necessário minimizar a formação das aminas biogênicas em produtos fermentados, como nas azeitonas de mesa. Assegurar uma matéria-prima com bom estado de higiene e adicionar culturas *starters* não produtoras de aminas biogênicas é uma das formas de se minimizar a ocorrência desses compostos em alimentos fermentados. As condições de armazenamento e de distribuição, sobretudo a temperatura, também são fatores que influenciam no acúmulo de tais compostos em alimentos, devendo também ser monitoradas (EFSA, 2011a).

A importância de se avaliar os teores de aminas biogênicas vai além do aspecto toxicológico, uma vez que elas podem ser utilizadas como indicadores do grau de frescor ou de contaminação microbiana dos alimentos (OZDESTAN e UREN, 2009). Devido ao tempo relativamente grande requerido para análises microbiológicas e a imprecisão de análises sensoriais, análises químicas tem sido alvo de estudos para se avaliar a qualidade de alimentos. Neste sentido, a determinação de aminas tem sido usada como parâmetro ou índice de qualidade por sinalizar a qualidade da matéria-prima utilizada e/ou suas condições higiênicas durante a manipulação de determinados produtos alimentícios (RODRIGUEZ et al., 2014). Dessa forma, estudos associaram a formação de cadaverina, tiramina e putrescina à deterioração de azeitonas de mesa (HORNERO-MÉNDEZ e GARRIDO-FERNÁNDEZ, 1994; LANZA, 2013). Também foram encontrados teores de 0,4 a 3,3 mg/kg de putrescina, cadaverina e tiramina em azeitonas de mesa obtidas no comércio (COBO e SILVA, 2000).

Não foram encontrados dados na literatura científica sobre aminas biogênicas durante o desenvolvimento de azeitonas e nos frutos não processados, e são raros os estudos que avaliam o teor desses compostos como parâmetro da qualidade para azeitonas de mesa. Dessa forma, são necessários mais estudos que avaliem o perfil de aminas bioativas e de seus aminoácidos precursores tanto nos frutos quanto nos produtos finais, a fim de se assegurar sua qualidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. MATERIAL

1.1. Amostras

Amostras de frutos de oliveira das cultivares Arbequina e Grappolo 541 foram gentilmente cedidas pela EPAMIG unidade Maria da Fé, cujas coordenadas geográficas são 22°18'S, 45°23'W e altitude média de 1.276 m, localizada na microrregião da Serra da Mantiqueira, ao sul do Estado de Minas Gerais. O sistema de cultivo das oliveiras no Campo Experimental de Maria da Fé não fazia uso de irrigação, contando apenas com a água proveniente de chuvas. O período de coletas dos frutos foi de novembro de 2015 a fevereiro de 2016, sendo todas as coletas feitas na parte da manhã.

Para a obtenção das amostras de azeitonas, seis lotes, com cinco oliveiras cada, foram marcados no campo, sendo três lotes da cultivar Arbequina e três lotes da cultivar Grappolo 541. Portanto, três amostras de cada cultivar, provenientes de lotes diferentes, foram coletadas, ou seja, foram analisadas três repetições por cultivar. A coleta de cada amostra foi realizada de maneira aleatória ao redor das cinco plantas de cada lote. Foram colhidos o mesmo número de frutos em cada uma das cinco plantas para se obter uma amostra representativa e com quantidade mínima de 100g.

A primeira coleta foi feita 86 dias após antese de ambas as cultivares, ou seja, 86 dias após a abertura floral da Arbequina e Grappolo 541. Posteriormente, novas coletas foram realizadas em intervalos aproximados de 20 dias para se acompanhar gradativamente as mudanças durante o desenvolvimento dos frutos. Os intervalos foram de, exatamente, 20, 18, 17, 21 e 15 dias, o que correspondeu a 106, 124, 141, 162 e 177 dias após antese, respectivamente. O período avaliado foi escolhido pois são raros os dados encontrados na literatura científica a respeito da evolução de parâmetros físico-químicos e compostos bioativos, como amins bioativas e fenólicos totais, em frutos de oliveira nesse período específico.

Logo após serem coletadas, as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas (Figura 9), congeladas e enviadas em caixas de isopor com gelo, para o Laboratório de Bioquímica de Alimentos (LBqA), da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).



Figura 9. Foto ilustrativa de azeitonas Grappolo 541 e Arbequina (quarta coleta) preparadas para o transporte para a UFMG.

1.2. Reagentes

Os reagentes utilizados nas análises de lipídeos, fenólicos totais e extração de aminas bioativas foram de grau analítico. Para análise cromatográfica das aminas bioativas e dos aminoácidos foram utilizados solventes (acetonitrila) de grau cromatográfico. Água ultrapura foi obtida do Sistema Milli-Q-Plus (Millipore Corp., Milford, MA, EUA). As fases móveis foram filtradas em membrana de 47 mm de diâmetro (Millipore Corp., Milford, MA, EUA) para análise em CLAE e com tamanho do poro de 0,22 μm (GV Durapore Merck[®]) para análise de UPLC. Os padrões de aminas bioativas e aminoácidos foram preparados com alanina (98%), cloridrato de arginina (98%), ácido aspártico (98%), ácido glutâmico (99%), cistina cristalina (98%), fenilalanina (98%), glicina (99%), cloridrato de histidina monohidratado (98%), isoleucina (98%), cloridrato de lisina (98%), leucina (98%), metionina (98%), prolina (99%), serina (99%), tirosina (98%), treonina (98%), valina (98%), cloridrato de beta-feniletilamina (98%), serotonina creatinina sulfato mono hidratado (100%), cloridrato de tiramina (98%), dicloridrato de cadaverina (98%), dicloridrato de histamina (99%), dicloridrato de putrescina (98%), sulfato de agmatina (97%), tetracloridrato de espermina (100%), tricloridrato de espermidina (98%) e triptamina (98%), todos adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). *Orto*-ftalaldialdeído, Brij-35 e ácido gálico também foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

2. MÉTODOS

As amostras foram avaliadas quanto às dimensões físicas (diâmetro transversal e longitudinal) na própria EPAMIG Maria da Fé. No Laboratório de Bioquímica de Alimentos (LBqA), fez-se primeiro a determinação da relação polpa/caroço e, em seguida, as polpas das amostras foram trituradas e a massa correspondente foi pesada para as análises de teor de umidade, conteúdo de lipídeos, fenólicos totais, aminoácidos e amins bioativas. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições. Todas as análises foram feitas em duplicata.

2.1. Caracterização física dos frutos

Dez azeitonas foram selecionadas de maneira aleatória para a medição dos diâmetros transversal e longitudinal, utilizando-se Paquímetro Digital, Messen (São Paulo, SP, Brasil), de 150 mm. Foi também realizada a pesagem das azeitonas em balança semi-analítica. Tais medições foram feitas imediatamente após a colheita, na EPAMIG, Maria da Fé, MG, utilizando-se metodologia de rotina da EPAMIG para pequenos frutos.

2.2. Determinação da relação polpa/caroço dos frutos

Dez azeitonas foram selecionadas de maneira aleatória, por meio de um quarteamento (Figura 10). Em seguida, pesou-se a massa total dos frutos, e posteriormente foi feito o despulpamento manual dos mesmos e foi pesada a massa dos caroços. A relação polpa/caroço (RPC) foi calculada pela equação 1 (Eq. 1):

$$RPC = \frac{\text{Massa (g) das 10 azeitonas inteiras} - \text{Massa (g) dos 10 caroços}}{\text{Massa (g) dos 10 caroços}} \quad (\text{Eq. 1):}$$

2.3. Determinação do teor de umidade

A determinação do teor de umidade das amostras foi realizada por secagem em estufa a 105°C, até peso constante, de acordo com AOAC (2012).

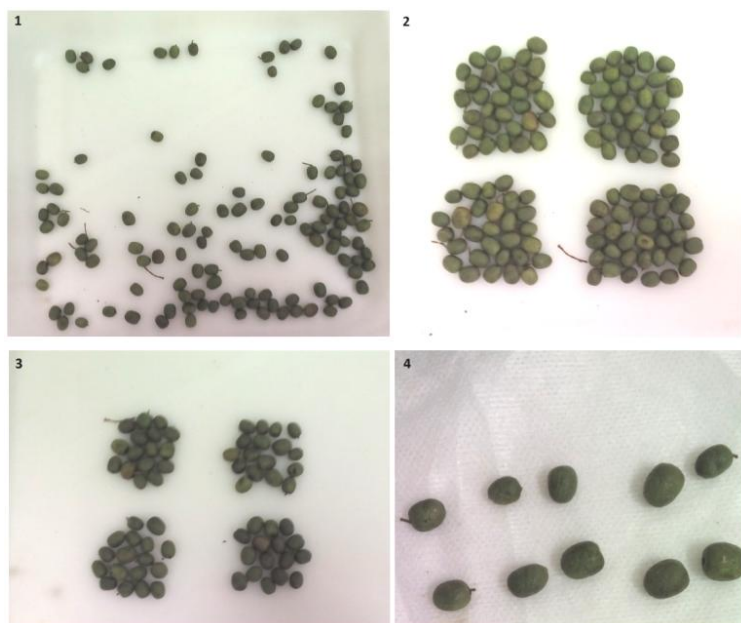


Figura 10. Quarteamento feito com os frutos de azeitonas para a determinação da relação polpa/caroço (1: homogeneização dos frutos; 2 e 3: divisão dos quadrantes e 4: seleção aleatória dos dez frutos). Fonte: autoria própria.

2.4. Determinação dos teores de lipídeos totais

A determinação do conteúdo de lipídeos totais (extrato etéreo) do mesocarpo das azeitonas previamente secas (105 °C até peso constante) foi realizada de acordo com AOAC (2012). Esta análise foi realizada por meio de um extrator de lipídeos do tipo Soxhlet (Solab SL202, São Paulo) utilizando-se éter etílico.

A amostra seca foi pesada em cartucho feito com papel filtro qualitativo, e posteriormente foi colocada sob imersão (por 1 h) e gotejamento (por 3 h) em éter etílico, a 50 °C para extração lipídica. Para se determinar a porcentagem de lipídeos totais nas amostras pesou-se os *reboilers* antes e após a extração. Para comparação dos resultados entre épocas de colheita, os teores de lipídeos totais foram expressos em base seca.

2.5. Determinação dos teores de compostos fenólicos totais

Para a determinação dos compostos fenólicos totais nas amostras foi utilizado o método de Folin Ciocalteu. A extração dos compostos fenólicos na polpa das azeitonas foi feita de acordo com Arslan e Özcan (2011), com pequenas modificações. Uma quantia de 1,5 g da polpa triturada foi extraída com 20 mL de solução metanólica 80% (v/v) com auxílio de um Ultraturrax T10, IKA, na velocidade de 14.500 rpm.

Posteriormente, centrifugou-se o extrato a 15.000 g, a 4 °C por 10 minutos. O processo foi repetido com o resíduo e o volume resultante das duas extrações foi submetido à separação de fases, com utilização de 10 mL de hexano em funil de separação para obtenção do extrato metanólico livre de interferentes. Posteriormente, o extrato metanólico foi diluído com solução metanólica (80%) em balões volumétricos, de maneira que a concentração do extrato lido estivesse na faixa linear de trabalho da curva analítica.

A quantificação dos fenólicos totais foi feita de acordo com Sahan, Cansev e Gulen (2013). A curva analítica foi preparada com soluções-padrão de ácido gálico nas concentrações: 5, 10, 15, 25, 50 e 75 mg/L. Para a leitura dessas soluções, adicionou-se, em tubos de ensaio, 1,0 mL de cada solução-padrão; 5,0 mL de água destilada e 0,5 mL de solução de Folin Ciocalteu. Com vórtex, homogeneizou-se a mistura e aguardou-se por 3 minutos. Posteriormente, adicionou-se 1,0 mL de carbonato de sódio. Deixou-se por 1 h os conteúdos sob agitação, e posteriormente, foram feitas as leituras da absorbância a 750 nm, em espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu, Kioto, Japão). Todos os procedimentos de extração e leitura foi feito sob proteção da luz. Para a leitura da absorbância das amostras procedeu-se da mesma forma, porém adicionou-se 1,0 mL de extrato metanólico ao invés da solução-padrão. A quantificação dos fenólicos totais foi feita por interpolação nas curvas analíticas. Os resultados foram expressos em equivalente g em ácido gálico (EAG)/100 g de azeitona, em base seca.

2.6. Determinação dos teores de aminoácidos livres e aminas bioativas

2.6.1. Otimização da extração de aminas bioativas em azeitona

Anteriormente à extração de aminas bioativas em azeitonas, objetivou-se avaliar a eficiência de diferentes ácidos extratores nessa matriz, por meio de um teste de recuperação. Para isso, um volume de 1 mL de solução padrão de aminas, na concentração de 100 µg/mL, foi adicionado a 5 g de azeitonas de mesa trituradas, sendo que amostras não fortificadas foram usadas como controle. Para o preparo das soluções padrão uma quantia de 10 mg de cada padrão de aminas bioativas foram pesadas, solubilizadas em ácido clorídrico 0,1 mol/L e transferidos para balão volumétrico de 100 mL, resultando na concentração de cada uma das aminas de 100 mg/L.

Para a extração das amostras utilizou-se HCL 1 mol/L de acordo com Santiago-Silva, Labanca e Glória (2011) e ácido tricloroacético – TCA 5% m/v, seguindo metodologia de Bandeira, Evangelista e Glória (2012), com poucas modificações. O procedimento de extração completo foi realizado da seguinte maneira: primeiramente foram adicionados 7 mL de ácido clorídrico ou tricloroacético. Posteriormente, as amostras foram levadas à mesa agitadora por 5 minutos a uma velocidade de 250 rpm, e logo após centrifugadas a 10.000 g, a 4 °C, por 20 minutos. O procedimento foi repetido por mais duas vezes com o resíduo sólido resultante da filtração, e posteriormente o extrato foi vertido em balões volumétricos de 25 mL, sendo seu volume completado com os respectivos ácidos extratores.

2.6.2. Determinação de aminas bioativas por cromatografia líquida de alta eficiência

A determinação das aminas bioativas foi feita por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com par iônico, empregando-se derivação pós-coluna com *o*-ftalaldeído (OPA) e detecção fluorimétrica, de acordo com Bandeira, Evangelista e Glória (2012). A análise foi feita em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Modelo LC-10 AD, Shimadzu, Kioto, Japão) conectado a detector espectrofluorimétrico (RF-10 AXL) a 340 e 450 nm de excitação e emissão, respectivamente. A coluna utilizada foi Novapak[®] C18 de 3,9 x 300 mm, 4 µm (Waters, Milford, MA, EUA). Duas fases móveis foram empregadas em gradiente de eluição, conforme descrito na Tabela 1. A fase móvel aquosa (A) consistiu em uma solução tampão de acetato de sódio 0,2 M e octanosulfonato de sódio 15 mM, com ajuste de pH para 4,9 por adição de ácido acético glacial e a fase móvel orgânica (B) foi acetonitrila. As fases móveis A e B foram filtradas em membrana HVLP (47 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho de poro, Millipore Corp., Milford, MA, EUA) antes da análise.

A solução derivante consistiu de 3 mL de metanol previamente filtrado em membrana HVLP (47 mm de diâmetro e 0,45 µm de tamanho do poro, Millipore Corp., Milford, MA, EUA), 1,5 mL de Brij-35, 1,5 mL de mercaptoetanol e 0,2 g de OPA dissolvido em 500 mL de solução tampão de ácido bórico a 5% (m/v) e KOH a 4,4% (m/v) (pH 10,5). O preparo das soluções padrão foi feito da mesma forma que no teste de recuperação.

Tabela 1. Gradiente de eluição para as fases móveis: (A) solução tampão de acetato de sódio 0,2 mol/L e octanosulfonato de sódio 15 mmol/L e (B) acetonitrila utilizadas na determinação de aminas por HPLC

Tempo (min)	Gradiente da fase móvel (%)	
	A (solução tampão)	B (acetonitrila)
0,1	85	15
1,0	94	6
16,0	74	26
22,0	84	16
26,0	67	33
27,0	82	18
30,0	62	38
31,5	85	15
68,0	85	15

2.6.3. Determinação de aminas bioativas e aminoácidos livres por cromatografia líquida de ultra eficiência

Para a análise de aminoácidos e aminas bioativas livres fez-se primeiramente a extração das azeitonas utilizando-se ácido tricloroacético (5%), uma vez que este apresentou melhor eficiência pelo teste de recuperação. A extração foi realizada de acordo com o método descrito anteriormente (modificado de Bandeira, Evangelista e Glória, 2012), alterando-se apenas a massa das amostras pesadas para 6 g e volume final para 10 mL, a fim de se concentrar os extratos.

Os aminoácidos e aminas bioativas foram determinados segundo metodologia descrita por Fiechter, Sivec e Mayer (2013). Após extração das aminas bioativas e aminoácidos livres com ácido tricloroacético 5% (m/v), estes foram neutralizados com solução de hidróxido de sódio 1 mol/L. As aminas e aminoácidos nos extratos neutralizados foram derivados (derivação pré-coluna) por reação com 6-aminoquinolil-carbamato de N-hidroxisuccinimidil (AQC) utilizando o kit Waters AccQ.Fluor[®] (Waters, 1993). Resumidamente, 5 µL do extrato neutralizado foi adicionado de 35 µL de tampão borato AccQ.Fluor[®] e 10 µL de reagente AQC. Após 1 minuto de descanso, a mistura foi aquecida a 55 °C por 10 minutos em banho-maria para completar a reação de derivação. As amostras derivadas foram filtradas em membranas de 0,20 µm de tamanho do poro (Whatman[®], Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e analisadas por cromatografia líquida de ultra eficiência – UPLC[®].

A análise cromatográfica das aminas e aminoácidos derivados foi realizada em cromatógrafo líquido de ultra eficiência modelo Waters Acquity[®] Ultra Performance LC (UPLC[®]) (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com um detector Acquity[®] tunable ultraviolet (TUV) (Waters, Milford, MA, EUA). Utilizou-se coluna de fase reversa Acquity UPLC[®] BEH C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 µm) para separação dos analitos. Duas fases móveis foram empregadas na separação, conforme gradiente demonstrado na Tabela 2, (A) tampão acetato de sódio 0,1 mol/L em água ultrapura com pH ajustado para 4,8 com ácido acético, e (B) acetonitrila, ambas fases filtradas à vácuo em membrana com tamanho de poro de 0,22 µm (GV Durapore Merck[®]) e sonicados por 30 minutos para remoção de bolhas de ar. O volume de injeção de amostra na coluna foi 2 µL, o fluxo de 1 mL/min e o comprimento de onda de detecção UV foi 249 nm a uma taxa de amostragem de 40 pontos/s. O software Waters Empower 2 foi utilizado para controle do UPLC e aquisição dos dados.

A identificação das aminas e aminoácidos foi feita por comparação do tempo de retenção dos picos dos analitos na amostra em relação aos da solução padrão e também pela adição de padrões na solução obtida após extração das aminas nas amostras de cada tratamento. O cálculo da concentração das aminas e aminoácidos foi feito por interpolação nas respectivas curvas analíticas. Os resultados de aminas bioativas foram expressos em base úmida.

Tabela 2. Gradiente das fases móveis utilizado para a separação das aminas bioativas e aminoácidos livres nos extratos de azeitona por UPLC

Tempo (min)	Gradiente da fase móvel (%)	
	A (solução tampão)	B (acetonitrila)
0,1	100	0
2,5	100	0
4,0	97	3
9,0	70	30
9,5	0	100
10,0	0	100

Reequilíbrio às condições iniciais por mais 1,5 minuto.

Tempo total corrida: 12 minutos.

2.7. Análise estatística

Os dados foram avaliados quanto à normalidade, e os que não apresentaram distribuição normal (fenólicos totais e relação polpa/caroço) foram submetidos à transformação logarítmica. Foi feita a análise de variância (ANOVA fatorial) de todos os

dados e posteriormente comparou-se as médias obtidas entre as duas cultivares e as médias de uma mesma cultivar em diferentes tempos de colheita, pelo teste de Tukey. Também foi feita a análise de correlação de Pearson (para os dados normais) e de Spearman para os demais. Além disso, foram feitas análises de regressão linear para os parâmetros avaliados. Os dados foram analisados ao nível de 5% de significância. Para os testes de normalidade e correlações foi utilizado o software InfoStat, UNC, Córdoba, AR, 2008. Já para as análises de variância e regressões foi usado SISVAR, versão 5.0, DEX/UFLA, Lavras, MG, 2007.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DAS AZEITONAS

1.1. Dimensões longitudinal e transversal

Os resultados obtidos para os diâmetros longitudinal – DL e transversal – DT das azeitonas ao longo do desenvolvimento do fruto estão apresentados na Tabela 3. Observa-se que os frutos da Grappolo 541 apresentaram maiores dimensões físicas que a Arbequina, em todos os tempos de colheita. Na maior parte dos tempos avaliados, tanto o DL quanto o DT da cultivar Grappolo 541 foram cerca de 1,3 vezes maiores que os da Arbequina.

Tabela 3. Diâmetro longitudinal (DL) e transversal (DT) durante o desenvolvimento das azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG

Tempo (dias após antese)	Diâmetros (mm)			
	Longitudinal (DL)		Transversal (DT)	
	Arbequina	Grappolo 541	Arbequina	Grappolo 541
86	12,49 ± 0,51 y,d	15,92 ± 0,80 x,d	8,77 ± 0,33 y,e	11,34 ± 0,77 x,e
106	12,98 ± 0,80 y,cd	17,54 ± 0,53 x,c	9,95 ± 0,44 y,d	13,33 ± 0,44 x,d
124	13,52 ± 0,08 y,bcd	18,32 ± 1,13 x,bc	10,78 ± 0,24 y,cd	14,14 ± 0,79 x,cd
141	14,12 ± 0,47 y,bc	18,4 ± 0,77 x,bc	11,62 ± 0,07 y,c	15,04 ± 0,55 x,c
162	15,08 ± 0,07 y,ab	19,78 ± 0,36 x,ab	13,04 ± 0,26 y,b	16,23 ± 0,43 x,b
177	15,85 ± 0,07 y,a	20,35 ± 0,89 x,a	14,43 ± 0,18 y,a	17,63 ± 0,18 x,a

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras iguais (a, b, c, d, e) nas colunas, e de letras iguais (x, y) nas linhas, entre as cultivares não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados encontrados condizem com o esperado, visto que a cultivar Arbequina possui frutos conhecidamente pequenos (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; COUTINHO, RIBEIRO e CAPPELLARO, 2009; MEFTAH, BOUGHAD e BOUCHELTA, 2014). Diferenças de tamanho entre as variedades de azeitonas ocorrem principalmente pela diferença no número de células presentes no pericarpo do fruto, característico de cada cultivar, sendo a divisão e a expansão celular

os principais processos que determinam o tamanho final de frutos carnosos, como é o caso da azeitona (RAPOPORT, COSTAGLI e GUCCI, 2004; GOMEZ-JIMENEZ et al., 2010^a; HAMMAMI, MANRIQUE e RAPOPORT, 2011).

No presente trabalho, as azeitonas começaram a ser avaliadas 86 dias após a antese, ou seja, os frutos já haviam passado o período de maior intensidade da divisão celular, que vai da fecundação até 60 dias após a antese. Portanto, somente o processo de expansão celular, que ocorre após o endurecimento do caroço (90 a 150 dias após antese) foi acompanhado, além do início da maturação dos frutos.

Em relação à variação das dimensões para cada cultivar com o tempo, houve um aumento linear de 27% e 64% dos DL e DT da cv. Arbequina, respectivamente, e um aumento linear de 28% e 56% dos DL e DT da cv. Grappolo 541, respectivamente, no período avaliado. Ainda, apesar da variação percentual das duas cultivares ter sido similar, os frutos da cv. Grappolo 541 expandiram mais rapidamente, quando se observa as inclinações do gráfico obtido com os valores de DL e DT *versus* tempo das duas cultivares (Tabela 4).

Tabela 4. Equações das retas e coeficientes de regressão linear dos diâmetros longitudinais e transversais durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG

Azeitona / Diâmetros	Equação da reta	Coeficiente de regressão linear (R ²)
Arbequina		
Longitudinal	$y = 0,0369x + 9,108$	0,9810
Transversal	$y = 0,0599x + 3,478$	0,9868
Grappolo 541		
Longitudinal	$y = 0,0455x + 12,353$	0,9608
Transversal	$y = 0,0641x + 6,108$	0,9848

1.2. Massas

Como indicado na Figura 11, as massas médias da cv. Grappolo 541 foram cerca de duas vezes maiores que as da Arbequina em todos os tempos avaliados, sendo os valores médios do último tempo de colheita para a cv. Grappolo 541 igual a 3,81 g e para a cv. Arbequina, de 1,97 g, respectivamente. Tais valores são semelhantes ao encontrado por Oliveira et al. (2012), em que a massa dos frutos da cv. Grappolo 541

(3,14 g) foi superior à massa da cv. Arbequina (1,47 g), mantendo a mesma proporção de diferença entre elas (cerca de duas vezes maior). Os frutos avaliados por Oliveira et al. (2012) foram cultivados na mesma região que a do presente trabalho (Campo Experimental de Maria da Fé, pertencente à EPAMIG) e foram colhidos em fevereiro de 2009, no mesmo estágio de desenvolvimento que a última coleta (177 dias após antese), indicando que a diferença proporcional entre a massa média das cultivares em questão se manteve mesmo mediante possíveis diferenças climáticas.

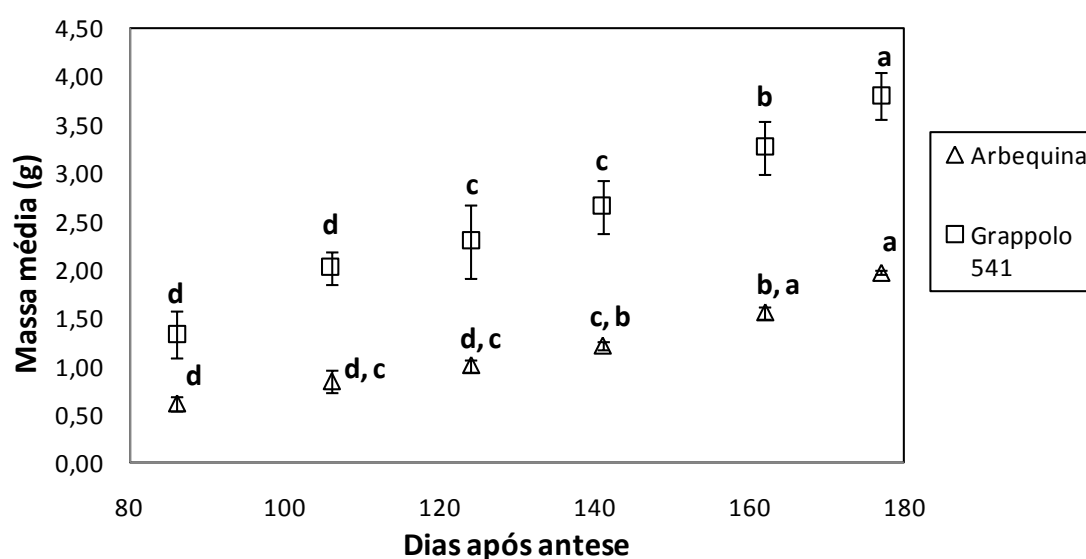


Figura 11. Massas médias (g) de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG durante o desenvolvimento (86, 106, 124, 141, 162 e 177 dias após antese). Teores médios ($n=10$) com letras diferentes (a-e) para uma mesma cultivar são significativamente diferentes (teste de Tukey, $p \leq 0,05$). As barras representam o desvio padrão das médias obtidas.

Em relação à variação da massa média ao longo do tempo para cada cultivar, ambas aumentaram significativamente seus teores no período avaliado. Comparando-se os últimos com os primeiros tempos de coleta, para cada cultivar individualmente, os aumentos foram de 224% para Arbequina e 185% para Grappolo 541.

De acordo com a análise de regressão linear, ambas as cultivares aumentaram suas massas com taxas lineares (Tabela 5), o que está de acordo com estudo de Sanchez (1994), com frutos de azeitonas. Além disso, de maneira similar aos resultados para DL e DT, a velocidade de ganho de massa para Grappolo 541 foi superior à Arbequina, considerando que seu coeficiente angular foi superior. Ainda, os diâmetros longitudinal e transversal apresentaram uma correlação muito forte com a massa média das cultivares estudadas, como esperado, visto que a massa e os

diâmetros são parâmetros relativos ao crescimento dos frutos. Estas correlações, e as que serão apresentadas ao longo da discussão, encontram-se na tabela do Apêndice.

Tabela 5. Equações das retas e coeficientes de regressão linear das massas médias durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG

Azeitona	Equação da reta	Coeficiente de regressão linear (R ²)
Arbequina	$y = 0,0143x - 0,6942$	0,9640
Grappolo 541	$y = 0,0257x - 0,8464$	0,9865

1.3. Relação polpa/caroço

Em todos os tempos analisados, com exceção do primeiro (86 dias após a antese), os valores da relação polpa/caroço (RPC) da cv. Grappolo 541 foram significativamente superiores aos da cv. Arbequina (Tabela 6). RPC é um parâmetro importante para se avaliar a distribuição da massa entre polpa e caroço no fruto (DEHGHANI et al., 2014) e, juntamente com outros parâmetros, como massa total e diâmetros, permite concluir a respeito da aptidão do fruto à produção de azeitonas de mesa. Sendo assim, os resultados superiores de RPC, diâmetros e massa média da Grappolo 541 confirmam sua finalidade para produção de azeitona de mesa.

Tabela 6. Relação polpa/caroço durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fé, MG

Tempo (dias após antese)	Relação polpa/caroço	
	Arbequina	Grappolo 541
86	1,54 ± 0,44 x,c	1,64 ± 0,22 x,e
106	1,43 ± 0,12 y,c	2,07 ± 0,26 x,de
124	1,71 ± 0,03 y,bc	2,53 ± 0,36 x,cd
141	2,09 ± 0,13 y,b	3,34 ± 0,32 x,bc
162	2,90 ± 0,13 y,a	4,02 ± 0,45 x,ab
177	3,75 ± 0,15 y,a	4,91 ± 0,14 x,a

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras iguais (a, b, c, d, e) nas colunas, e de letras iguais (x, y) nas linhas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A porcentagem de aumento dos valores de RPC para a cv. Arbequina foi de 143% e para cv. Grappolo 541 de 199%. Ainda, em relação à RPC para a cv. Arbequina durante o tempo, os valores obtidos nos três primeiros tempos de coleta (86, 106 e 124 dias após a antese) foram significativamente menores que os valores obtidos nos últimos tempos (162 e 177 dias após a antese) e para a cv. Grappolo 541, os valores nos dois primeiros tempos de coleta (86 e 106 dias) foram significativamente inferiores aos últimos (162 e 177 dias após a antese). Tais dados estão de acordo com Conde, Delrot e Gerós (2008) que afirmam que, a quarta fase de desenvolvimento dos frutos da oliveira (entre 90 e 150 dias após a floração) é aquela na qual ocorre maior desenvolvimento do mesocarpo devido à expansão das células pré-existentes e grande acúmulo de óleo. Em concordância com o descrito por esses autores, os valores de RPC após 162 dias da antese foram significativamente superiores aos dos primeiros tempos, para ambas as cultivares.

Pelo estudo de regressão linear observou-se que ambas as cultivares apresentaram taxas de aumento lineares com o tempo para os valores de RPC, sendo a cv. Grappolo 541 a que obteve maior velocidade de aumento desse parâmetro (Tabela 7). E por também ser um parâmetro que permite acompanhar o ganho de massa do mesocarpo, a RPC obteve forte correlação com o DL, com a massa e muito forte correlação com o DT.

Tabela 7. Equações das retas e coeficientes de regressão linear das relações polpa-carço (RPC) durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG

Azeitona	Equação da reta	Coefficiente de regressão linear (R ²)
Arbequina	$y = 0,0246x - 1,0214$	0,8476
Grappolo 541	$y = 0,0358x - 1,6671$	0,9758

2. TEORES DE UMIDADE E LIPÍDEOS

2.1. Teores de umidade

No presente trabalho, observou-se uma redução significativa dos teores de umidade em ambas cultivares analisadas dos primeiros até os últimos tempos de coleta

(Tabela 8), tendência também encontrada nos trabalhos de Morelló, Romero e Motilva (2004), Gutierrez-Rosales et al. (2010) e Fernandez-Orozco et al. (2011).

A redução percentual dos teores de umidade, do primeiro ao último tempo avaliado, das cultivares Grappolo 541 e Arbequina foi a mesma, com um percentual de 7,6. Além disso, por terem apresentado coeficientes de regressão linear semelhantes (Tabela 9), pode-se inferir que a velocidade de diminuição do teor de umidade de ambas foi similar. Possivelmente, os fatores externos foram predominantes na influência do teor de umidade da Arbequina e Grappolo 541, uma vez que as duas cultivares foram submetidas aos mesmos fatores ambientais, como índice pluviométrico, tipo de solo, temperatura, além de estarem em grau semelhante de amadurecimento (MAILER, AYTON e CONLAN, 2007; TALHAOUI et al., 2015b).

Tabela 8. Teores de umidade (g/100 g) durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fe, MG

Tempo (dias após antese)	Teor de umidade (g/100 g)	
	Arbequina	Grappolo 541
86	71,29 ± 0,91 x,a	71,19 ± 0,90 x,a
106	69,40 ± 0,46 y,ab	71,74 ± 1,49 x,a
124	68,84 ± 0,88 y,b	70,71 ± 1,04 x,a
141	67,31 ± 0,81 x,bc	67,54 ± 1,39 x,b
162	65,95 ± 0,56 y,c	67,48 ± 0,35 x,b
177	65,88 ± 0,28 x,c	65,79 ± 0,72 x,b

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras iguais (a, b, c, d, e) nas colunas, e de letras iguais (x, y) nas linhas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 9. Equações das retas e coeficientes de regressão linear do teor de umidade durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG

Azeitona	Equação da reta	Coefficiente de regressão linear (R ²)
Arbequina	y = -0,0611x + 76,216	0,9686
Grappolo 541	y = -0,0665x + 77,891	0,8636

Por ter havido diferença significativa no teor de umidade de ambas as cultivares durante o desenvolvimento, os resultados de lipídeos totais e fenólicos totais foram apresentados em base seca.

2.2. Teores de lipídeos

Os teores de lipídeos de ambas as cultivares estudadas aumentaram significativamente ao longo do tempo (Tabela 10), o que era esperado, uma vez que o teor desses compostos aumenta à medida que o fruto de azeitona se desenvolve e amadurece (SANCHEZ, 1994; ISSAOUI et al., 2008; RAMALHEIRO, 2009; TALHAOUI et al., 2015b). Ainda, de acordo com Sanchez (1994) e Conde, Delrot e Gerós (2008), o maior acúmulo de óleo no mesocarpo do fruto da azeitona ocorre no período de 90 a 150 dias após antese, o que está coerente com o comportamento das azeitonas estudadas no presente trabalho.

Tabela 10. Teores de lipídeos (g/100 g) em base seca durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fé, MG

Tempo (dias após antese)	Teores de lipídeos (g/100 g)	
	Arbequina	Grappolo 541
86	10,39 ± 2,87 x,e	10,25 ± 2,31 x,e
106	20,43 ± 0,85 y,d	25,47 ± 6,59 x,d
124	33,07 ± 0,86 x,c	35,61 ± 3,08 x,c
141	37,00 ± 1,26 x,c	41,41 ± 3,46 x,bc
162	47,56 ± 3,30 x,b	47,51 ± 1,53 x,ab
177	57,28 ± 3,16 x,a	48,91 ± 0,81 y,a

Médias (± desvio padrão) seguidas de letras iguais (a, b, c, d, e) nas colunas, e de letras iguais (x, y) nas linhas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No último tempo de coleta (177 dias após a antese), que corresponde à coleta posterior ao período de maior acúmulo de óleo no mesocarpo, a cultivar Arbequina apresentou maior teor de lipídeos totais quando comparada à Grappolo 541. O maior acúmulo de óleo pela cultivar Arbequina era esperado, visto sua aptidão para produção de azeites. No entanto, é importante ressaltar que apesar da importância do teor de lipídeos totais em frutos de azeitonas para definição de sua aptidão e da coleta no período ideal (que apresente maior rendimento em óleo), é necessário também avaliar o perfil e teor dos ácidos graxos e de compostos fenólicos no fruto em diferentes graus de amadurecimento, a fim de se obter azeites com maior rendimento, estabilidade oxidativa e boa qualidade (GÓMEZ-GONZÁLEZ, RUIZ-JIMÉNEZ e CASTRO, 2011; MEFTAH, BOUGHADAD e BOUCHELTA, 2014; HBAIEB et al., 2015).

Os lipídeos apresentaram forte correlação inversa com a umidade, o que era esperado uma vez que o teor de lipídeos aumenta e o teor de umidade reduz ao longo

do desenvolvimento dos frutos, tendências também observadas no trabalho de Morelló, Romero e Motilva (2004). Ainda, os lipídeos apresentaram forte correlação com RPC e DT, provavelmente devido à intensa síntese de lipídeos na polpa dos frutos no mesmo período em que as células do mesocarpo dos frutos se expandiram mais intensamente (CONDE, DELROT e GERÓS, 2008).

3. AMINOÁCIDOS LIVRES

Dentre os dezessete (17) aminoácidos livres pesquisados na polpa das azeitonas, apenas sete (7) foram detectados, incluindo arginina, prolina, tirosina, treonina, alanina e a soma de ácido aspártico com serina, sendo o limite de detecção do método de 1 pmol/ μ L. Os teores de alanina, treonina e a soma ácido aspártico e serina foram detectados em quantidades traços e assim permaneceram ao longo de todo o desenvolvimento das variedades Arbequina e Grappolo 541.

Já os aminoácidos arginina, prolina e tirosina foram quantificados ao longo do desenvolvimento das azeitonas. Os teores de prolina, apresentados na Tabela 11, só puderam ser avaliados para a variedade Arbequina, devido ao pico cromatográfico da prolina nas amostras da variedade Grappolo 541 ter se unido a outra substância não identificada, o que inviabilizou sua quantificação.

O aminoácido prolina foi quantificado nos três últimos tempos de coleta nas amostras da cv. Arbequina, com pequena variação nos valores (0,42 a 0,51 mg/100 g). A arginina apresentou valores quantificáveis, em ambas as variedades, apenas nos dois últimos tempos de coleta. A tirosina, por sua vez, foi o único aminoácido livre quantificado em todos os tempos de coleta para as duas cultivares. Os teores de tirosina na cv. Arbequina apresentaram uma tendência de redução do 86º até o 106º dia, mantendo valores similares até atingir a maturidade fisiológica (177 dias após a antese). Essa tendência também foi observada para a cultivar Grappolo 541, no entanto, com teores deste aminoácido três vezes maiores que na Arbequina.

Uma vez que a tirosina é substrato para as reações de escurecimento enzimático em frutos (Friedman, 1996), uma maior concentração deste aminoácido na azeitona Grappolo 541 pode proporcionar um maior escurecimento do mesmo, caso haja condições adequadas para a reação. Ainda, sabe-se que a tirosina participa da via biossintética de metabólitos secundários presentes no fruto da oliveira, como oleuropeína e hidroxitirosol (ALAGNA et al., 2012), sendo possível que alguns dos polifenóis das cultivares em estudo tenham sido provenientes deste aminoácido.

Tabela 11. Teores de aminoácidos livres avaliados durante o desenvolvimento de azeitonas Arbequina e Grappolo 541 cultivadas em Maria da Fé, MG

Dias após antese	Aminoácidos livres (mg/100 g bu)				
	Arginina		Tirosina		Prolina
	Arbequina	Grappolo 541	Arbequina	Grappolo 541	Arbequina
86	nd	nd	4,91	7,26	nd
106	nd	nd	2,18	3,87	nd
124	nd	nd	2,33	5,84	nd
141	nd	nd	2,03	5,3	0,42
162	0,60	0,95	2,15	6,14	0,48
177	0,94	0,80	2,53	5,47	0,51

b.u.: base úmida; nd: não detectado

Arginina apresentou correlação moderada com diâmetro transversal e com a massa média e forte correlação com RPC dos frutos de azeitona, o que sugere que o crescimento dos frutos estudados pode ter sido influenciado por esse aminoácido. A arginina também apresentou muito forte correlação com prolina. É possível que essa correlação tenha ocorrido devido a ambas participarem de uma mesma via biossintética, na qual o glutamato é um dos produtos obtidos, conforme relatado por Alcázar et al. (2010).

A prolina, investigada apenas na cv. Arbequina, apresentou correlação muito forte com o DT, DL, massa, e forte correlação com RPC. Tais correlações indicam que este aminoácido pode ter influenciado fortemente no crescimento do fruto da cultivar Arbequina.

4. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Os teores de compostos fenólicos totais na cultivar Grappolo 541 foram superiores ao da cv. Arbequina em todos os tempos avaliados, com uma diferença aproximadamente três vezes maior, no último tempo avaliado (Figura 12). Resultados de Talhaoui et al. (2015b) também reportaram diferenças significativas nos teores de compostos fenólicos em diferentes cultivares de azeitona. Além disso, Meftah, Boughdad e Bouchelta (2014) afirmam que a cv. Arbequina possui baixos teores de compostos fenólicos, o que confirma os resultados obtidos no presente trabalho.

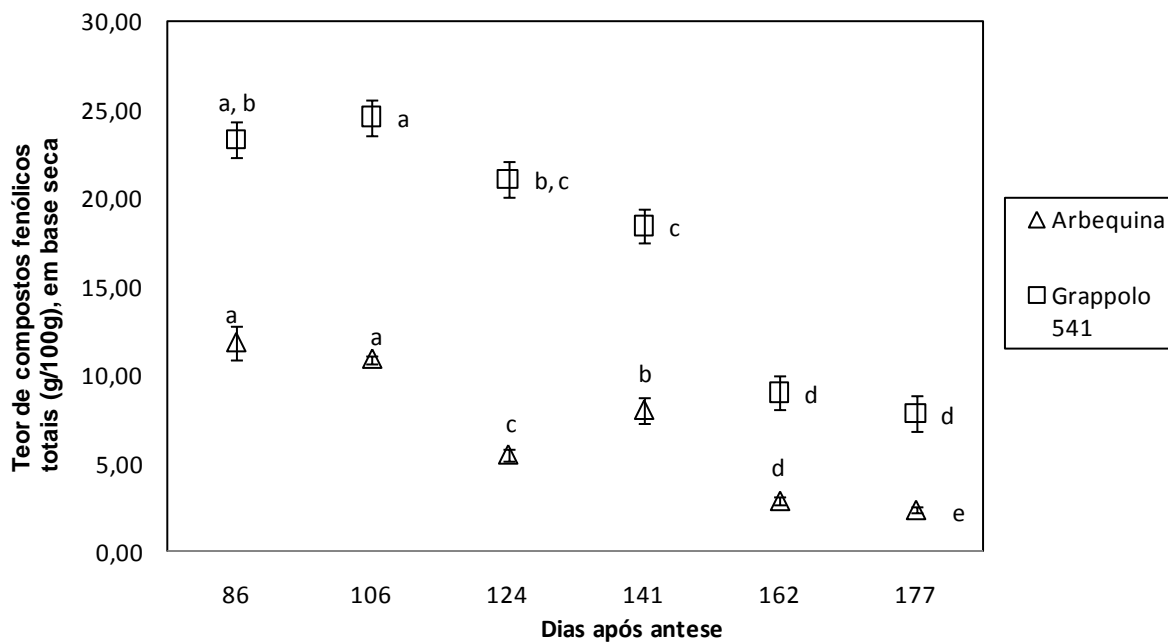


Figura 12. Teores de compostos fenólicos totais (g EAG/100g) em base seca durante o desenvolvimento (86, 106, 124, 141, 162 e 177 dias após antese) de azeitonas Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG. Médias de cada cultivar seguidas com letras iguais (a, b, c, d, e) não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e as barras representam o desvio padrão das médias.

A variedade de azeitona, que está relacionada a fatores genéticos, a posição na árvore, disponibilidade de água, temperatura, práticas agrícolas, entre outros, são fatores que influenciam no teor de compostos fenólicos em frutos (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; TALHAOUI et al., 2015b). Uma vez que as azeitonas estudadas no presente trabalho foram cultivadas em uma mesma região, sob condições climáticas e práticas agrícolas semelhantes, é provável que a diferença encontrada no teor de fenólicos tenha sido predominantemente devido a fatores genéticos de cada cultivar.

Teores mais elevados de compostos fenólicos podem interferir na resistência a pragas durante o cultivo, na estabilidade oxidativa e características sensoriais dos produtos de azeitonas (MORELLÓ, ROMERO e MOTILVA, 2004; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; CONDE, DELROT e GERÓS, 2008; HBAIEB et al., 2015). Dessa forma é importante quantificar os polifenóis totais de cada cultivar de azeitonas.

Uma redução significativa nos teores dos compostos fenólicos ao longo do desenvolvimento também foi observada para ambas cultivares estudadas. Tal decréscimo ocorre devido à provável degradação dos polifenóis em decorrência do

aumento da atividade de enzimas hidrolíticas no fruto nesse período (MORELLÓ, ROMERO E MOTILVA, 2004; ARTAJO, ROMERO e MOTILVA, 2006; CARDOSO, 2006; DAMAK et al. 2008; CHAROENPRASERT e MITCHELL, 2012). A redução dos compostos fenólicos, principalmente da oleuropeína, durante o desenvolvimento do fruto da oliveira é importante para a aceitação das azeitonas de mesa, uma vez que em altas concentrações, esses compostos são responsáveis por conferir intenso amargor ao fruto (BARBARO et al., 2014; IOOC, 2016).

Ainda, os teores de compostos fenólicos totais reduziram 66,5% para a cv. Grappolo 541 e 80% para a cv. Arbequina ao longo do período avaliado. Essas porcentagens de perda foram maiores que as descritas por Conde, Delrot e Gerós, 2008, que relataram perdas de até 50% apenas.

Os compostos fenólicos apresentaram uma moderada correlação com a tirosina. Essa correlação pode estar relacionada à participação deste aminoácido na biossíntese de alguns de compostos fenólicos presentes em azeitonas (ALAGNA et al. 2012), como já descrito anteriormente.

Os compostos fenólicos também apresentaram uma forte correlação com a umidade. Tal correlação era esperada, uma vez que tanto a umidade quanto o teor de fenólicos dos frutos reduziram com o tempo.

5. AMINAS BIOATIVAS

5.1. Otimização de método de extração de aminas bioativas nas azeitonas

Os resultados da eficiência dos ácidos tricloroacético (TCA 5%) e clorídrico (HCl 0,1 mol/L), utilizados na extração de aminas bioativas de azeitonas, estão descritos na Tabela 12. O percentual médio de recuperação para o TCA foi de 91,7% (faixa de 69,4 a 100,8%), enquanto para o HCl foi de 81,8% (faixa de 38,5 a 97,1%). Não foi observada diferença significativa para a maioria das aminas, com exceção da tiramina, serotonina e triptamina, para as quais o TCA apresentou maiores percentuais de recuperação.

Semelhantes resultados foram encontrados por Hornero-Méndez e Garrido-Fernández (1994), que observaram que o TCA 5% p/v apresentou melhor desempenho como solvente extrator de aminas (putrescina, espermidina, cadaverina, histamina, tiramina, feniletilamina e triptamina) para azeitonas de mesa, em comparação ao metanol. O solvente extrator adequado para quantificação de aminas é dependente da

matriz e deve sempre ser avaliado, visto que outros estudos com frutas e queijo obtiveram melhores resultados na recuperação da maioria das aminas utilizando HCl (1 mol/L), quando comparado com outros solventes extratores, dentre eles o TCA 5% (SANTIAGO-SILVA, 2004; CUSTÓDIO, TAVARES e GLÓRIA, 2007; SANTIAGO-SILVA, LABANCA e GLÓRIA, 2011).

Tabela 12. Percentuais médios de recuperação de aminas bioativas de azeitonas adicionadas de nove aminas durante extração com ácido tricloroacético 5% e ácido clorídrico 1 mol/L.

Aminas	Recuperação média em % (CV em %)	
	TCA (5%)	HCl (1 mol/L)
Espermidina	93,9 ^a (5,8)	87,1 ^a (2,4)
Agmatina	94,3 ^a (5,1)	88,3 ^a (3,1)
Putrescina	100,8 ^a (9,3)	97,1 ^a (5,1)
Cadaverina	98,3 ^a (5,9)	91,4 ^a (3,1)
Histamina	96,5 ^a (5,6)	90,3 ^a (3,1)
Tiramina	94,4 ^a (5,2)	87,1 ^b (3,0)
Feniletilamina	93,2 ^a (6,8)	85,8 ^a (4,6)
Serotonina	69,4 ^a (5,3)	38,5 ^b (8,5)
Triptamina	84,4 ^a (4,6)	70,2 ^b (6,6)
Faixa	69,4 – 100,8	38,5 – 97,1
Media	91,7	81,8

CV: coeficiente de variação; TCA: ácido tricloroacético; HCl: ácido clorídrico. *Valores médios (n=3) com letras diferentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (teste T, p<0,05).

De acordo com CODEX (2003), os percentuais de recuperação aceitáveis para as concentrações de aminas deveriam estar entre 80 e 110%, e ainda, os coeficientes de variação não devem exceder o valor de 15% para terem uma repetibilidade aceitável. Levando-se em consideração a faixa percentual de recuperação aceitável, a extração por TCA foi adequada para todas as aminas, exceto para a serotonina, cuja porcentagem de recuperação foi menor que 80%, e.g. 69,4%. Já a extração por HCl 1 mol/L não foi eficiente tanto para a triptamina como para serotonina. Com relação ao coeficiente de variação, é possível afirmar que a extração tanto por TCA 5% quanto por HCL 1 mol/L são adequadas para todas as aminas analisadas. Assim, a extração de aminas de azeitonas foi feita utilizando-se TCA 5%, que se apresentou como melhor solvente extrator.

5.2. Teores de aminas bioativas por CLAE par iônico

Os resultados obtidos para a análise de aminas bioativas por CLAE par iônico indicaram quantidades traços de aminas bioativas nas amostras coletadas durante o desenvolvimento de azeitonas das cultivares Arbequina e Grappolo 541 nos níveis detectáveis pela técnica. Para confirmação desse resultado, realizou-se a extração das amostras de azeitonas de maneira a se concentrar os extratos, e os mesmos foram submetidos à análise por UPLC, o qual apresenta as vantagens de também detectar aminoácidos livres e apresentar um menor limite de detecção. A análise simultânea de aminas e aminoácidos é relevante, pois permite verificar a existência de aminoácidos precursores das aminas.

5.3. Teores de aminas bioativas por UPLC

Dentre as 10 aminas pesquisadas, foram detectadas nas azeitonas, apenas as aminas histamina, agmatina e feniletilamina. A frequência de ocorrência para cada cultivar de azeitona, calculada em função da ocorrência da amina quantificada nos seis tempos de coleta, está indicada na Figura 13.

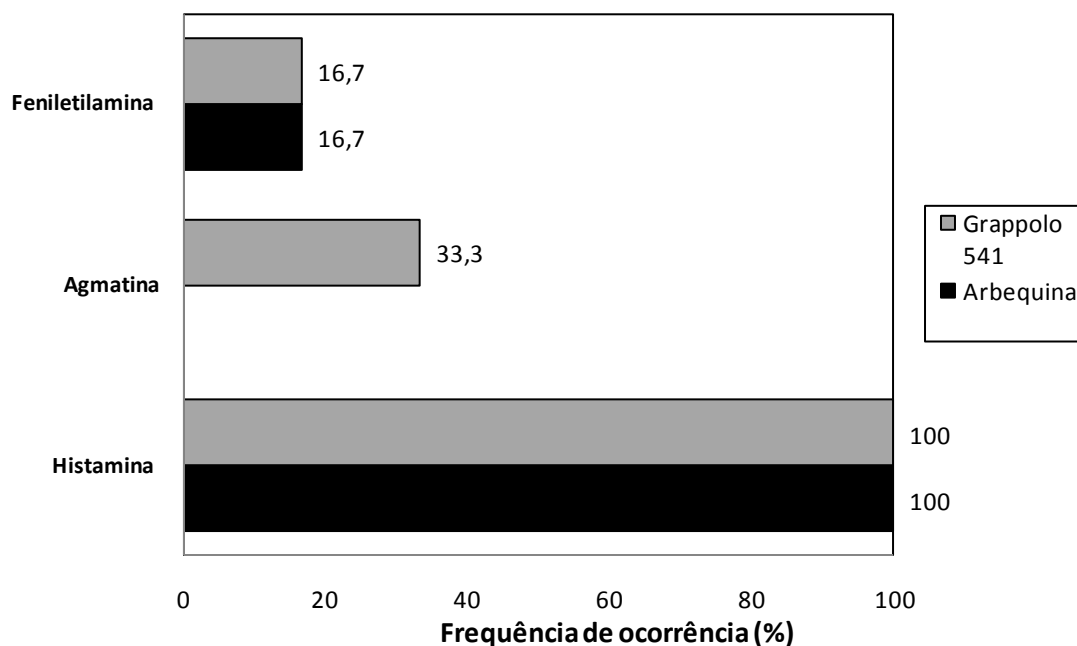


Figura 13. Frequência de ocorrência de aminas bioativas em azeitonas das cultivares Arbequina e Grappolo 541 durante o desenvolvimento (86, 106, 124, 141, 162 e 177 dias após antese).

A histamina foi a amina mais prevalente, encontrada em todas as amostras durante o período analisado, para ambas as cultivares. Esta amina também foi encontrada em casca e polpa de pêsegos, que são drupas, assim como as azeitonas (SANTIAGO-SILVA, 2004) e em estudo com tomate (MORET et al., 2005). A presença de histamina em frutos pode estar relacionada à ação protetora contra insetos e predadores, conforme relatado em outros estudos (SANTIAGO-SILVA, 2004; BANDEIRA, EVANGELISTA e GLÓRIA, 2012; PAIVA et al., 2015).

A feniletilamina foi a segunda amina mais prevalente na cultivar Arbequina, estando presente em cerca de 17% das amostras avaliadas no presente estudo. Para a cultivar Grappolo 541, a feniletilamina, apesar de estar presente também em cerca de 17% das amostras, foi a terceira amina mais prevalente, seguida da agmatina, que aparece em 33,3% das amostras avaliadas da Grappolo 541.

A presença de feniletilamina em vegetais também pode estar relacionada à proteção contra ataque de predadores ou como precursora de compostos biologicamente importantes (hormônios vegetais e alcalóides, por exemplo) (SMITH, 1977; PAIVA et al., 2015).

A presença das poliaminas espermina e, principalmente, espermidina era esperada, devido ao fato de terem relevante função em células vivas e já terem sido detectadas em diversos frutos (SANTIAGO-SILVA, 2004; GLÓRIA, 2005; AGUDELO-ROMERO et al., 2013; KALAC, 2014). A ausência de poliaminas livres nos frutos de azeitonas durante o período avaliado indica que estas podem estar presentes predominantemente na fase mais precoce do desenvolvimento do fruto de azeitona, em que ocorre intensa divisão celular. Esta suposição é corroborada pelo estudo de Gomez-Jimenez et al. (2010^a), no qual o mais alto teor de poliaminas livres, avaliado no período de 7 dias anteriores à abertura floral até 28 dias após a antese, ocorreu na própria antese, em azeitonas da cv. Arbequina. Outra hipótese é que as poliaminas possam estar presentes em maior concentração na forma conjugada nas fases posteriores do desenvolvimento dos frutos de oliveira, como foi relatado por estudo de Gomez-Jimenez et al. (2010^b).

Os teores encontrados para cada amina bioativa nas azeitonas estão demonstrados na Figura 14.

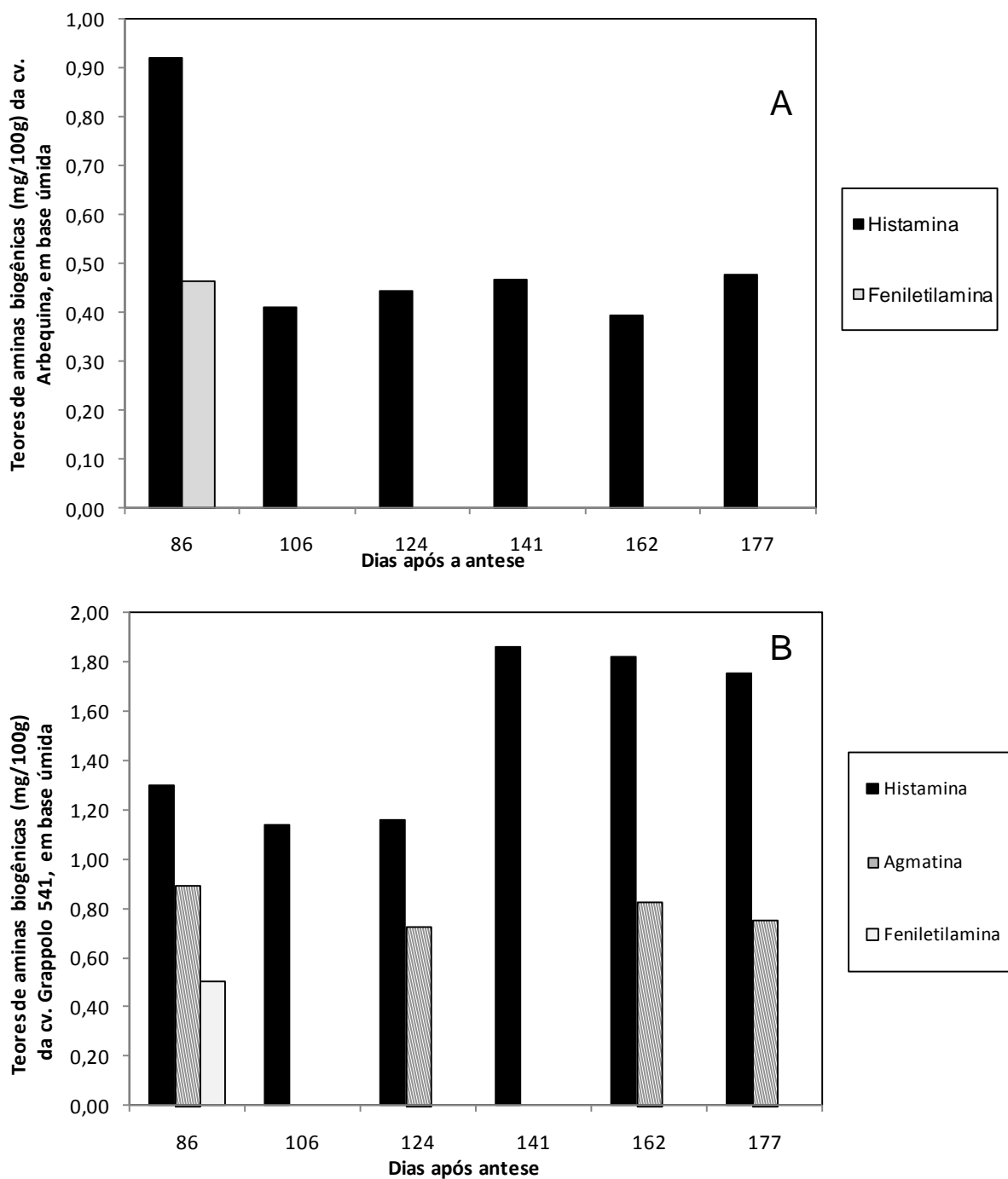


Figura 14. Teores de aminas bioativas em azeitonas das cultivares Arbequina (A) e Grappolo 541 (B) durante o desenvolvimento de 86 a 177 dias após antese.

A histamina para a cultivar Arbequina apresentou uma tendência de redução dos teores do primeiro para o segundo tempo avaliados, com níveis praticamente constantes até o último tempo avaliado. Em relação à cultivar a cultivar Grappolo 541 permaneceu praticamente constante nos três primeiros tempos de coleta, com tendência de aumento do terceiro para o quarto tempo, mantendo praticamente constante posteriormente.

A feniletilamina foi encontrada em teores acima do limite de detecção apenas no primeiro tempo de coleta tanto para Arbequina quanto para Grappolo 541, com valores similares para ambas as cultivares: 0,46 e 0,50 mg/100 g, respectivamente.

A agmatina foi detectada apenas na cv. Grappolo 541, nos tempos de 86, 124, 162 e 177 dias após a antese. Esta amina apresentou uma correlação moderada com o diâmetro longitudinal das azeitonas, o que sugere que a mesma pode ter participado do crescimento e proliferação celular dos frutos, conforme já relatado por Naila et al. (2010).

6. CORRELAÇÃO ENTRE OS PARÂMETROS ANALISADOS

A histamina apresentou moderada e forte correlações com os diâmetros transversal e longitudinal, respectivamente, e ainda uma forte correlação com a massa média dos frutos. Tal resultado sugere que a histamina pode ter influenciado nos processos de crescimento celular, interferindo, portanto no tamanho final e massa dos frutos. A influência de poliaminas no tamanho final dos frutos de azeitonas foi reportada por Gomez-Jimenez et al., (2010^a), sendo a influência da histamina e de outras amins biogênicas no crescimento e tamanho de frutos de azeitonas ainda não investigada na literatura científica até o momento. Estudos a respeito dos teores de poliaminas conjugadas devem ser feitos em frutos de oliveira, uma vez que sua forma conjugada pode ser predominante em relação à sua forma livre, em determinadas fases de desenvolvimento desse fruto.

A histamina e agmatina foram correlacionadas fortemente com a tirosina. Como descrito anteriormente, sabe-se que o aminoácido tirosina participa da via biossintética dos principais metabólitos secundários presentes no fruto da oliveira, no entanto não foi encontrada informação sobre os papéis específicos dessas amins no metabolismo em azeitonas, o que leva a necessidade mais estudos nesse sentido.

CONCLUSÕES

As cultivares estudadas, nas condições do presente trabalho, apresentaram diferenças significativas em relação à razão polpa/caroço, ao teor de lipídeos totais e ao teor de fenólicos totais no último tempo de coleta (177 dias após a antese), sendo a cv. Grappolo 541 a mais apropriada para produção de azeitona de mesa e a cv. Arbequina a de melhor aptidão para produção de azeite de oliva.

A tirosina, aminoácido livre prevalente para ambas as cultivares, apresentou uma tendência de redução no período avaliado e uma correlação moderada com os compostos fenólicos, o que pode ser devido a sua participação na via de biossíntese dos polifenóis. A arginina e prolina apresentaram forte correlação entre si, possivelmente devido à participação de ambas em uma mesma rota metabólica, que passa pela biossíntese de glutamato.

Dentre as diversas aminas bioativas investigadas, apenas histamina, feniletilamina e agmatina foram encontradas nos frutos de oliveira, sendo estes dados os primeiros relatados no meio científico. A histamina, amina mais prevalente, pode estar relacionada à proteção dos frutos, assim como a feniletilamina. A histamina e agmatina apresentaram forte correlação com tirosina. Sugere-se que mais estudos sejam desenvolvidos para se compreender melhor a participação e função das aminas biogênicas nos frutos da oliveira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUDELO-ROMERO, P.; CORTOLLOTTI, C.; PAIS, M. S.; TIBURCIO, A. F.; FORTES, A. M. Study of polyamines during grape ripening indicate an important role of polyamine catabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 67, p. 105–119, 2013.
- AKTAS, A. B.; OZEN, B.; TOKATLI, F.; SEN, I. Comparison of some chemical parameters of a naturally debittered olive (*Olea europaea* L.) type with regular olive varieties. **Food Chemistry**, v. 161, p. 104–111, 2014.
- ALAGNA, F.; MARIOTTI, R.; PANARA, F.; CAPORALI, S.; URBANI, S.; VENEZIANI, G. ESPOSTO, S.; TATICCHI, A.; ROSATI, A.; RAO, R.; PERROTTA, G.; SERVILI, M.; BALDONI, L. Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development. **BMC Plant Biology**, v. 12, p. 1–19, 2012.
- ALCÁZAR, R.; ALTABELLA, T.; MARCO, F.; BORTOLOTTI, C.; REYMOND, M.; KONCZ, C.; CARRASCO, P.; TIBURCIO, A. F. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. **Planta**, v. 231, p. 1237–1249, 2010.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 19th ed. HORWITZ, W.; LATIMER JR., G.W. (Editors) Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2012.
- ARSLAN, D.; ÖZCAN, M. M. Phenolic profile and antioxidant activity of olive fruits of the Turkish variety “Sariulak” from different locations. **Grasas y Aceites**, v. 62, n. 4, p. 453–461, 2011.
- ARTAJO, L.S.; ROMERO, M. P.; MOTILVA, M. Transfer of phenolic compounds during olive oil extraction in relation to ripening stage of the fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 518–527, 2006.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191–203, 2006.
- BANDEIRA, C. M.; EVANGELISTA, W. P.; GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines in fresh, canned and dried sweet corn, embryo and endosperm and germinated corn. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1355–1359, 2012.
- BARBARO, B.; TOIETTA, G.; MAGGIO, R.; ARCIELLO, M.; TAROCCHI, M.; GALLI, A.; BALSANO, C. Effects of the olive-derived polyphenol oleuropein on human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 18508–18524, 2014.

- BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends in Food Science and Technology**, v. 6, p. 341–346, 1995.
- BARROS, F. E. N. **Caracterização da fenologia de quatro cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.): ‘Arbequina’, ‘Cobrançosa’, ‘Galega’ e ‘Picual’, qualidade da flor e do pólen numa perspectiva de modelação**. Elvas: Instituto Politécnico de Portalegre. 73p. 2011. (Dissertação de Mestrado em Agricultura Sustentável).
- BASHEER, C.; WONG, W.; MAKAHLEH, A. ; TAMEEM, A. A.; SALHIN, A.; SAAD, B.; LEE, H. K. Hydrazone-based ligands for micro-solid phase extraction-high performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in orange juice. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 4332–4339, 2011.
- BELTRÁN, G.; BEJAOUI, M. A.; JIMENEZ, A.; SANCHEZ-ORTIZ, A. Ethanol in Olive Fruit. Changes during Ripening, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 5309–5312, 2015.
- BIANCHI, G. Lipids and phenols in table olives. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 105, p. 229–242 2003.
- BINH, P. N. T., SODA, K., KAWAKAMI, M. Mediterranean diet and polyamine intake: possible contribution of increased polyamine intake to inhibition of age-associated disease. **Nutrition and Dietary Supplements**, v. 3, p. 1-7, 2011.
- BRESCIA, M. A.; PUGLIESE, T.; HARDY, E.; SACCO, A. Compositional and structural investigations of ripening of table olives, Bella della Daunia, by means of traditional and magnetic resonance imaging analyses. **Food Chemistry**, v. 105, p. 400–404, 2007.
- CANÇADO, G. M. A.; SANT’ANA, G. C.; VAL, A. D. B., FERREIRA, J. L. **Oliveira no Brasil: Tecnologias de produção**. EPAMIG, Editores: Adelson Francisco de Oliveira, pp. 225-249, 2012.
- CAPELLARO, T. H. **Período de floração e viabilidade do pólen das cultivares de oliveira Arbequina e Koroneiki, em Bagé/RS**. Pelotas, Universidade federal de Pelotas. 45p. 2010. Dissertação de Mestrado em Agronomia.
- CAPPATO, L. P.; FERREIRA, E. H. R.; ROSENTHAL, A. Azeitonas de mesa no Brasil: mercado, tecnologia e aspectos legais. **Ciência Rural**, v. 45, p. 1327–1335, 2015.
- CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, C.; FOGLIA, P.; PIOVESANA, S.; SAMPERI, R.; STAMPACHIACCHIERE, LAGANA, A. Proteomic platform for the identification of proteins in olive (*Olea europaea*) pulp. **Analytica Chimica Acta**. V. 800, p. 36–42, 2013.

- CARDOSO, L. G. V. **Características físico-químicas e avaliação do perfil de ácidos graxos de azeites obtidos de diferentes variedades de oliveiras introduzidas em Minas Gerais – Brasil**. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 89p., 2006, Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- CHAROENPRASERT, S.; MITCHELL, A. Factors influencing phenolic compounds in table olives (*Olea europaea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7081–7095, 2012.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**. 2. Ed. Rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785p.
- COBO, M.; SILVA, M. LC analysis of biogenic polyamines in table olives using on-line dansylation and peroxyoxalate chemiluminescence detection. **Chromatographia**, v. 51, p. 706–712, 2000.
- CODEX ALIMENTARIUS. **Resíduos de medicamento veterinários em los alimentos**. Washington, p. 8, 2003.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Indicadores da Agropecuária**, Janeiro 2016. P.82.
- CONDE, C.; DELROT, S.; GERÓS, H. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 1545–1562, 2008.
- COUTINHO, E. F. **Arbequina: Cultivar de oliveira de ciclo precoce destinada à produção de azeite, na região Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. P. 2 Folders.
- COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. Cultivo de **Oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 125 p.
- CRIADO, M. N.; MOTILVA, M. J.; GOÑI, M.; ROMERO, M. P. Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from Arbequina and Farga cultivars. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 748–755, 2007.
- CUSTÓDIO, F. B.; TAVARES, E.; GLÓRIA, M. B. A. Extraction of bioactive amines from grated cheese using acid, alkaline and organic solvents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 280–288, 2007.
- DAMAK, N.; BOUAZIZ, M.; AYADI, M.; SAYADI, S.; DAMAK, M. Effect of the maturation process on the phenolic fractions, fatty acids, and antioxidant activity of the Chétoui olive fruit cultivar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 5, p. 1560–1566, 2008.

- DEHGHANI, B.; ARZANI, K.; HOUSHMAND, D.; ZINANLO, A. A. Fruit characteristic of some olive cultivars grown under South of Iran environmental conditions. **Advances in Environmental Biology**, v. 8, n. 24, p. 267–274, 2014.
- DINIZ, F. B. **Elaboração de tabela de aminos bioativas em alimentos e estimativa da ingestão no Brasil**. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG. 131p. 2015. (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos).
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Parma, Italy. **EFSA Journal**, v. 9, n. 10, p. 1–93, 2011a.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage. Parma, Italy. **EFSA Journal**, v. 9, n. 4, p. 1–25, 2011b.
- FAOSTAT, Food and agriculture organization of the united nations statistics division. Production quantities by country, 2014.
- FERNANDEZ-OROZCO, R.; ROCA, M.; GANDUL-ROJAS, B.; GALLARDO-GUERRERO, L. DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 858–864, 2011.
- FERREIRA, A. C. E. **Caracterização da cadeia de valor da azeitona de mesa**. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia. 91p. 2015. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar).
- FERRI, M. G. **Fisiologia Vegetal**, v. 1. São Paulo: EPU, 1985.
- FIECHTER, G.; SIVIC, G.; MAYER, H. K. Application of UHPLC for the simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in ripened acid-curd cheeses. **Journal of Chromatography B**, v. 927, p. 191–200, 2013.
- FRIEDMAN, M. Food browning and its prevention: an overview. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 3, 1996.
- GHANBARI, R.; ANWAR, F.; ALKHARFY, K. M.; GILANI, A-H; SAARI, N. Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.) – A review. **International Journal of Molecular Science**, v. 13, n. 3, p. 3291–3340, 2012.
- GIL-AMADO, J. A.; GOMEZ-JIMENEZ, M. C. Regulation of polyamine metabolism and biosynthetic gene expression during olive mature-fruit abscission. **Planta**, v. 235, p. 1221–1237, 2012.

- GLÓRIA, M. B. A. **Bioactive Amines**. In: HUI, Y. H. (Ed.). Handbook of Food Science, Technology, and Engineering. New York: Taylor e Francis, v. 1, p. 1–15, 2005.
- GOMEZ-GONZÁLEZ, RUIZ-JIMÉNEZ, J.; CASTRO, M. D. L. Oil Content and Fatty Acid Profile of Spanish Cultivars During Olive Fruit Ripening. **Journal of the American Chemical Society**, v. 88, p. 1737–1745, 2011.
- GOMEZ-JIMENEZ, M. C.; PAREDES, M. A.; GALLARDO, M.; FERNANDEZ-GARCIA, N.; OLMOS, E.; SANCHEZ-CALLE, I. M. Tissue-specific expression of olive S-adenosyl methionine decarboxylase and spermidine synthase genes and polyamine metabolism during flower opening and early fruit development. **Planta**, v. 232, p. 626–647, 2010a.
- GOMEZ-JIMENEZ M. C.; PAREDES, M. A.; GALLARDO, M.; SANCHEZ-CALLE, I. M. Mature fruit abscission is associated with up-regulation of polyamine metabolism in the olive abscission zone. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, p. 1432–1441, 2010b.
- GROOPA, M. D.; BENAVIDES, M. P. Polyamines and abiotic stress: recent advances. **Amino acids**, v. 34, p. 35–45, 2008.
- GUATIMOSIM, P. Oliveiras avançam pela Serra da Mantiqueira, **A Lavoura**, n. 693, p. 16–21, 2012.
- GUTIERREZ-ROSALES, F.; ROMERO, M. P.; CASANOVAS, M.; MOTILVA, M. J.; MÍNGUEZ-MOSQUERA, M. I. Metabolites involved in oleuropein accumulation and degradation in fruits of *Olea europaea* L.: Hojiblanca and Arbequina varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 12924–12933, 2010.
- HAMMAMI, S. B. M.; MANRIQUE, T.; RAPOPORT, H. F. Cultivar-based fruit size in olive depends on different tissue and cellular processes throughout growth. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p. 445–451, 2011.
- HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. Dietary polyphenols and their biological significance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 8, p. 950–988, 2007.
- HBAIEB, R. H.; KOTTI, F.; GARCÍA RODRÍGUEZ, R.; GARGOURI, M.; SANZ, C.; PÉREZ, A. G. Monitoring endogenous enzymes during olive fruit ripening and storage: Correlation with virgin olive oil phenolic profiles. **Food Chemistry**, v. 174, p. 240–247, 2015.
- HORNERO-MÉNDEZ, D.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, A. Biogenic amines in table olives. Analysis by high-performance liquid chromatography. **Analyst**, v. 119, p. 2037–2041, 1994.

- IOOC. International Olive Oil Council. **Market newsletter of November 2015**. Disponível em: < a i://www.internationaloliveoil.org/news/view/682-year-2015-news/652-market-newsletter-november-2015> Acesso em: 10/02/2016.
- IOOC (International Olive Oil Council) (2016). **About olives**. Acesso em: 11/02/2016. Disponível em: < a i://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/77-about-olives>
- ISSAOUI, M.; MECHRI, B.; ECHBILI, A.; DABBOU, S.; YANGUI, A.; BELGUTH, H.; TRIGUI, A.; HAMMAMI, M. Chemometric characterization of five a isian varieties of *Olea europaea* L. Olive fruit according to different maturation indices. **Journal of Food Lipids**, v. 15, p. 277–296, 2008.
- KALAC, P. Health effects and occurrence of dietary polyamines: A review for the period 2005–mid 2013. **Food Chemistry**, v. 161, p. 27–39, 2014.
- KHLIF, I.; JELLALI, K.; MICHEL, T.; HALABALAKI, M.; SKALTSOUNIS, A. L.; ALLOUCHE, N. Characteristics, phytochemical analysis and biological activities of extracts from Tunisian Chetoui *Olea europaea* variety. **Journal of Chemistry**, v. 2015; p. 1–11, 2015.
- KUSANO, T.; BERBERICH, T.; TATEDA, C.; TAKAHASHI, Y. Polyamines: essential factors for growth and survival. **Planta**, v. 228, p. 367–381, 2008.
- LANZA, B. Abnormal fermentations in table-olive processing: microbial origin and sensory evaluation. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1–7, 2013.
- LIVRAMENTO, D. E.; OLIVEIRA, A. F. Ecofisiologia da oliveira, alguns aspectos de fotossíntese, temperatura e radiação solar. Azeitonas e azeite de oliva: tecnologias de produção. **Informe agropecuário EPAMIG**, v. 27, n. 231, p. 27–28, 2006.
- LOPEZ-SANCHEZ, M.; AYORA-CAÑADA, M. J.; MOLINA-DÍAZ, A. Olive fruit growth and ripening as seen by vibrational spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 82–87, 2010.
- LOVAAS, E. Antioxidative and metal-chelating effects of polyamines. **Advances in Pharmacology**, v. 38, p. 119–149, 1996.
- LUO, H. **Extraction of antioxidant compounds from olive (*Olea europaea*) leaf**. Nova Zelândia: Universidade Massey. 166 p., 2011 (Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos).
- MACHADO, M. F. F. **Aplicação da espectroscopia de infravermelho na análise de clones de azeitonas e azeites cv. “Cobrançosa” em dois estados de maturação**. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. 61p., 2013 (Dissertação de Mestrado em Biotecnologia e Qualidade Alimentar).

- MAILER, R. J.; AYTON, J.; CONLAN, D. Influence of harvest timing on olive (*Olea europaea*) oil accumulation and fruit characteristics under Australian conditions. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 5, p. 58–63, 2007.
- MARSILIO, V.; CAMPESTRE, C.; LANZA, B.; ANGELIS, M. Sugar and polyol compositions of some European olive fruit varieties (*Olea europaea* L.) suitable for table olive purposes. **Food Chemistry**, v. 72, p. 485–490, 2001.
- MEFTAH, H.; BOUGHADAD, A.; BOUCHELTA, A. Olivae. **Official Journal of International Olive Council**, n. 120, p. 1–47, 2014.
- MENDOZA, M. F.; GORDILLO, C. M.; EXPÓXITO, J. M.; CASASM J. S.; CANO, M. M.; VERTEDOR, D. M.; NIEVES, F. B. Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. **Food Chemistry**, v. 141, p. 2575–2581, 2013.
- MORELLÓ, J. R.; ROMERO, M. P.; MOTILVA, M. J. Effect of the maturation process of the olive fruit on the phenolic fraction of drupes and oils from Arbequina, Farga, and Morrut cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 6002–6009, 2004.
- MORELLÓ, J. R.; ROMERO, M. P.; RAMO, T.; MOTILVA, M. J. Evaluation of L-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. **Plant Science**, v. 168, p. 65–72, 2005.
- MORET, S.; SMELA, D.; POPULIN, T.; CONTE, L. S. A survey on free biogenic amine content of fresh and preserved vegetables. **Food Chemistry**, v. 89, p. 355–361, 2005.
- NAILA, A.; FLINT, S.; FLETCHER, G.; BREMER, P.; MEERDINK, G. Control of biogenic amines in food—existing and emerging approaches. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 7, p. R139–R150, 2010.
- NERGIZ, C.; ENGEZ, Y. Compositional variation of olive fruit during ripening. **Food Chemistry**, v. 69, p. 55–59, 2000.
- NETO, J. V.; SILVA, L. F. O.; LÚCIO, A. D. C.; OLIVEIRA, A. F.; OLIVEIRA, M. C. Formulações comerciais de fertilizantes foliares na finalização de mudas de variedades de oliveira. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 1, p. 125–131, 2011.
- NISHIMURA, K.; SHIINA, K.; KASHIWAGI, R.; IGARASHIY, K. Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink. **Journal of Biochemistry**, v. 139, p. 81–90, 2006.
- NOGUEIRA, F. A. M. **Contribuição para a caracterização de “Azeitonas de mesa mistas ao natural” produzidas de forma tradicional em Trás-os-Montes:**

- aspectos morfológicos, químicos e microbiológicos.** Bragança: Instituto Politécnico de Bragança. 87p., 2012. (Dissertação de Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar).
- OLIVEIRA, A. F.; ABRAHÃO, E. Botânica e morfologia da oliveira (*Olea europaea* L.). **Informe agropecuário EPAMIG.** Azeitonas e azeite de oliva: tecnologias de produção, v. 27, n. 231, p. 16–17, 2006.
- OLIVEIRA, A. F.; NETO, J. V.; VILLA, F.; SILVA, L. F. O. Espaçamento entre plantas no desempenho de jardim clonal, **Scientia Agraria**, v. 11, n. 4, p. 317–322, 2010.
- OLIVEIRA, M. C.; RAMOS, J. D.; PIO, R.; CARDOSO, M. G. Características fenológicas e físicas e perfil de ácidos graxos em oliveiras no sul de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 30–35, 2012.
- OMAR, S. H. Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 18, p. 111–121, 2010.
- OZDESTAN, O.; UREN, A. A method for benzoyl chloride derivatization of biogenic amines for high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 78, p. 1321–1326, 2009.
- PAIVA, C. L.; EVANGELISTA, W. P.; QUEIROZ, V. A. V.; GLORIA, M. B. A. Bioactive amines in sorghum: Method optimization and influence of line, tannin and hydric stress. **Food Chemistry**, v. 173, p. 224–230, 2015.
- PANTANO, A. P.; BEERTONCINI, E. I.; WREGGE, M. S. Pré-zoneamento para a cultura de oliveira no estado de São Paulo. **O Agrônomo**, v. 64–66, 2014.
- PARKINSON, L.; KEAST, R. Oleocanthal, a phenolic derived from virgin olive oil: A review of the beneficial effects on inflammatory disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v.15, p. 12323–12334, 2014.
- PESTANA-BAUER, V. R.; GOULARTE-DUTRA, F. L.; ZAMBIAZI, R. M. Caracterização do fruto da oliveira (variedade Carolea) cultivada na região sul do Brasil. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 79–87, 2011.
- RAMALHEIRO, J. P. S. C. **Contribuição para a caracterização bioquímica do estado de maturação de azeitonas de diferentes variedades.** Lisboa: Instituto Superior de Agronomia. 41p. 2009. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar).
- RAPOPORT, H. F.; COSTAGLI, G.; GUCCI, R. The effect of water deficit during early fruit development on olive fruit morphogenesis. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 129, n. 1, p. 121–127, 2004.

- RICALDE, M. P.; NAVA, D. E.; LOECK, A. E.; COUTINHO, E. F.; BISOGNIN, A.; GARCIA, F. R. M. Insects related to Olive culture in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Ciencia Rural**, v. 45, n. 12, p. 2125–2130, 2015.
- RIGANE, G.; SALEM, R. B.; SAYADI, S., S.; BOUAZIZ, M. Phenolic composition, isolation, and structure of a new deoxyloganic acid derivative from Dhokar and Gemri-Dhokar olive cultivars. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 7, p. C965–C973, 2011.
- RODRIGUEZ, M. B. R.; CARNEIRO, C. S.; FEIJÓ, M. B. S.; CONTE JÚNIOR, C. A.; MANO, S. B. Bioactive amines: aspects of quality and safety in food. **Food and Nutrition Sciences**, n. 5, p. 138–146, 2014.
- RODRÍGUEZ-MORATÓ, J.; XICOTA, L.; FITÓ, M.; FARRÉ, M.; DIERSSEN, M.; TORRE, R. Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. **Molecules**, v. 20, p. 4655–4680, 2015.
- SAHAN, Y.; CANSEV, A.; GULEN, H. Effect of processing techniques on antioxidative enzyme activities, antioxidant capacity, phenolic compounds, and fatty acids of table olives. **Food Science and Biotechnology**, v. 3, p. 613–620, 2013.
- SANCHEZ, J. Lipid photosynthesis in olive fruit. **Institute de a Grasa**, v. 33, n. ½, p. 97–104, 1994.
- SANTIAGO-SILVA, P. **Aminas bioativas e características físico-químicas em frutas**. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG. 82 p., 2004. (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos).
- SANTIAGO-SILVA, P.; LABANCA, R. A.; GLÓRIA, M. B. A. Functional potential of tropical fruits with respect to free bioactive amines. **Food Research International**. V. 44, p. 1264–1268, 2011.
- SERVILI, M.; SORDINI, B.; ESPOSTO, S.; URBANI, S.; VENEZIANI, G.; MAIO, I.; SELVAGGINI, R.; TATICCHI, A. Biological activities of phenolic compounds of extra virgin olive oil. **Antioxidants**, v. 3, p. 1–23, 2014.
- SILVA, L. F. O. **Caracterização agroindustrial de cultivares de oliveira com potencial econômico para o sul de Minas Gerais**. Dissertação de Mestrado. Lavras, MG – 2011. P. 17.
- SINGH, B.; SINGH, J .P.; KAUR, A.; SINGH, N. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. **Food Chemistry**, v. 206, p. 1–11, 2016.
- SMITH, T. A. Phenethylamine and related compounds in plants. **Phytochemistry**, v. 16, p. 9–18, 1977.

- SOUZA, P. M. B.; MARTINS, F. B. Estimativa da temperatura basal inferior para as cultivares de oliveira Grappolo e Maria da Fé. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 29, n. 2, p. 307–313, 2014.
- TALHAOUI, N.; TAAMALLI, A.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. **Food Research International**, v. 77, p. 92–108, 2015a.
- TALHAOUI, N.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; LEÓN, L.; ROSA, R.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Pattern of variation of fruit traits and phenol content in olive fruits from six different cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 10466–10476, 2015b.
- TALHAOUI, N.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; LEÓN, L.; ROSA, R.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. From olive fruits to olive oil: phenolic compound transfer in six different olive cultivars grown under the same agronomical conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1–14, 2016.
- TEKAYA, M.; MECHRI, B.; CHEHEB, H.; ATTIA, F.; CHRAIEF, I.; AYACHI, M.; BOUJNEH, D.; HAMMAMI, M. Changes in the profiles of mineral elements, phenols, tocopherols and soluble carbohydrates of olive fruit following foliar nutrient fertilization. **Food Science and Technology**, v. 59, p. 1047–1053, 2014.
- THERIOS, I. N. Olives. Grécia, CAB International, 2009, p. 25–31.
- TIBURCIO, A. F.; ALTABELLA, T.; BITRIÁN, M.; ALCÁZAR, R. The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. **Planta**, v. 240, p. 1–18, 2014.
- TSANIKLIDIS, G.; KOTSIRAS, A.; TSAFOUROS, A.; ROUSSOS, P. A.; AIVALAKIS, G.; KATINAKIS, P.; DELIS, C. Spatial and temporal distribution of genes involved in polyamine metabolism during tomato fruit development. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 100, p. 27–36, 2016.
- VIEIRA, E. L.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R.; SILVA, J. S. **Manual de fisiologia vegetal**. São Luís: EDFMA, 2010. 230p.
- WINK, M. **Special nitrogen metabolism**. In: Dey, P.M.; Harborne, J.B. (eds) *Plant Biochemistry*. Academic Press, San Diego, California, p. 439–486, 1997.
- WREGE, M. S.; COUTINHO, E. F.; STEINMETZ, S.; JÚNIOR, C. R.; ALMEIDA, I. R.; MATZENAUER, R.; RADIN, B. **Zoneamento agroclimático para oliveira no Estado do Rio Grande do Sul**. Pelotas. 2009. 24p.

- WREGGE, M. S.; COUTINHO, E. F.; PANTANO, A. P.; JORGE, R. O. Distribuição potencial de oliveiras no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 656–666, 2015.
- YANG, B.; JIANG, Y.; SHI, J.; CHEN, F.; ASHRAF, M. Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit — A review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1837–1842, 2011.
- ZAMORA, R.; ALAIZ, M.; HIDALGO, F. J. Influence of cultivar and fruit ripening on olive (*Olea europaea*) fruit protein content, composition, and antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4267–4270, 2001.
- ZIOGAS, V.; TANOU, G.; MOLASSIOTIS, A.; DIAMANTIDIS, G.; VASILAKAKIS, M. Antioxidant and free radical-scavenging activities of phenolic extracts of olive fruits. **Food Chemistry**, v. 120, p. 1097–1103, 2010.

(117 referências)

APÊNDICE

Tabela. Correlações entre os parâmetros avaliados das cultivares Arbequina e Grappolo 541, cultivadas em Maria da Fé, MG

	MM	DL	DT	RPC	UMID	LIP	FT	ARG	PRO	TIR	HIM	AGM	FEM
MM	1												
DL	0,96 ^a p < 0,0001	1											
DT	0,97 ^a p < 0,0001	0,93 ^a p < 0,0001	1										
RPC	0,89 ^a p < 0,0001	0,77 ^a p < 0,0001	0,92 ^a p < 0,0001	1									
UMID	- 0,43 ^a p = 0,0095	- 0,24 ^a p = 0,1665	- 0,54 ^a p = 0,0007	- 0,71 ^a p < 0,0001	1								
LIP	0,62 ^a p < 0,0001	0,49 ^a p = 0,0023	0,75 ^a p < 0,0001	0,81 ^a p < 0,0001	- 0,82 ^a p < 0,0001	1							
FT	0,04 ^a p = 0,8101	0,26 ^a p = 0,1237	- 0,05 ^a p = 0,7836	- 0,32 ^a p = 0,0551	0,74 ^a p < 0,0001	- 0,56 ^a p = 0,0004	1						
ARG	0,59 ^b p = 0,0413	0,45 ^b p = 0,1428	0,65 ^b p = 0,0224	0,77 ^b p = 0,0034	- 0,78 ^b p = 0,0026	0,82 ^b p = 0,0012	- 0,57 ^b p = 0,0552	1					
PRO	0,94 ^b p = 0,0051	0,94 ^b p = 0,0051	0,94 ^b p = 0,0051	0,82 ^b p = 0,0458	- 0,82 ^b p = 0,0458	0,94 ^b p = 0,0051	- 0,82 ^b p = 0,0458	0,90 ^b p = 0,0151	1				
TIR	0,45 ^a p = 0,1405	0,58 ^a p = 0,0497	0,33 ^a p = 0,3007	0,27 ^a p = 0,4025	0,42 ^a p = 0,1774	- 0,26 ^a p = 0,4178	0,60 ^a p = 0,0404	0,15 ^b p = 0,6516	- 0,21 ^b p = 0,6860	1			
HIM	0,74 ^a p = 0,0061	0,78 ^a p = 0,0025	0,63 ^a p = 0,0287	0,53 ^a p = 0,0734	0,13 ^a p = 0,6892	0,11 ^a p = 0,7404	0,46 ^a p = 0,1349	0,15 ^b p = 0,6329	0,03 ^b p = 0,9545	- 0,84 ^a p = 0,0006	1		
AGM	0,50 ^b p = 0,1017	0,66 ^b p = 0,0202	0,40 ^b p = 0,2035	0,24 ^b p = 0,4499	0,02 ^b p = 0,9386	- 4,2x10 ⁻³ b p = 0,9898	0,32 ^b p = 0,3167	0,31 ^b p = 0,3318	0,00 ^b p > 0,9999	0,83 ^b p = 0,0008	0,62 ^b p = 0,0330	1	
FEM	- 0,43 ^b p = 0,1629	- 0,29 ^b p = 0,3601	- 0,50 ^b p = 0,0979	- 0,27 ^b p = 0,3885	0,46 ^b p = 0,1302	- 0,65 ^b p = 0,0220	- 0,40 ^b p = 0,1938	- 0,31 ^b p = 0,3317	- 0,42 ^b p = 0,4103	0,41 ^b p = 0,1810	0,15 ^b p = 0,6527	0,32 ^b p = 0,3160	1

MM = massa média; DL: diâmetro longitudinal, DT: diâmetro transversal; RPC: relação polpa/carão; UMID: umidade; LIP: lipídeos; FT: fenólicos totais; ARG: arginina; PRO: prolina; TIR: tirosina; HIM: histamina; AGM: agmatina; FEM: feniletilamina; ^a correlação de Pearson; ^b correlação de Spearman.