

# **Contributo para a caracterização da Santulhana uma cultivar minoritária produzida na Terra Fria Transmontana**

**Ana Beatriz de Souza Serafim**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do  
Grau de Mestre em Agroecologia no âmbito da Dupla Diplomação com a Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná*

Orientado por

**Nuno Miguel de Sousa Rodrigues**

**Idemir Citadin**

**Bragança**

**2023**

Este trabalho teve o apoio financeiro do projeto “CMP064” financiado pelos municípios de Bragança e Vimioso.



*Aos meus pais,  
Ao meu irmão*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná e Instituto Politécnico de Bragança pela oportunidade de realizar a Dupla Diplomação.

Agradeço ao Prof. Dr. Nuno Rodrigues pelos ensinamentos, pela paciência e oportunidade de aprofundar em um tema o qual não possuía conhecimento. Pela disponibilidade para ser meu orientador e pela confiança que me concedeu.

Agradeço meu coorientador, Dr. Idemir Citadin, pela sugestão de tema, pela disponibilidade, suporte, paciência e confiança.

Agradeço ao doutorando, Nuno Ferreiro, pelos ensinamentos, por toda paciência e disponibilidade para ajudar sempre que necessário. Agradeço ainda, a todos presentes no laboratório que de certa forma colaboram para a realização das análises.

Agradeço a Deus pela saúde e bênçãos que me proporcionaram chegar a lugares, os quais nunca imaginei. Ao me abençoar com uma família melhor do que eu poderia desejar e por colocar pessoas no meu caminho, as quais me proporcionaram discernimento e ensinamentos.

Agradeço aos meus pais, Anésio e Ariolita, por todos ensinamentos e por moldarem a pessoa que hoje sou. A sempre me apoiarem e persistirem para que eu pudesse ter a melhor educação possível, mesmo que essa decisão consistisse em morar distante. Agradeço a sempre estarem presentes e nunca deixar nada a faltar, e em meus momentos de fraqueza nunca me deixarem desistir.

Agradeço ao meu irmão, Luís Gustavo, por todo apoio e ensinamentos, por sempre me lembrar que sou capaz e nunca permitir que eu me subestimasse.

Agradeço pelas minhas companheiras, Cecília e Ester, as quais estiveram ao meu lado durante o intercâmbio. Pelas experiências compartilhadas e pelo vínculo que criamos. Por cada momento juntas que fez total diferença nesse ano e por cada risada. Sou grata pelas amizades que Portugal me oportunizou e pelas novas amizades em especial, Aline e Daniele.

Agradeço a todos profissionais da educação que passaram pela minha vida e todos aprendizados que me tornaram uma pessoa melhor.



# Sumário

<b>Capítulo 1</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>2</b>
<b>Capítulo 2</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Referencial teórico</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1. Olivicultura no mundo</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2. O cultivo da oliveira em Portugal</b> .....	<b>9</b>
<b>2.3. Cultivares distribuídas na região de Trás-os-Montes</b> .....	<b>10</b>
2.3.1. Cobrançosa .....	11
2.3.2. Madural .....	12
2.3.3. Verdeal transmontana .....	12
2.3.4. Cordovil .....	12
2.3.5. Negrinha de freixo .....	13
<b>2.4. Caracterização da cv. Santulhana</b> .....	<b>13</b>
2.4.1. Importância econômica e social .....	15
<b>2.5. Fenologia</b> .....	<b>16</b>
<b>2.6. Pragas mais relevantes</b> .....	<b>17</b>
2.6.1. Traça-da-oliveira ( <i>Prays oleae</i> Bernard).....	18
2.6.2. Mosca-da-azeitona ( <i>Bactrocera oleae</i> Rossi) .....	20
<b>2.7. Azeite e sua composição</b> .....	<b>22</b>
<b>Capítulo 3</b> .....	<b>24</b>
<b>3. Material e métodos</b> .....	<b>25</b>
<b>3.1. Desenho experimental</b> .....	<b>25</b>
<b>3.2. Análises em campo:</b> .....	<b>26</b>
3.2.1. Avaliação da fenologia .....	26
3.2.2. Avaliação da incidência de pragas .....	26
3.2.2.1. Traça-da-oliveira .....	27
3.2.2.2. Mosca-da-azeitona .....	27
<b>3.3. Amostragem</b> .....	<b>28</b>
3.3.1. Parâmetros de qualidade .....	29
3.3.1.1. Acidez .....	29
3.3.1.2. Índice de peróxidos.....	30

3.3.1.3. Espectrofotometria no ultravioleta .....	30
3.3.1.4. Análise sensorial.....	31
3.3.2. Clorofila e carotenoides.....	32
3.3.3. Cor.....	32
3.3.4. Resistência à oxidação.....	33
3.3.5. Fenóis totais.....	33
3.3.6. Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH .....	34
3.3.7. Análise estatística .....	35
<b>Capítulo 4 .....</b>	<b>36</b>
<b>4. Resultados e discussão .....</b>	<b>37</b>
<b>4.1. Ensaio de campo .....</b>	<b>37</b>
4.1.1. Avaliação fenológica .....	37
4.1.2. Incidência da traça-da-oliveira .....	40
4.1.3. Incidência da mosca-da-azeitona.....	43
<b>4.2. Ensaio de laboratório .....</b>	<b>47</b>
4.2.1. Parâmetros de qualidade.....	47
4.2.1.1. Análise sensorial.....	52
4.2.2. Clorofilas e carotenoides .....	58
4.2.3. Cor.....	64
4.2.4. Estabilidade oxidativa .....	65
4.2.5. Fenóis totais.....	68
4.2.6. Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH .....	70
4.2.7. Discriminação dos parâmetros químicos.....	73
<b>Capítulo 5 .....</b>	<b>75</b>
<b>5. Conclusão.....</b>	<b>76</b>
<b>Capítulo 6 .....</b>	<b>78</b>
<b>6. Referências bibliográficas .....</b>	<b>79</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> - Produção de azeite na safra 2020/21 dos países membros do Conselho Oleícola Internacional. (Adaptado de COI, 2022). .....	7
<b>Figura 2</b> - Distribuição da área de olival em Portugal (Adaptado de INE, 2016). .....	8
<b>Figura 3</b> - Mapa do distrito de Bragança. ....	11
<b>Figura 4</b> - Cultivares de maior expressividade em Trás-os-Montes: Cobrançosa (A); Madural (B); Verdeal Transmontana (C); Cordovil (D); Negrinha do Freixo (E). (Adaptado de Vida Rural (A) e (E) e Azeites de Portugal – Guia 2018 (B), (C) e (D)).	11
<b>Figura 5</b> - Região específica da expressividade da cv. Santulhana. ....	13
<b>Figura 6</b> - Oliveiras da cv. Santulhana localizadas no olival de estudo em Izeda. ....	14
<b>Figura 7</b> - Frutos verdes da cv. Santulhana na safra 2022/23. ....	15
<b>Figura 8</b> - Adultos da traça-da-oliveira capturados em armadilhas a base de cola. ....	18
<b>Figura 9</b> - Desenvolvimento de cada geração da traça-da-oliveira, conforme os meses do ano (Adaptado de Molina De La Rosa, 2010). ....	19
<b>Figura 10</b> - Fêmea adulta da mosca-da-azeitona (Gonçalves et al., 2007). ....	20
<b>Figura 11</b> - Desenvolvimento de cada geração da mosca-da-azeitona, conforme as estações do ano (Adaptado de Molina de La Rosa, 2010). ....	21
<b>Figura 12</b> - Localização geográfica dos olivais acompanhados (Adaptado de Google Earth, 2009). ....	25
<b>Figura 13</b> - Armadilha para traça do tipo Delta com feromona: (A) estabelecimento da armadilha na árvore; (B) base de cola com recipiente de feromona ao meio. ....	27
<b>Figura 14</b> - Placa cromotrópica estabelecida na copa da oliveira com recipiente de feromona. ....	28
<b>Figura 15</b> - Evolução fenológica das árvores da cv. Santulhana realizado desde abril até agosto de 2022 nos olivais acompanhados durante o estudo. ....	38
<b>Figura 16</b> - Registro do número de capturas da traça-da-oliveira durante os períodos de maio a novembro nos olivais acompanhados: Macedo do Mato (A); Izeda (B); Santulhão (C). ....	42
<b>Figura 17</b> - Registro do número total de capturas da mosca-da-azeitona durante dos meses de julho a novembro. ....	44

<b>Figura 18</b> - Comparação entre a captura de machos e fêmeas da mosca-da-zeitona nos olivais acompanhados durante o período de julho a outubro: Macedo do Mato (A); Izedá (B); Santulhana (C).....	47
<b>Figura 19</b> - Porcentagem de ocorrência da acidez total nos períodos de 3 e 12 meses após extração.....	49
<b>Figura 20</b> - Porcentagem de ocorrência do índice de peróxidos nos períodos de 3 e 12 meses após extração.....	50
<b>Figura 21</b> - Porcentagem de ocorrência nos períodos de 3 e 12 meses após extração para os valores obtidos de $K_{232}$ .....	51
<b>Figura 22</b> - Porcentagem de ocorrência nos períodos de 3 e 12 meses após extração para os valores obtidos de $K_{268}$ .....	52
<b>Figura 23</b> - Principais defeitos encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana. ....	53
<b>Figura 24</b> - Principais dados olfativos encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana 3 meses e 12 após extração. ....	55
<b>Figura 25</b> - Principais dados gustativos encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana 3 meses e 12 após extração. ....	56
<b>Figura 26</b> - Principais dados gustativos quanto sensações doce, amargo e picante encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana 3 meses e 12 após extração. ....	57
<b>Figura 27</b> - Diferenciação dos azeites monovarietais da cv. Santulhana quanto aos resultados das análises sensoriais realizadas 3 e 12 meses após extração: Biplot 2D-PCA quanto esse parâmetro. ....	58
<b>Figura 28</b> - Porcentagem de ocorrência do teor de clorofilas nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração. ....	60
<b>Figura 29</b> - Porcentagem de ocorrência do teor de clorofilas nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração. ....	61
<b>Figura 30</b> - Boxplot do teor de clorofilas das amostras de azeites monovarietais da cv. Santulhana analisados nos períodos de 3 e 12 meses após extração. Letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey).....	61

<b>Figura 31</b> - Porcentagem de ocorrência do teor de carotenoides nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração. ....	62
<b>Figura 32</b> - Porcentagem de ocorrência do teor de carotenoides nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração. ....	63
<b>Figura 33</b> - Boxplot do teor de carotenoides das amostras de azeites monovarietais da cv. Santulhana analisados nos períodos de 3 e 12 meses após extração. Não foram observadas diferenças significativas a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey). ....	63
<b>Figura 34</b> - Boxplot da estabilidade oxidativa dos azeites da cv. Santulhana após os 3 e 12 meses da extração. Letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey). ....	66
<b>Figura 35</b> - Porcentagem de ocorrência do tempo estimado das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração. ....	67
<b>Figura 36</b> - Porcentagem de ocorrência do tempo estimado das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração. ....	67
<b>Figura 37</b> - Boxplot da concentração de fenóis nos períodos de 3 e 12 meses após extração dos azeites elementares da cv. Santulhana. Letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey). ....	68
<b>Figura 38</b> - Porcentagem de ocorrência do teor de fenóis totais das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração. ....	69
<b>Figura 39</b> - Porcentagem de ocorrência do teor de fenóis totais das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração. ....	70
<b>Figura 40</b> - Boxplot do efeito bloqueador de radicais livre de DPPH obtidos nos períodos de 3 e 12 meses de extração dos azeites elementares da cv. Santulhana. Letras minúsculas diferentes significam diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey). ....	71
<b>Figura 41</b> - Porcentagem de ocorrência do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração. ....	72
<b>Figura 42</b> - Porcentagem de ocorrência do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração. ....	73

**Figura 43** - Diferenciação dos parâmetros químicos dos azeites 3 meses e 12 meses após extração: Biplot 2D-PCA com base nos resultados das análises químicas. .... 74

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1</b> - Fenologia em escala alfabética segundo Cantero (1997). .....	26
<b>Tabela 2</b> - Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão dos parâmetros de qualidade avaliados através da acidez (%), índice de peróxidos (mEq.O <sub>2</sub> /kg) e coeficientes de extinção (K <sub>232</sub> e K <sub>268</sub> ) obtidos dos azeites da cv. Santulhana na safra 2022/23. ....	47
<b>Tabela 3</b> - Avaliação da cor acordo com luminosidade (L*), tonalidade (a* e b*), saturação (C*) e ângulo de tonalidade (h*) segundo a escala CIELAB. Valores médios (± desvio padrão) e variação de valores são mostrados. ....	64

## Resumo

A presença de oliveiras nos países mediterrânicos acontece desde os primórdios da civilização, apresentando um papel muito importante do ponto de vista paisagístico, genético, cultural e econômico. Em Portugal, a região de Trás-os-Montes, localizada a norte do país, é caracterizada por parcelas oleícolas, que se desenvolvem maioritariamente em áreas pequenas, sendo que muitos olivais se caracterizam por serem tradicionais e em regime de sequeiro com uma predominância de algumas cultivares minoritárias e de dispersão localizada. A Santulhana, uma cultivar minoritária da “*Terra Fria Transmontana*”, possui alta expressividade nos concelhos de Bragança e Vimioso. Contudo, o conhecimento acerca do seu comportamento e composição química de seus azeites é escasso. O objetivo desse trabalho foi contribuir para o conhecimento desta cultivar acerca da fenologia, suscetibilidade a pragas e estudo da composição dos azeites monovarietais da cv. Santulhana após 3 e 12 meses da extração. Foi feito o acompanhamento de 3 olivais da região onde foi registrado a evolução dos estádios fenológicos e o acompanhamento da curva de voo da traça-da-oliveira (*Prays oleae* Bern.) e mosca-da-azeitona (*Bactrocera oleae* Rossi). Em relação a fenologia foi possível indicar o início dos estádios mais importantes para a determinação da produção como período de floração (30 de maio), formação de frutos (2 de junho) e lignificação do endocarpo (18 de julho). Já o estudo das pragas possibilitou relacionar a maior densidade populacional destes quanto ao estágio fenológico das oliveiras. Quanto aos azeites procedeu-se a avaliação dos parâmetros de qualidade, resistência a oxidação, atividade antioxidante e a análise sensorial descritiva. No que respeita aos parâmetros de qualidade, os azeites apresentaram baixos teores de acidez (0,2 a 0,3%), um índice de peróxido médio entre 3 a 6 mEqO<sub>2</sub>/kg de azeite, K<sub>232</sub> entre 1,75 e 2,25, já K<sub>268</sub> entre 0,13 e 0,19. Em relação à estabilidade oxidativa, esta permaneceu entre os intervalos de 10 a 12 horas estimadas, os teores de fenóis entre 300 e 400 mg de ácido gálico/kg de azeite e a inibição do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) entre 40 e 50%. Sensorialmente, após passados os 12 meses de extração os azeites evoluíram da predominância de um frutado verde para frutado maduro com notas intensas de frutos secos, maçã e tomate características do “terroir” transmontano.

**Palavras chave:** caracterização, azeite monovarietal, composição, fenologia, pragas chaveas.

## Abstract

Olive trees have been present in Mediterranean countries since the dawn of civilization, playing a very important role from a landscape, genetic, cultural and economic point of view. In Portugal, the Trás-os-Montes region, located in the north of the country, is characterized by olive-growing plots, which are developed mainly in small areas, and many olive groves are characterized by being traditional and in a rainfed regime with a predominance of some minority and localized dispersal cultivars. Santulhana, a minority cultivar from “*Terra Fria Transmontana*”, is highly expressive in the municipalities of Bragança and Vimioso. However, knowledge about its behavior and chemistry composition of their oil is scarce. The objective of this work was to contribute to the knowledge of this cultivar regarding its phenology, susceptibility to pests and the study of the composition of monovarietal oils from cv. Santulhana after 3 and 12 months of extraction. Monitoring was carried out in 3 olive groves in the region where the evolution of the phenological stages was recorded and the flight curve of the olive moth (*Prays oleae* Bern.) and the olive fly (*Bactrocera oleae* Rossi) was monitored. Regarding phenology, it was possible to indicate the beginning of the most important stages for determining production, such as the flowering period (May 30), fruit formation (June 2) and endocarp lignification (July 18). The study of pests made it possible to relate their higher population density to the phenological stage of the olive trees. As for the olive oils, the parameters of quality, resistance to oxidation, antioxidant activity and descriptive sensory analysis were evaluated. With regard to quality parameters, the oils had low levels of acidity (0.2 to 0.3%), an average peroxide value between 3 and 6 mEqO<sub>2</sub>/kg of olive oil, K<sub>232</sub> between 1.75 and 2.25, already K<sub>268</sub> between 0.13 and 0.19. Regarding oxidative stability, it remained between the estimated intervals of 10 to 12 hours, phenol contents between 300 and 400 mg of gallic acid/kg of olive oil and 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) free radical inhibition between 40 and 50%. Sensorially, after 12 months of extraction, the oils evolved from a predominance of green fruitiness to a ripe fruity flavor with intense notes of dried fruit, apple and tomato, characteristic of the “terroir” of Trás-os-Montes region.

**Keywords:** characterization, monovarietal olive oil, composition, phenology, key pests.

# Capítulo 1

Introdução

## 1. Introdução

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma planta tipicamente de clima mediterrânico com uma apreciável plasticidade em termos de adaptação climática desde climas mais frios a mais temperados, encontrando-se distribuída um pouco por todo o mundo com condições favoráveis para o seu desenvolvimento (Barranco Navero *et al.*, 2008). É uma das culturas de maior disseminação tendo uma grande importância do ponto de vista paisagístico, genético, cultural e económico. Nos antepassados, esta cultura sempre foi conhecida pela sua importância cultural tendo um papel muito importante no que se refere a aspectos religiosos sendo citada em passagens bíblicas, e no uso simbólico dos azeites para unção de grandes reis e sacerdotes (Monteiro, 1999). Contudo, atualmente encontra-se oliveira até em países cujo cultivo não era tradição, como é o exemplo do Brasil e China (Eurostat, 2020).

Morfologicamente, as oliveiras são oriundas do clima mediterrânico caracterizado pelos invernos suaves e verões duradouros com altas temperaturas e pouca umidade (Barranco Navero *et al.*, 2008). Especificamente, a oliveira é uma cultura perene, de crescimento vegetativo lento e ciclo biológico longo, a qual é muito resistente a falta de água e ao frio intenso (Caselli & Petacchi, 2021). Vale destacar ainda, que as oliveiras possuem uma alternância de produção devido aos seus hábitos de frutificação, cuja elevada frutificação de um ano esgota os recursos energéticos da planta diminuindo sua indução floral no ano seguinte (Rodrigues & Correia, 2009). Apesar das oliveiras se mostrarem bastante aptas a sobreviverem em condições, onde outras espécies mais sensíveis não conseguiriam, essa cultura também possui suscetibilidade a pragas e doenças. Essa suscetibilidade aumentou com o passar do tempo, devido à intensificação do cultivo e aplicação excessiva de produtos fitossanitários que ocasionam o desequilíbrio da fauna favorecendo os surgimentos de pragas e doenças (Rodrigues & Correia, 2009). Posto isso, a relevância dessas pragas e doenças dependem do potencial de danos que podem ocasionar na produção, sendo eles diretos ou indiretos (Pereira & Bento, 2011).

As principais pragas da oliveira, segundo Coelho *et al.* (2011) são a traça-da-oliveira e a mosca-da-azeitona. Estas são responsáveis por ocasionarem danos irreversíveis como a queda precoce de frutos, diminuição da qualidade dos azeites e das azeitonas de mesa. Consequentemente, demandam maior atenção dos agricultores e muitas vezes a entrada em campo com a aplicação de pesticidas (Bento *et al.*, 2001). Por

isso, a fim de ter maior controle da incidência de pragas, vários estudos procuram avaliar estratégias de proteção contra essas, com a principal finalidade de reduzir os custos de produção e melhorar a qualidade das azeitonas e dos azeites delas extraídos (Rodrigues *et al.*, 2019).

Em relação aos produtos obtidos da oliveira, estes são muito apreciados pelas suas características. Tanto a azeitona como o azeite possuem uma importante presença na dieta mediterrânea (Reis, 2014). A sua extração é realizada a partir de processos físicos e mecânicos, os quais consistem na moenda das azeitonas, batadura da pasta originada da moenda e processos de centrifugação para separação do óleo dos demais produtos da pasta. Assim sendo, não há o envolvimento de nenhum processo químico na obtenção dos azeites, fato que conserva compostos de sabor e aroma (Aguilera *et al.*, 2005) além de favorecer os seus valores nutricionais, os quais possuem sua composição rica em ácidos graxos monoinsaturados, polifenóis, tocoferóis, carotenoides, esteróis e clorofilas (Rodrigues *et al.*, 2022).

Em Portugal a olivicultura é uma das principais atividades econômicas estando distribuída por todo o país. A região Norte é a segunda maior produtora representando cerca de 116 mil toneladas de azeitonas para produção de azeites no ano de 2021, sendo a produção total de mais de 20 milhões de litros de azeite (INE, 2022). Trás-os-Montes é a principal região que colabora com essa produção, onde suas áreas oleícolas se desenvolvem majoritariamente em áreas pequenas, sendo que muitos olivais se caracterizam por serem tradicionais e em regime de sequeiro (Pavão, 2018). A “Terra Fria Transmontana” é caracterizada por verões quentes e secos, e invernos frios e chuvosos, situações climáticas menos favoráveis para algumas cultivares de oliveira. Além do mais, nos últimos anos, a região tem sido atingida por secas extremas e longos períodos de temperaturas quentes durante o verão, que interferem na produção. Entretanto, a qualidade de seus azeites melhorou realçando suas singularidades devido à evolução tecnológica dos lagares e as cultivares nativas e minoritárias (Pavão, 2016).

As cultivares minoritárias de oliveira estão, na maioria das vezes, muito bem adaptadas a uma região específica onde, por vezes, têm grande expressão, impulsionando a sua valorização de modo a proporcionar maior rendimento aos agricultores que as mantêm. No entanto, para a cv. Santulhana caracterizada por ser uma cultivar minoritária e de dispersão localizada nesta região, sua adaptação é nítida. Apesar de ter alguma

extensão, o conhecimento acerca da fenologia e comportamento desta cultivar, bem como acerca da sua possível suscetibilidade a pragas é ainda limitado. O mesmo acontece com a composição dos seus azeites.

Assim sendo, com a presente dissertação pretende-se contribuir para a caracterização da cv. Santulhana, uma cultivar minoritária com dispersão localizada na região da “Terra Fria Transmontana”. Para tal, esta dissertação foi dividida em duas partes distintas. Na primeira parte pretende-se proceder à caracterização e acompanhamento de fenologia e incidência de pragas-chave da oliveira. Na segunda parte pretende-se caracterizar os azeites da cv. Santulhana sobre o comportamento ao longo do tempo em relação à qualidade e atividade antioxidante.

Assim, os objetivos do presente trabalho foram:

- proceder ao acompanhamento da fenologia da oliveira em três olivais da cv. Santulhana localizados em diferentes freguesias dos concelhos de Bragança (Macedo do Mato e Izeda) e Vimioso (Santulhão);
- acompanhamento da incidência das pragas-chaves: traça-da-oliveira (*Prays oleae* Bern.) e mosca-da-azeitona (*Bactrocera oleae* Rossi), nesses olivais;
- estudar a composição em azeites monovarietais da cv. Santulhana, recolhidos na região, para obter dados acerca da sua qualidade e composição;
- avaliar quimicamente nos azeites 3 e 12 meses após a extração para verificar a evolução dos azeites em distintos períodos após a extração.

O trabalho encontra-se estruturado em cinco partes distintas. Na próxima seção faz-se uma breve abordagem bibliográfica quanto a evolução fenológica das oliveiras, sua suscetibilidade a pragas, e composição e qualidade dos azeites (Capítulo 2). O terceiro capítulo é destinado ao material e métodos, sendo que no quarto capítulo são apresentados os resultados do presente trabalho, procedendo-se à sua discussão. Apresentam-se também, as conclusões (Capítulo 5) e apontam-se sugestões para a possível continuação do trabalho no futuro.

# **Capítulo 2**

## **Referencial teórico**

## 2. Referencial teórico

### 2.1. Olivicultura no mundo

A domesticação da oliveira começou em épocas muito antigas, possivelmente na Mesopotâmia, onde de aí em diante passou do Egito até a Bacia do Mediterrâneo, a qual produz o azeite de quase todo o mundo (Reis, 2014). Segundo Monteiro (1999), não há certeza de quando e nem onde nasceram as oliveiras, mas é válido dizer que os egípcios a cultivavam a mais de 4 mil anos, sendo assim todas as hipóteses válidas. Ademais, há estudos que relatam a sua domesticação após o surgimento das principais civilizações humanas do Oriente Médio há aproximadamente 6 mil anos (Besnard *et al.*, 2018; Sales *et al.*, 2021).

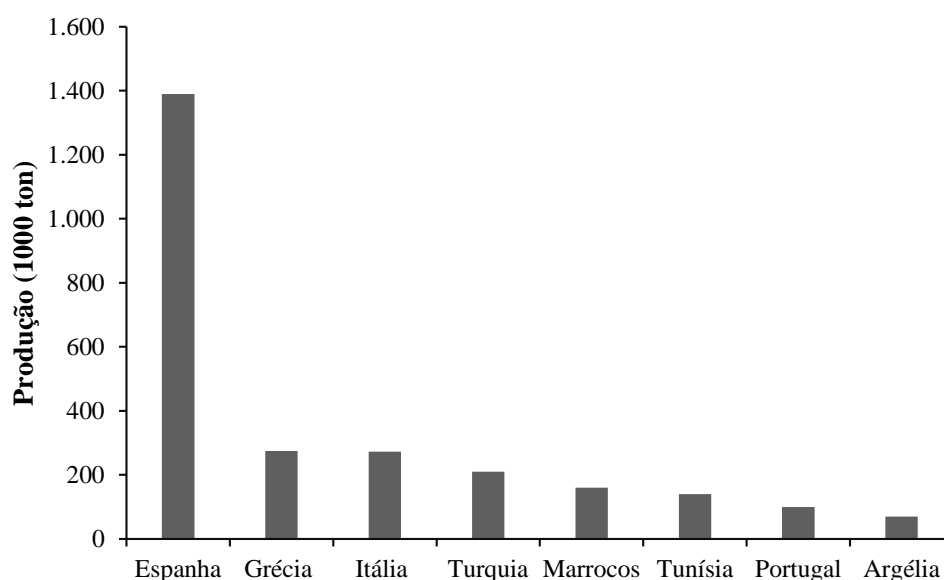
A partir das azeitonas, frutos da oliveira, produz-se o azeite o qual é conhecido como um dos óleos mais antigos que já foi utilizado desde combustível para iluminação a símbolo religioso. Atualmente, o azeite é um dos óleos vegetais comestíveis mais comercializados no mundo devido a sua vasta lista de benefícios à saúde humana. Em concordância Gavahian *et al.* (2019) destaca seu valor nutricional devido à presença de ácidos graxos monoinsaturados que são responsáveis pelo equilíbrio dos teores de colesterol, além da presença de antioxidantes e outros compostos em menores quantidades.

O Conselho Oleícola Internacional (COI, 2022) evidencia ainda que 97% da produção mundial é proveniente da Bacia do Mediterrâneo, apesar da alternância da produção e de novos países produtores como Argentina, Chile, Uruguai e Estados Unidos. A maior parte da produção mundial vem do sul da Europa, norte da África e Oriente próximo, sendo que 95% da área oleícola se concentra nessas regiões do mediterrâneo. Logo, o principal produtor de azeite é a União Europeia que corresponde a dois terços da produção ao nível mundial (GPP, 2020). Ainda segundo o Gabinete de Estatísticas da União Europeia (2020), refere que desde a safra 2013/14 a União Europeia tem-se mantido superior à percentagem de 60% do azeite produzido no mundo e das exportações ao nível mundial.

Espanha é o principal e maior produtor de azeitonas destinadas para a produção de azeites, sendo que no ano de 2018 colaborou com 72% de toda a produção da União Europeia, apesar de no ano de 2019 representar uma queda na colheita evidenciando o aumento da produção em Portugal, que atingiu 1 milhão de toneladas de azeitonas

(Eurostat, 2020). Ainda assim, na safra de 2019, a Espanha correspondeu a 57,7% da produção europeia com 5,7 milhões de toneladas de azeitonas destinadas à produção de azeites (GPP, 2020). Dados mais recentes evidenciam uma queda na produção espanhola, visto que na safra de 2020/21 a produção total no mediterrâneo foi de mais de 3 milhões de toneladas de azeite, sendo 46,15% produzido pela Espanha (COI, 2022).

Na safra de 2020/21, dentro da União Europeia e dos membros do COI, Portugal ocupa a 4º posição na produção de azeites com mais de 100 mil toneladas ficando para trás da Espanha (46,15%), Grécia (9,14%) e Itália (9,09%), segundo o Conselho Oleícola Internacional (2022). Já no ranking mundial, Portugal ocupa a 7º posição desde a safra de 2019/20 (GPP, 2020) mantendo-se em valores em torno de 100 mil toneladas de azeites, como é possível observar na Figura 1.

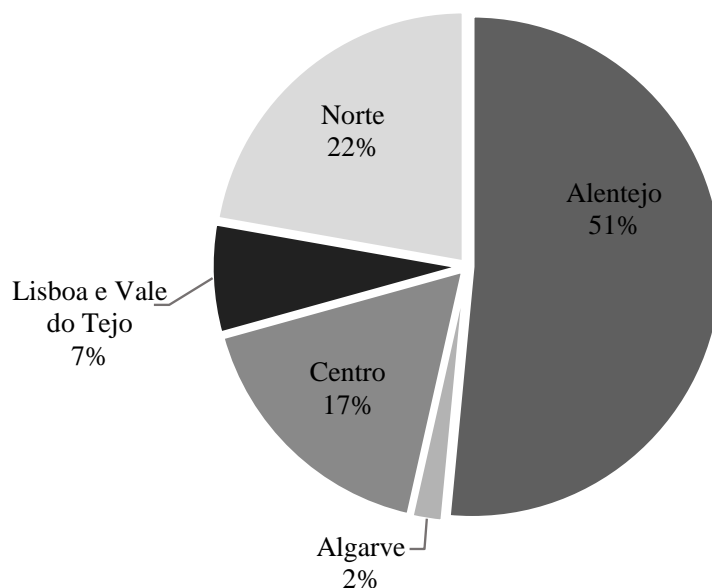


**Figura 1** - Produção de azeite na safra 2020/21 dos países membros do Conselho Oleícola Internacional. (Adaptado de COI, 2022).

Dados preliminares publicados pelo Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral quanto a produção de 2021/22, apontam o aumento da produção em Portugal visto que nessa safra chegou a exportar 213.892 toneladas de azeites. Além disso, o preço do quilograma de azeite para exportação foi de 3,24 EUR, sendo este maior do que o valor do ano de 2020 de 2,81 EUR (GPP, 2022).

No ano de 2022 do período de janeiro a setembro, a exportação de azeites movimentou mais de 217 milhões de euros para Portugal (GPP, 2022). Vale destacar que a produção no país ocorre numa área total de cerca de 325 mil hectares (INE, 2016), a

qual já foi maior representando mais de 570 mil hectares por volta dos anos 60 (Falcão, 2015). Logo, as maiores áreas de olivais estão concentradas na região do Alentejo (51%) seguida da região norte (22%), com destaque para Trás-os-Montes (INE, 2016). A Figura 2 a seguir ilustra em percentual a distribuição das áreas de olivais nas regiões de Nomenclatura das Unidades Territoriais para Fins Estatísticos II (NUTS) de Portugal.



**Figura 2** - Distribuição da área de olival em Portugal (Adaptado de INE, 2016).

A Bacia do Mediterrâneo é considerada um 'hotspot' de mudança climática pelo Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (*AR5 Synthesis Report*, 2014; Bezner Kerr *et al.*, 2022; Kaniewski *et al.*, 2023). Sendo então o aquecimento Terrestre um fator decisivo que impacta diretamente a produção agrícola, principalmente em Portugal. Previsões para próximas produções alertam sobre flutuações anuais nos níveis de produção devido à intensificação da bienalidade das oliveiras, condições climáticas e doenças (Eurostat, 2022). De acordo com Group (2022), numa entrevista, um dos produtores relatou sobre a produção do ano de 2022 ter sido desastrosa com uma quebra de mais de 50% na produção de azeite na região Trás-os-Montes. Além disso, o mesmo indagou

“[...] a região transmontana que produz, em média, cerca de 14 mil toneladas de azeite, vai este ano ficar-se pelas 7000 toneladas. O ano passado foi de excelência, pelo que já se previa que este ano houvesse uma quebra, tivemos bastante calor, à volta dos 40 °C, na zona da floração, o que motivou que o

vingamento fosse reduzido, e depois atravessamos um período enorme de seca, pelo que estes três fatores contribuíram para esta quebra.” (Group, 2022)

Deste modo, o impacto das elevadas temperaturas em Portugal já está se adequando a previsões, as quais indagaram sobre a diminuição da produtividade. Sendo então as próximas safras mais desafiadoras para o país e para seus agricultores.

## **2.2. O cultivo da oliveira em Portugal**

A produção de azeitona em Portugal não só representa um papel importante no desenvolvimento econômico do país, como também é uma raiz cultural e social de Portugal, onde suas cultivares regionais representam uma alta diversidade genética. A região norte representa 9% do total de extração de azeite em Portugal com uma extração no ano de 2021 de mais de 20 milhões de litros de azeite (INE, 2022). Trás-os-Montes é o território com segunda maior produção de azeite ficando atrás da região do Alentejo que com seus sistemas intensivos e superintensivos que representam 87,7% do azeite extraído no país, segundo o Sistema de Informação do Azeite e Azeitona de Mesa – SIAZ (2020).

Essa região é caracterizada também pelo seu clima, que confere ao local uma limitação das práticas agrárias. A “Terra Fria Transmontana” é uma subdivisão da região norte de Portugal, cuja é caracterizada pela altitude elevada e clima mais frio e úmido influenciado pela atlanticidade úmida (oeste), continentalidade fria, seca (leste) e quente (sul). Em adição, os solos dominantes na região são de origem granítica categorizados agricolamente como cambissolos húmicos e leptossolos êutricos, segundo a Carta de Solos do Nordeste de Portugal, 1991 (Rosário, 2004).

Além disso, outros fatores implicam na limitação das práticas agrícolas na região devido a condições de mão de obra e acesso à água. A região transmontana sofreu fortemente com o êxodo, onde os jovens saíram das aldeias para viverem em cidades de maiores dimensões como Bragança, Mirandela e Vila Real. Segundo Rodrigues e Correia (2009), esse fenômeno justifica a estrutura fundiária da região que é agravada devido à idade avançada dos olivicultores. O envelhecimento da população agrária familiar, dominante na região, já era citado por Rosário (2004) em seus estudos de gestão e desenvolvimento da estrutura fundiária de Trás-os-Montes. Ainda segundo a descrição de Rodrigues e Correia (2009) no Manual da Safra da oliveira, a região possui empecilhos como a declividade e o acesso limitado a água. Esses três fatores explicam

a tradicionalidade da olivicultura na região, que para muitos pode ser considerado um atraso e para outros uma oportunidade de valorizar a singularidade que foi preservada ao longo dos anos.

A região é uma grande colaboradora na preservação de cultivares antigas que possuem Trás-os-Montes como seu “terroir”. Elas movimentam a economia das freguesias da região e fixam moradores nas aldeias devido à mão de obra necessária nos olivais, sendo então principal fonte de renda dos produtores locais. Devido a isso, diversos estudos e programas procuram a valorização dessas cultivares de distribuição localizada, afim de potencializar a mais-valia comercial de seus produtos garantindo sua viabilidade e continuidade (Pavão, 2018). Na mesma vertente, Rodrigues *et al.* (2018) justifica que estudos devem contribuir para a valorização de cultivares minoritárias de forma a enaltecer os azeites da região, os quais destacam-se pelos seus excelentes valores nutricionais e acréscimos a gastronomia regional.

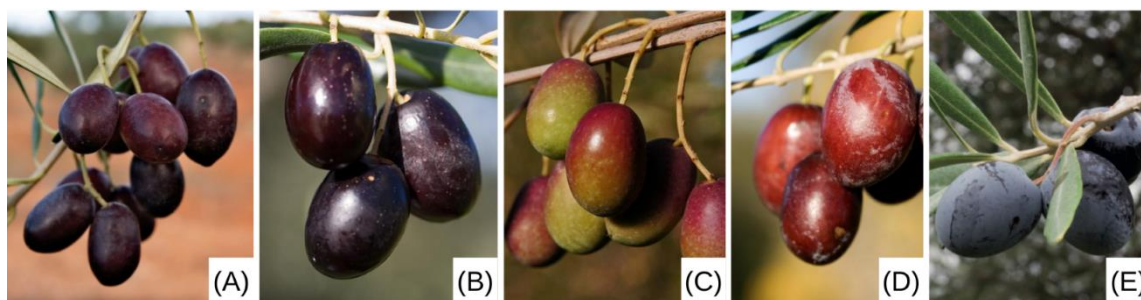
### **2.3. Cultivares distribuídas na região de Trás-os-Montes**

Trás-os-Montes está compreendida entre às quatro regiões agro-naturais do norte de Portugal (Rosário, 2004). Ainda assim, essa região é subdividida em Terra Quente e Terra Fria de acordo com seus termos agroclimáticos (Costa, 2020), os quais as zonas quentes possuem menores altitudes e a zonas frias possuem realidade contrária. Segundo Monteiro, (1999) e Rodrigues *et al.* (2018), no distrito de Bragança (Figura 3), as regiões quentes de destaque são Alfândega da Fé, Macedo de Cavaleiros, Mirandela, Torre de Moncorvo, Valpaços e Vila Flor. Já segundo a mesma, os destaques das regiões mais frias se dão nos concelhos de Vinhais, Bragança, Vimioso, Miranda do Douro e Mogadouro.



**Figura 3** - Mapa do distrito de Bragança.

Em toda zona norte de Portugal há um grande património genético devido à presença de cultivares regionais que se mantêm em expressividade em sua região de origem e adaptação. Nesse caso, a região transmontana possui cinco cultivares mais difundidas, sendo elas a Cobreançosa, Madural, Verdeal Transmontana, Cordovil e Negrinha do Freixo. Além destas, há cultivares minoritárias como a Santulhana. De maneira ilustrativa, na Figura 4 estão representadas as cultivares de maior expressividade na região Transmontana.



**Figura 4** - Cultivares de maior expressividade em Trás-os-Montes: Cobreançosa (A); Madural (B); Verdeal Transmontana (C); Cordovil (D); Negrinha do Freixo (E). (Adaptado de Vida Rural (A) e (E) e Azeites de Portugal – Guia 2018 (B), (C) e (D)).

Suas principais características estão descritas, amplamente, a seguir:

#### 2.3.1. Cobreançosa

Essa cultivar é nativa do país e de predominância nos azeites de Denominação de Origem Protegida (DOP) de Trás-os-Montes (Souza, 2014). Seus azeites são

caracterizados pelo seu cheiro e sabor fresco com sensações verde, amargo e picante (Maia, 2014). A cobrançosa possui um fruto de tamanho mediano com dupla aptidão, ou seja, as suas azeitonas podem ser destinadas tanto para conserva quanto para produção de azeites. Segundo Bohm (2013) o rendimento médio em óleos se dá entre 18% e 22% com um médio teor de ácido linoleico. Além disso, dentre as demais cultivares é a que possui maior regularidade e produtividade, fato que colaborou para maiores áreas de cultivos diminuindo a expressividade das demais cultivares.

#### 2.3.2. Madural

Também nativa e transmontana, suas árvores possuem porte médio com frutos de tamanho mediano aptos para a produção de azeites. Em contrapartida com a Cobrançosa, essa cultivar possui frutificação não muito regular embora também seja altamente produtiva (Leitão, 1986). Assim como a Cobrançosa, também apresenta rusticidade que confere as cultivares maior resistência a frios intensos (Segundo, 2017). Seus azeites também são utilizados nos azeites DOP de Trás-os-Montes, ainda que em menor quantidade. Seus azeites são equilibrados com notas de frutado verde, amargo e picante (Chéu-Guedes *et al.*, 2023).

#### 2.3.3. Verdeal transmontana

Suas árvores possuem porte médio, com frutos de médias dimensões e aptidão para a produção de azeites, entretanto se distingue por apresentar baixos teores de ácido linoleico (Leitão *et al.*, 1986). Uma desvantagem dessa cultivar é a sua alta alternância de frutificação e a maturação que ocorre de forma desigual. Com essa cultivar se fecha as 3 principais cultivares da região Trás-os-Montes que compõem os azeites de Denominação de Origem Protegida (DOP), destacando a Cobrançosa em maior quantidade e as demais em menores quantidades. Seus azeites possuem baixos teores de vitamina E se em comparação com as demais, entretanto seus azeites possuem intensas notas de frutado verde, tomate e maçã (Rodrigues *et al.*, 2020)

#### 2.3.4. Cordovil

Cultivar da região transmontana que atualmente possui menor expressividade em comparação com as outras citadas. Suas árvores são de porte pequeno a médio com frutos de tamanho mediano. Além disso, seus frutos possuem dupla aptidão, tanto para azeitona

de mesa quanto para produção de azeites, mas é quase que exclusivamente utilizada para produção em conserva de azeitonas verdes (Leitão *et al.*, 1986).

#### 2.3.5. Negrinha de freixo

Cultivar de importante consumo na região, visto que suas azeitonas de mesa possuem Denominação de Origem Protegida (DOP). Desse modo, seus frutos medianos possuem aptidão para a produção de azeitonas de mesa tanto com os frutos verdes quanto totalmente maduros. Suas árvores possuem porte pequeno a médio, além de possuir uma alta produtividade e regularidade da frutificação.

### 2.4. Caracterização da cv. Santulhana

A cv. Santulhana possui uma expressividade de cerca de 90% nos concelhos de Bragança (freguesias de Pombares, Quintela de Lapaças, Sendas, Macedo do Mato e Izedá) e Vimioso (Freguesias de Matela e Santulhão), sendo sua zona de origem na freguesia de Santulhão (Monteiro, 1999). Deste modo, essa cultivar possui grande expressão no norte Transmontano, onde se forma uma mancha varietal especificamente no sul do concelho de Bragança e em algumas freguesias de Vimioso e de Macedo de Cavaleiros (Rodrigues *et al.*, 2018), conforme ilustrado na Figura 5.



**Figura 5** - Região específica da expressividade da cv. Santulhana.

Suas árvores são de grande porte e possuem copas volumosas e abundantes com ramificações de comprimento médio (Monteiro, 1999), além de possuir ciclo de médio a tardio (Figura 6), onde o amadurecimento de seus frutos se dá a partir do final do mês de novembro. Além disso, sua produtividade é baixa devido ao desenvolvimento anormal das suas flores ocasionado pela má formação do pistilo desde o início de seu

desenvolvimento (Medeira *et al.*, 2002). Essa cultivar possui bem marcada a sua bienalidade, onde a carga elevada de frutos em um ano reduz as reservas energéticas disponíveis para a produção no próximo ano Rodrigues *et al.* (2011), sendo tal fenômeno responsável pelo ano de boa safra antecedendo o ano de má safra.



**Figura 6** - Oliveiras da cv. Santulhana localizadas no olival de estudo em Izeda.

Seus frutos possuem dupla aptidão, sendo assim possíveis tanto para a extração de azeites quanto para as azeitonas de mesa. Tal fato se justifica devido à alta relação polpa/caroço de seus frutos que geralmente apresentam de grande a médio calibre com um rendimento médio de azeite de 20%. Suas azeitonas possuem forma ovoide com frutos simétricos e ligeiramente assimétricos com ápice podendo ser arredondado ou pontiagudo e de base truncada (Rodrigues *et al.*, 2018), além de possuir poucas lentículas e de tamanhos que variam entre grandes e pequenas (Figura 7). Apesar da dupla aptidão de seus frutos, seu uso atual é exclusivamente para a extração de azeites, visto que muitas vezes suas azeitonas no processo de cura natural acabam ficando rançosas. Os azeites monovarietais dessa cultivar apresentam características químicas e sensoriais distintas, as quais despertam interesses de produtores e de concursos de azeites. Já evidenciado por Peres *et al.* (2011), essa produção está crescendo devido do ponto de vista do produtor ser uma maneira de diferenciar e aumentar o valor comercial do azeite devido sua autenticidade.



**Figura 7** - Frutos verdes da cv. Santulhana na safra 2022/23.

Assim sendo, os azeites elementares da cv. Santulhana apresentam como características olfativas um frutado verde com sensações de tomate, maçã, frutos secos, erva fresca, rama de tomateiro e couve. Já em sensações gustativas possui um frutado verde com leve amargor, picante e notas persistentes de tomate, maçã, banana, frutos secos, erva fresca, rama de tomateiro e couve (Rodrigues *et al.*, 2018). Dito isso, a existência dessas cultivares nativas da região representam um enorme patrimônio genético sendo necessária sua preservação e conservação (Rodrigues *et al.*, 2020) de forma a valorizar sua produção e azeites de excelente qualidade.

#### 2.4.1. Importância econômica e social

A região fria de Trás-os-Montes é distinguida pela produção oleícola, a qual é uma das poucas atividades agrícolas que gera rendimento e mão de obra para a população local. Com isso, a olivicultura é uma das principais fontes de renda de várias famílias, especialmente nos concelhos de Bragança e Vimioso, onde há maior expressividade da cultivar (Medeira *et al.*, 2002; Rodrigues *et al.*, 2022). Esse fato foi explicado por Monteiro (1999), devido sua origem ter se dado nesses concelhos representando uma expressividade de 90% dos olivais na região.

Os olivais acompanhados no presente estudo são exclusivamente conduzidos em sistema sequeiro, caracterizados, portanto, pela tradicionalidade. A condução desses olivais representa uma realidade do país onde há elevados custos da produção devido à dificuldade de mecanização e menor disponibilidade hídrica, fatores os quais resultam em menor produção (Rodrigues & Correia, 2009). Os olivais tradicionais do norte português precisam competir, em questão de volume e preço, com olivais intensivos e superintensivos do sul do país. Dito isso, a realidade dos olivais tradicionais é a

impossibilidade atual de competir, quanto a esses critérios, devido aos olivais da região sul conseguirem produzir grandes volumes com menores custos, a partir da mecanização do ciclo produtivo e a condução dos olivais em sistemas de irrigação (Pavão, 2018).

Ainda assim, pela melhor expressão da cultivar na região e pela distinção de seus azeites em concursos nacionais, os agricultores despertaram seus interesses em continuar cultivando cultivares minoritárias como é o exemplo da Santulhana.

Esta distinção dos seus azeites, foi marcada pela melhoria de práticas agrícolas contribuindo para o melhor controle de pragas e doenças, aumento da produtividade e redução da alternância da cultura (Rodrigues *et al.*, 2018). De acordo com Rodrigues e Correia (2009) a importância da precocidade da colheita na diminuição da alternância da cultura, é um fator importante para a produção de azeites de qualidade com sabores mais frutados, amargos e picantes. Apesar desses olivais não serem capazes de competir com os demais sistemas de produção, seus produtos passaram a ser mais valorizados evidenciando sua qualidade, complexidade e harmonia (Pavão, 2018).

## **2.5. Fenologia**

As oliveiras são famosas por sua plasticidade e rusticidade, que as possibilitam adaptação a condições ambientais mais árduas e limitantes. Com isso, para esse ajuste as oliveiras possuem a capacidade de mudar as etapas de sua fenologia, sua produção e até a composição química de seus frutos (Navero *et al.*, 2008). Diante disso, as principais mudanças morfológicas e fisiológicas das oliveiras na região do mediterrâneo, se dão devido ao estresse hídrico e aumento das temperaturas (Siakou *et al.*, 2022). Visto que, as mudanças climáticas ocasionam nessa região cada vez mais o aumento das temperaturas e a escassez de água implicando na alteração do desenvolvimento das oliveiras e na produção das azeitonas (Mairech *et al.*, 2021).

Embora estudos afirmem que o fotoperíodo possui pouco efeito sobre o desenvolvimento fenológico das oliveiras (López-Bernal *et al.*, 2020), as temperaturas influenciam diretamente no seu desenvolvimento, principalmente na duração de cada estágio fenológico, mais precisamente no adiantamento e atraso desses (Mairech *et al.*, 2021). Deste modo, entender a fenologia é importante para entender o desenvolvimento da cultura ao longo do ano, sua interação com o meio, principalmente dos estádios mais determinantes na produção e para tomada de decisão na adoção de práticas agrícolas (Navero *et al.*, 2008).

O desenvolvimento da cultura dá-se desde seu período hibernar até o amadurecimento dos frutos prontos para a colheita (Cantero, 1997; Tapia & Meza, 2020). O ciclo da oliveira está dividido em vegetativo e reprodutivo, em que o ciclo vegetativo é pouco abordado por estudos sendo somente apresentado quanto ao crescimento do tronco, brotação vegetativa, crescimento da parte aérea e a duração térmica desse período (Hamze *et al.*, 2022). Em contrapartida, o ciclo reprodutivo engloba desde o surgimento dos botões florais até a maturação dos frutos, sendo uma fase importante para a produção e rendimento da atividade oleícola (Medina-Alonso *et al.*, 2020).

Vale ressaltar que as oliveiras possuem um período de dormência, o qual cessam seu crescimento vegetativo e reprodutivo. Nesse momento, as atividades fotossintéticas continuam acontecendo possibilitando então o acúmulo de fotoassimilados, os quais serão utilizados como recurso energético para a produção. Desse modo, somente na primavera, com o aumento da temperatura, a dormência é superada dando início ao ciclo reprodutivo, com o início da floração (López-Bernal *et al.*, 2020). Dando seguimento, após o vingamento das flores começa-se o desenvolvimento dos frutos e endurecimento do endocarpo até que o fruto esteja apto para a colheita.

## **2.6. Pragas mais relevantes**

A oliveira assim como outras culturas também é suscetível ao ataque de pragas e doenças, responsáveis por prejuízos na produção. É necessário fazer um controle das pragas e/ou doenças que influenciam diretamente e indiretamente a produção (Rodrigues & Correia, 2009). Segundo Coelho *et al.* (2011) quanto ao ataque de pragas, apesar de mais de quarenta espécies filófagas atacarem essa cultura, apenas três espécies ocasionam danos econômicos, sendo elas: a traça-da-oliveira, a mosca-da- e a cochonilha-negra. Essas pragas são responsáveis por ocasionarem danos irreversíveis como a queda precoce de frutos, diminuição da qualidade dos azeites e das azeitonas de mesa. Consequentemente, demandam maior atenção dos agricultores e muitas vezes a entrada em campo com a aplicação de pesticidas (Bento *et al.*, 2001). Por isso, a fim de ter maior controle da incidência de pragas, vários estudos procuram avaliar estratégias de proteção contra essas, com a principal finalidade de reduzir os custos de produção e melhorar a qualidade das azeitonas e azeites (Rodrigues *et al.*, 2019).

### 2.6.1. Traça-da-oliveira (*Prays oleae* Bernard)

Taxonomicamente esse inseto pertence à ordem dos Lepidópteros, caracterizada pela metamorfose completa do inseto que passa pelas fases: ovo, larva, pupa e adulto (Rodrigues & Correia, 2009). Esse inseto é considerado uma praga agrícola responsável por ocasionar danos na produção das oliveiras devido a se ter adaptado a essa cultura e ter seus ciclos anuais sincronizados com a evolução da colheita da azeitona (Molina de la Rosa, 2010). Na fase adulta esse inseto pode atingir cerca de 67 mm de comprimento, cuja cor é cinza prateada (Figura 8). Ademais, sua lagarta chega a medir cerca de 0,65 mm de comprimento apresentando uma coloração branca-amarelada (Rodrigues *et al.*, 2019).



**Figura 8** - Adultos da traça-da-oliveira capturados em armadilhas a base de cola.

Biologicamente, esses insetos se reproduzem a partir de três ciclos anuais (filófaga, antófaga e carpófaga) independente das condições climáticas. Segundo Rodrigues e Correia (2009) esses ciclos são caracterizados como:

- Geração filófaga: a postura dos ovos é realizada nas folhas (parte superior ou inferior) entre meados de outubro, os quais após eclosão, suas larvas desenvolvem-se nas folhas a partir da criação de galerias no seu interior, para obtenção de reservas energéticas e abrigo do inverno. Posterior ao mês de março, com ao aumento das temperaturas, as larvas reiniciam suas atividades aumentando seu tamanho e passando para a fase pupa que ocorre nas próprias folhas. Passada essa fase, há a emergência dos adultos que nas próximas 24 horas já buscam realizar o acasalamento para a formação da nova geração.

- Geração antófaga: a postura dos ovos é realizada nos botões florais fechados durante o estágio fenológico da formação da corola. Após a eclosão das larvas essas desenvolvem-se a partir da penetração no botão floral alimentando-se das anteras e do pólen, onde à medida que as flores começam a abrir estas se alimentam dos estigmas e ovários. Com reservas energéticas, as larvas avançam para a fase pupa que pode se passar tanto no solo quanto nos botões/flores. A emergência dos adultos se dá normalmente no fim de maio ao início de junho dependendo das condições climáticas.

- Geração Carpófaga: a postura é realizada nos frutos recém-formados, em grande maioria sobre o cálice próximo à inserção do pedúnculo. Após eclosão, suas larvas penetram no fruto e formam galerias para se alimentarem até completarem seu desenvolvimento. Finalizado sua alimentação, estas saem do fruto pelo mesmo local que penetraram para passar pela fase pupa no solo.

Em maior precisão dos meses de cada geração, Molina de La Rosa (2010) evidencia o início da geração filófaga durante os meses de outubro e novembro, e a larva empupa no final de março ou início de abril, sendo que no período de um mês já emerge o adulto que resultará na próxima geração a partir da postura no mês de maio. A partir daí, no final de junho e começo de julho já se inicia a geração carpófaga (Figura 9).

Gerações	Meses do ano												
	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	
<b>Filófaga</b>	■												
<b>Antófaga</b>							■	■					
<b>Carpófaga</b>										■	■	■	

**Figura 9** - Desenvolvimento de cada geração da traça-da-oliveira, conforme os meses do ano (Adaptado de Molina De La Rosa, 2010).

A partir das análises realizadas por Bento *et al.* (2001), as gerações antófaga e carpófaga são as que causam maiores prejuízos em Trás-os-Montes, sendo muitas vezes necessário a realização de tratamentos fitossanitários. Ainda assim, a gravidade de seus prejuízos varia de acordo com o ano, local, órgão atacado, densidade populacional da praga e carga produtiva da árvore (Rodrigues *et al.*, 2019). Desse modo, a geração filófaga é a que ocasiona estragos pouco significativos, sendo mais importante quando ocorre em árvores jovens devido aos estragos causados nas folhas jovens e nos gomos terminais interferindo na formação da árvore (Rodrigues & Correia, 2009).

### 2.6.2. Mosca-da-azeitona (*Bactrocera oleae* Rossi)

Essa praga pertence à ordem dos Dípteros (família: Tephritidae), a qual engloba grande diversidade de moscas que ocasionam impactos na produção e exportação de frutas (Pirovani *et al.*, 2010). A mosca-da-oliveira é considerada uma das principais pragas da azeitona, sendo seus danos ocasionados pela queda prematura dos frutos, consumo da polpa pelas larvas e pela perda da qualidade do azeite devido ao ataque dos frutos (Rodrigues & Correia, 2009). Portanto, seus danos variam, se seus frutos serão destinados para a produção de azeites ou para produção de azeitonas de mesa (Pereira *et al.*, 2004).

Morfologicamente, os adultos dessa mosca atingem cerca de 4 a 5 mm de comprimento (Gonçalves *et al.*, 2007), cujo tamanho assemelha-se ao tamanho da mosca-doméstica (Molina de la Rosa, 2010). Segundo Gonçalves *et al.* (2007), esses insetos possuem cabeça e tórax de cor amarelo avermelhada com a presença característica do escutelo de cor amarela-marfim (Figura 10). Ainda segundo o autor acima, as fêmeas diferenciam-se dos machos por possuir o último segmento do tórax mais prolongado devido à formação de uma bainha protetora do ovopositor.



**Figura 10** - Fêmea adulta da mosca-da-azeitona (Gonçalves *et al.*, 2007).

Biologicamente, essas moscas desenvolvem-se partir das fases: ovo, larva, pupa e adulto, assim como a traça-da-oliveira. Durante o inverno grande maioria se encontra em fase de pupa enterrada no solo, apesar de em algumas regiões hibernarem em fase adulta. Os adultos destas pupas imergem no final do inverno, permanecendo no olival ou nas zonas próximas até ao final da primavera, ou início do verão (Molina de la Rosa, 2010). Desse modo, os adultos retomam suas atividades durante a primavera, momento em que não há frutos, por isso as fêmeas podem entrar em diapausa reprodutiva como

forma de aumentar sua longevidade a partir da ingestão de néctar e melados (Gonçalves *et al.*, 2007).

As primeiras perfurações para oviposição nos frutos iniciam-se no verão, as quais são influenciadas pelas condições climáticas e estágio de desenvolvimento das frutas (Molina de la Rosa, 2010). De forma que, preferencialmente, o início da postura se dá durante o endurecimento do caroço (Gonçalves *et al.*, 2007). Deste modo, as fêmeas perfuram a epiderme do fruto introduzindo seus ovos, dos quais posteriormente eclodem as larvas que se alimentam da polpa das azeitonas a partir da formação de galerias. Esta geração é marcada como a primeira, cujos adultos imergem em diferentes momentos durante os meses de julho a setembro. A segunda geração ocorre de forma mais rápida, de modo que os adultos oriundos dos meses de julho a setembro originam os novos adultos durante os meses de setembro e outubro. Por fim, a terceira geração finaliza ao ciclo anual das moscas repetindo o ciclo anterior, entretanto estas permanecem em pupa até o passar do inverno (Molina de la Rosa, 2010). A seguir a Figura 11 resume essas gerações de acordo as estações do ano e suas gerações.

Gerações	Meses do ano											
	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai
	Verão			Outono			Inverno			Primavera		
<b>Primeira</b>												
<b>Segunda</b>												
<b>Terceira</b>												

**Figura 11** - Desenvolvimento de cada geração da mosca-da-azeitona, conforme as estações do ano (Adaptado de Molina de La Rosa, 2010).

Logo, em regiões de clima continental, é possível observar o desenvolvimento de duas ou três gerações anuais. Embora as gerações mais evidenciadas são as: geração do verão/início do outono caracterizada por desenvolver-se completamente no interior do fruto, e a geração do inverno/início da primavera as quais empupam, em parte, no solo e em frutos que tenham ficado por colher. Apesar disso, de forma geral é difícil individualizar as gerações devido a elas se sobreporem (Gonçalves *et al.*, 2007). Além de que suas gerações dependem exclusivamente das condições climáticas e agronômicas, podendo variar de 2 a 4 por ano.

## 2.7. Azeite e sua composição

Como já mencionado, o azeite representa grande importância na dieta mundial e principalmente na mediterrânea. Sua composição, valores nutricionais e características organolépticas justificam o porquê desse estar presente diariamente como um importante ingrediente na gastronomia (Rodrigues *et al.*, 2020). No decorrer dos anos, a popularidade dos azeites e seu consumo aumentaram após estudos evidenciarem seus benefícios a saúde contra doenças, como colesterol alto e cancro (Seçmeler & Galanakis, 2019). Esses benefícios ocorrem devido aos seus compostos bioativos, os quais são responsáveis por manter sua própria saúde, sendo eles os: polifenóis, tocoferóis, carotenoides e sua atividade antioxidante (Gavahian *et al.*, 2019).

O azeite é classificado como uma gordura líquida a 20°C, o qual pode ser classificado comercialmente em 3 categorias (virgem extra, virgem e lampante). Além disso, pode receber algumas denominações como Denominação de Origem Protegida (DOP), Indicação Geográfica Protegida (IGP), agricultura biológica, entre outros. Vale acentuar, que sua classificação comercial possui como base a avaliação química de seus parâmetros de qualidade e de seus atributos sensoriais (Gavahian *et al.*, 2019). Na União Europeia, a classificação comercial dos azeites segue o Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022, o qual possui especificado a metodologia para cada análise química, onde, os indicadores de qualidade dos azeites são determinados pelas análises de acidez, índice de peróxidos, espectrofotometria no ultravioleta, análise sensorial, entre outros.

Segundo Jimenez-Lopez *et al.* (2020), os azeites são compostos majoritariamente por triglicerídeos (85%), gorduras saturadas (13%) e outros compostos em menores quantidades (2%). Ainda assim, os azeites são divididos em duas frações, a saponificável e insaponificável. A fração saponificável é de maior peso na composição dos azeites e é responsável pela acidez desses, pois é composta por triacilgliceróis e ácidos graxos livres (Garcia *et al.*, 2005). Já a fração insaponificável é essencial no paladar e na estabilidade oxidativa dos azeites, uma vez que é composta por compostos fenólicos, fitosteróis, pigmentos (carotenoides) e vitamina E (Trovão & Silva, 2022). Contudo, a concentração desses compostos nos azeites pode variar de acordo com as cultivares de azeitona, tempo de colheita, tempo de extração e condições de armazenamento (Jimenez-Lopez *et al.*, 2020).

Quanto aos atributos sensoriais dos azeites, esses são determinados pelos compostos fenólicos, responsáveis por conferirem propriedades sensoriais de doce, amargo e picante (Pedan *et al.*, 2019). Tal fato dá-se devido aos compostos fenólicos possuírem a capacidade de estimular os receptores gustativos fazendo com que haja a percepção dessas sensações (Seçmeler & Galanakis, 2019). Rodrigues *et al.* (2020) ainda complementa, que compostos menores como polifenóis e compostos voláteis são os reais responsáveis pelo amargo, picante e aroma típico dos azeites. Sendo assim, a presença desses compostos na composição dos azeites depende dos mesmo fatores citados acima, quanto a época de colheita, grau de amadurecimento dos frutos e cultivares da cultura (Pedan *et al.*, 2019; Jimenez-Lopez *et al.*, 2020).

# **Capítulo 3**

**Material e métodos**

### 3. Material e métodos

#### 3.1. Desenho experimental

O presente trabalho encontra-se dividido em duas partes distintas. Na primeira parte foi feito o acompanhamento e caracterização da evolução do ciclo da oliveira em olivais da Terra Fria Transmontana. Para tal foram escolhidos três olivais localizados nos concelhos de Bragança e Vimioso para a realização dos ensaios durante o período de março a novembro. No concelho de Bragança, os olivais acompanhados estavam situados nas freguesias de Macedo do Mato (41°34'15"N 6°46'30"W) e Izeda (41°33'25"N 6°42'54"W). Já em Vimioso, o olival estava situado na freguesia de Santulhão (41°33'16"N 6°37'8"W). De forma a classificá-los, estes foram categorizados em Olival 1 (O1), Olival 2 (O2) e Olival 3 (O3) sendo eles, respectivamente, Macedo do Mato, Izeda e Santulhão (Figura 12). Todos os olivais selecionados da cv. Santulhana, eram olivais em modo de produção biológico, em regime de sequeiro. Desse modo, para a realização do estudo foram selecionadas cinco plantas que foram acompanhadas ao longo do seu ciclo de crescimento e frutificação.



**Figura 12** - Localização geográfica dos olivais acompanhados (Adaptado de Google Earth, 2009).

Já a segunda parte do presente trabalho consistiu na avaliação dos parâmetros de qualidade e da atividade antioxidante de azeites da cv. Santulhana no sentido de avaliar a composição com o passar do tempo. Assim sendo foram colhidas amostras de azeite da cv. Santulhana em lugares da região sendo estes avaliados nos períodos de 3 e 12 meses após extração.

### 3.2. Análises em campo:

#### 3.2.1. Avaliação da fenologia

Para o acompanhamento em campo da evolução fenológica das oliveiras foi seguida a metodologia proposta segundo Cantero (1997), a qual segue uma escala alfabética (A-J). Esta escala alfabética classifica os diferentes estados fenológicos desde o estado invernal (A) até o fruto maduro (J), como é possível observar na tabela 1.

**Tabela 1** - Fenologia em escala alfabética segundo Cantero (1997).

<b>Simbologia</b>	<b>Estado fenológico</b>
<b>A</b>	Estado hibernal
<b>B</b>	Início da atividade vegetativa
<b>C</b>	Surgimento dos botões florais
<b>D<sub>I</sub></b>	Formação da corola
<b>D<sub>II</sub></b>	Mudança de cor da corola
<b>E</b>	Surgimento dos estames
<b>F<sub>I</sub></b>	Abertura dos botões florais
<b>F<sub>II</sub></b>	Plena floração
<b>G</b>	Frutos formados
<b>H</b>	Lignificação do endocarpo
<b>I</b>	Início da maturação do fruto
<b>J</b>	Frutos maduros

Os diferentes estados fenológicos foram registrados num caderno de campo que possuía as coordenadas geográficas (norte, sul, leste e oeste) e para cada coordenada avaliou-se de forma subjetiva a copa da árvore. A partir do dia 19 de abril foram realizadas visitas semanais aos olivais, onde se avaliou a copa das cinco árvores em cada olival nas diferentes posições geográficas.

#### 3.2.2. Avaliação da incidência de pragas

Nos mesmos olivais, realizou-se o acompanhamento da incidência das principais pragas da cultura, sendo elas a traça-da-oliveira e a mosca-da-azeitona. Em cada olival houve seis pontos de observação, ou seja, três armadilhas para cada praga, distribuídas aleatoriamente pelos olivais.

### 3.2.2.1. Traça-da-oliveira

Afim de se analisar a curva de voo desses insetos foi instalado nos olivais três armadilhas sexuais do tipo Delta com uma base de cola, onde o recipiente de feromona foi colocado ao meio. Estas foram distribuídas de forma aleatória pelos olivais (Figura 13). Além disso, foram distribuídas a uma distância mínima de 50 metros entre si de modo a evitar a competição.



**Figura 13** - Armadilha para traça do tipo Delta com feromona: (A) estabelecimento da armadilha na árvore; (B) base de cola com recipiente de feromona ao meio.

A primeira armadilha foi instalada no início do acompanhamento, na primeira semana de maio, e trocada a cada 8 semanas totalizando 2 trocas. As feromonas eram abertas antes de chegar ao campo afim de evitar picos de densidade populacional que não correspondessem com a realidade. A monitoração foi feita de forma semanal onde se apontou a quantidade de traças presentes na base de cola, sendo posteriormente essas retiradas com o auxílio de uma pinça. Os produtos utilizados foram da empresa BIOSANI Lda.

### 3.2.2.2. Mosca-da-azeitona

A monitoração da população de moscas foi feita a partir do uso de placas cromotrópicas amarelas (Figura 14), sendo as feromonas amarradas junto as placas para a atração dos adultos machos e fêmeas. Assim como as armadilhas das traças, as placas foram distribuídas de forma aleatória nos olivais sendo três armadilhas para cada, e o acompanhamento feito semanalmente. Assim como as armadilhas para traças, estas foram instaladas a uma distância mínima de 50 metros.



**Figura 14** - Placa cromotrópica estabelecida na copa da oliveira com recipiente de feromona.

As placas foram instaladas na segunda semana de julho, quando se iniciou o acompanhamento dessa praga, sendo estas trocadas apenas uma vez depois de um período de quatro semanas. Assim como nas feromonas para atração da traça-da-oliveira, as embalagens dessas foram abertas antes de chegar ao campo para evitar discrepâncias na densidade populacional de moscas. A monitoração semanal contou com a quantificação das fêmeas e machos. Vale ressaltar que após a contagem das moscas, essas eram retiradas das placas com o auxílio de uma pinça. Os produtos utilizados foram da empresa BIOSANI Lda.

### **3.3. Amostragem**

Com a finalidade de caracterizar suas composições e avaliar o comportamento do azeite da cv. Santulhana ao longo do tempo, recolheram-se 17 amostras de azeites monovarietais da cv. Santulhana referentes a campanha de 2021/2022. A recolha ocorreu em diferentes lagares de produtores locais. No concelho de Bragança os azeites foram recolhidos nas freguesias de Izeda (5 amostras) e Macedo do Mato (5 amostras); em Vimioso na freguesia de Santulhão (5 amostras) e em Macedo de Cavaleiro na freguesia de Talhas (2 amostras).

Os azeites recolhidos foram armazenados em garrafas próprias e posteriormente filtrados no laboratório com papel filtro whatman n°4 e sulfato de sódio anidro. Esse processo visa eliminar as impurezas e umidade que as amostras podem apresentar quando chegam aos laboratórios interferindo negativamente nas análises. Após a etapa de

filtragem os azeites foram armazenados no escuro a temperatura ambiente até análise. Foram realizadas análises 3 meses e 12 meses após extração.

### 3.3.1. Parâmetros de qualidade

A qualidade do azeite é importante devido a representar a presença de bons ácidos graxos, menor quantidade de agentes oxidativos e sensações gustativas e olfativas positivas. Essa qualidade reflete atributos que devem agradar seus consumidores, além ofertar valores nutricionais. Sendo assim, existe um regulamento que categoriza os azeites de acordo com parâmetros importantes de sua composição. Dito isso, Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022 distingue, descreve e estabelece as diferentes classificações dos azeites a partir dos métodos de análises dispostos em si. O regulamento apresenta como critérios de qualidade dos azeites, os indicadores de acidez (%), índice de peróxidos (mEq.O<sub>2</sub>/kg), espectrometria no ultravioleta e avaliação organoléptica. O presente trabalho realizou as análises dos indicadores de qualidade dos azeites, ao fim de 3 e 12 meses após extração.

#### 3.3.1.1. Acidez

Para determinar a acidez total das amostras de azeites usou-se o método de acordo com o Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022. Seguindo esse método, as amostras foram pesadas em aproximadamente 5 gramas em um frasco de Erlenmeyer onde foram adicionados 50 mL de solução alcoólica (1:1) de álcool/éter dietílico. Após isso foram tituladas com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 N até a aparecimento de uma coloração alaranjada fina e persistente. Para essa análise foi utilizado o indicador universal de fenolftaleína que permitiu a percepção de mudança de cor das amostras. Todas as amostras foram analisadas em duplicado.

O resultado foi obtido em porcentagem de ácido oleico a partir da fórmula:

$$A (\%) = \frac{V \times C \times MM}{10 \times m}$$

Sendo:

V – Volume utilizado de hidróxido de sódio na titulação (mL);

C – Concentração da solução de hidróxido de sódio em mol/L

M – Massa molar do ácido oleico em g/mol;

m – Massa das amostras, expressas em gramas.

### 3.3.1.2. Índice de peróxidos

Determinado de acordo com o mesmo regulamento, o índice de peróxidos determina a oxidação primária dos azeites. Essa oxidação acontece devido à exposição dos azeites ao oxigênio atmosférico, o qual reage com os ácidos graxos formando os peróxidos. Com isso, o índice foi estabelecido a partir da quantidade de peróxidos presentes nas amostras que são aptos a oxidar com o iodeto de potássio, sendo os resultados expressos em miliequivalentes de oxigênio ativo por kg de azeite. Para a análise foi utilizado aproximadamente 1,2 gramas de cada amostra, sendo elas dissolvidas em clorofórmio (10 mL), ácido acético glacial (15 mL) e solução saturada de iodeto de potássio (1 mL). Após a dissolução as amostras foram tapadas com parafilme, agitadas por 1 minuto e armazenadas em local protegido da luz por 5 minutos. Por fim, adicionou-se água destilada (75 mL) e 4 gotas de uma solução de cozimento de amido (1g/100 mL) utilizada como indicador, onde se iniciou a titulação com uma solução de tiosulfato de sódio 0,01 N até a mudança do indicador para incolor. As amostras foram analisadas em duplicado.

Esse índice (IP) é expresso em mEq.O<sub>2</sub>/kg de azeite e é calculado a partir da seguinte fórmula:

$$IP = \frac{V \times N \times 1000}{m}$$

Sendo:

V – Volume total gasto de tiosulfato de sódio na titulação;

N – Normalidade da solução de tiosulfato de sódio;

m – Massa em gramas da amostra analisada.

### 3.3.1.3. Espectrofotometria no ultravioleta

Para essa avaliação de absorvância a partir da análise no ultravioleta utilizou-se o Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022. Desse modo, seguindo o regulamento pesou-se aproximadamente 0,6 g de cada amostra, sendo elas submetidas a uma diluição em uma solução de isoctano completando um total de 10

mL no tubo de ensaio. Em seguida, em “cuvettes” de quartzo de percurso óptico de 1 cm foi determinado o coeficiente de extinção a partir do aferimento dos comprimentos de ondas de 232 a 272 nm. Após a realização das diluições das amostras, estas foram medidas nos respectivos comprimentos de ondas num espectrofotômetro UV-Visível UV-1280 modelo shimadzu.

Procedendo para os cálculos dos coeficientes de extinção utilizou-se as fórmulas:

$$K_{232} = \frac{A_{232} \times F.D.}{m \times 10}$$

$$K_{268} = \frac{A_{268} \times F.D.}{m \times 10}$$

$$\Delta K = \bar{K} - \frac{(A_{264} + A_{272})}{2}$$

Sendo:

A<sub>232</sub>, A<sub>268</sub>, A<sub>264</sub> e A<sub>272</sub> – Absorbâncias medidas no espectrofotômetro;

F.D. – Fator de diluição (1:20 e 1:5);

m = massa aferidas das amostras.

#### 3.3.1.4. Análise sensorial

Para a análise e classificação dos parâmetros qualitativos dos azeites realizou-se a avaliação das características sensoriais capazes de serem identificadas pelo olfato (cheiro) e palato (sabor). Com isso o perfil descritivo dos azeites foi determinado por um painel treinado da Escola Superior de Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, a partir da metodologia descrita por pelo Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022 e por Rodrigues *et al.* (2020). Utilizaram-se duas folhas de análise sensorial. Na primeira folha a análise sensorial é feita de acordo com o Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022 onde com base nos resultados obtidos é feita a classificação comercial dos azeites. Na segunda folha, aplicada a azeites classificados de azeite virgem extra, é feita uma análise sensorial descritiva. Nesta folha, são usadas escalas de intensidade com alternância entre 0 (ausência do atributo) e 10 (máxima intensidade do atributo) a partir de seus atributos positivos. Para a definição do perfil descritivo de cada amostra avaliaram-se os parâmetros olfativos (frutado, percepção de frutos, percepções herbáceas e harmonia), parâmetro gustativos (frutado, doce, amargo, picante, percepção de frutos, percepções

herbáceas e harmonia), e olfativo-gustativo (complexidade e persistência). As folhas de avaliação possuíam espaços de sensações não preenchidos para que os avaliadores não fossem influenciados nas percepções das amostras. Além de tudo, os copos utilizados para a descrição do perfil das amostras foram apropriados de coloração azul, para que a cor dos azeites também não influenciasse na percepção dos avaliadores. As amostras estavam em condição ideal de prova em temperatura de 28 °C.

### 3.3.2. Clorofila e carotenoides

Na tentativa de quantificação das clorofilas e carotenoides utilizou-se a metodologia adaptada da proposta por Roca e Mínguez-Mosquera (2001). Desse modo, pesou-se em tubos de ensaio aproximadamente 1,5 g de cada amostra de azeite, os quais foram posteriormente completados com cicloexano deixando todas amostras até um volume de 5 mL. Dando seguimento, em “cuvettes” de quartzo de percurso óptico de 1 cm realizou-se a leitura dos comprimentos de ondas 470 e 670 nm, num espectrofotômetro UV-Visível UV-1280 modelo shimadzu. Sendo, o comprimento de onda 470 nm responsável pela quantificação dos carotenoides e o comprimento de onda 670 nm responsável pela quantificação dos pigmentos clorofilinos.

Os resultados obtidos foram expressos em mg de pigmento/kg de azeite, os quais foram definidos pelos cálculos:

$$\text{Carotenoides} \left( \frac{mg}{Kg} \right) = \frac{(A_{470} \times 10^6)}{(613 \times 100 \times d)}$$

$$\text{Clorofilas} \left( \frac{mg}{Kg} \right) = \frac{(A_{670} \times 10^6)}{(2000 \times 100 \times d)}$$

Sendo:

$A_{470}$  e  $A_{670}$  - Absorbâncias lidas;

d - Espessura da célula espectrofotométrica (1 cm).

### 3.3.3. Cor

A coloração dos azeites foi determinada a partir da escala CIELAB, em temperatura ambiente. Essa escala possui como indicativos a luminosidade ( $L^*$ ), tonalidade ( $a^*$ ) e cromaticidade ( $b^*$ ). Tais quais, classificam a cor dos azeites de acordo com sua luminosidade variando de claro (100) a escuro (0), sua tonalidade verde ( $-a$ ) e vermelha ( $+a$ ) e sua cromaticidade variando entre azul ( $-b$ ) e amarelo ( $+b$ ). Dessa

maneira, para a determinação da cor das amostras utilizou-se 10 ml de cada em uma placa de Petri de vidro, sendo essa utilizada sob uma folha branca. Em seguida com o auxílio do colorímetro modelo Konica Minolta CR-400 ® mediu-se, em 5 diferentes pontos da placa, a coloração. As análises foram analisadas em duplicada.

#### 3.3.4. Resistência à oxidação

A estabilidade oxidativa é medida através de um processo em que as amostras são submetidas a condições responsáveis pela oxidação dos azeites, sendo elas temperatura e oxigênio. Com o auxílio do equipamento Rancimat 743 da Metrohm foi possível submeter as amostras a uma temperatura aquecida de aproximadamente  $120 \pm 1,6$  °C sendo em simultâneo inserido uma corrente de ar limpa (20 L/h), a qual gera um borbulhamento. O processo de borbulha é responsável por arrastar para uma solução de água destilada (60 mL) compostos como álcoois, hidroxiperóxidos e compostos carbonílicos, os principais compostos liberados durante o processo de oxidação dos azeites. Diante disso, para a determinação da resistência das amostras à oxidação seguiu-se a metodologia descrita por Rodrigues *et al.* (2019) em que se pesou 3 g de cada amostra que em seguida foram inseridas no equipamento. As análises foram realizadas de forma automática seguindo a capacidade do equipamento de 4 amostras em simultâneo, sendo as análises feitas em duplicado. Os resultados obtidos são expressos em tempo estimado de resistência, o qual é determinado a partir do tempo de indução. Esse tempo é calculado devido à presença de elétrodos de platina imersos na solução aquosa que mede a condutividade.

#### 3.3.5. Fenóis totais

Para a análise do teor de fenóis nas amostras utilizou-se como base a reação do reagente Folin – Ciocalteau com os polifenóis. Com esse intuito, foi necessário realizar a preparação da amostra a partir da metodologia descrita por Pizarro *et al.* (2013) de micro extração com os passos descritos a seguir:

- Pesagem de 0,5 g de azeite em tubos eppendorf (2mL);
- Adição de 1 mL de solução hidroalcolica de metanol água (MeOH – 80:20);
- Agitação por aproximadamente 1 minuto em um agitador tipo vórtex;
- Centrifugação das amostras a 13 200 rpm por 5 minutos;

- Retirada do sobrenadante com o auxílio de uma pipeta e adicionados a um tubo de Falcon;

- Esse processo foi repetido por mais duas vezes para cada amostra, sendo os 3 extratos reunidos no tubo de tipo Falcon;

- Com os extratos nos tubos, este foi completado até 5 mL com a mesma solução metanol água (80:20). Vale ressaltar que os tubos de Falcon estavam enrolados em papel alumínio e devidamente identificados.

Dando continuidade, em um tubo de ensaio fundo e redondo foi adicionado 1500 µL de água destilada, 100 µL do extrato e 100 µL de reagente Folin – Ciocalteau. O tubo foi agitado vigorosamente por aproximadamente 1 minuto para a homogeneização e intensificação da atividade do reagente com o extrato. A solução foi deixada em repouso por 3 minutos ao abrigo da luz. Após o repouso, foi adicionado 300 µl de carbonato de sódio a 20% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) sendo o tubo agitado novamente. As leituras da absorbância a 765 nm foram realizadas em um espectrofotômetro Visível UV – Genesys 10 UV modelo Thermo Spectronic. Antes disso, realizou o autozero sem nada e em seguida o autozero com metanol (leitura do branco). As leituras procederam-se em “cuvettes” de quartzo de percurso óptico de 1 cm, o qual foi lavado após troca de amostras com metanol para evitar vestígios de gorduras. Os resultados obtidos foram determinados a partir de uma curva de calibração estabelecida entre os valores de absorbância registrados, com as concentrações expressas em mg de ácido gálico por kg de azeite.

### 3.3.6. Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH

Essa análise permite determinar a atividade antioxidante das amostras a partir de sua capacidade de eliminar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em metanol água. Antes de iniciar foi preparado o reagente DPPH a partir da pesagem de 2,4 mg desse reagente para 100 mL de metanol, os quais foram submetidos ao ultrassom para que todas as partículas fossem diluídas. Com o reagente pronto, em um tubo de ensaio fundo redondo adicionou-se 500 µL da amostra e 3500 µL da solução de DPPH. Os tubos foram agitados em um agitador do tipo vórtex e deixados em repouso ao abrigo de luz por 30 minutos. Após isso, realizaram-se as leituras a 517 nm em um espectrofotômetro Visível UV – Genesys 10 UV modelo Thermo Spectronic. A leitura do branco (autozero) foi realizada com metanol água (MeOH – 80:20) e as leituras das

amostras procederam-se em “cuvettes” de quartzo de percurso óptico de 1 cm, o qual foi lavado após troca de amostras com metanol.

Os resultados obtidos foram expressos em % de inibição, a partir da expressão:

$$\% \text{ Inibição} = \frac{A_b - A_a}{A_b} \times 100$$

Sendo:

$A_b$  – Absorbância lida para o branco;

$A_a$  – Absorbância lida a 517 nm da amostra;

### 3.3.7. Análise estatística

Aplicou-se a análise de variância one-way (one-way ANOVA) para avaliar a existência de efeitos estatisticamente significativos do comportamento dos azeites monovarietais da cv. Santulhana nos períodos de 3 e 12 meses após extração na composição físico-química destes quanto a qualidade (acidez, índice de peróxidos e coeficientes de extinção), teores de clorofila, carotenoides, cor e atividade oxidante (DPPH e fenóis totais). Os resultados foram dados em Boxplot, exceto para os parâmetros de qualidade e cor. As possíveis influências dos diferentes períodos no comportamento dos azeites, quanto as suas características sensoriais e físico-químicas, foram avaliadas usando a análise de componentes principais (PCA-Biplot). As análises estatísticas procederam-se no software livre RStudio (versão 3.6.2).

# **Capítulo 4**

## **Resultados e discussões**

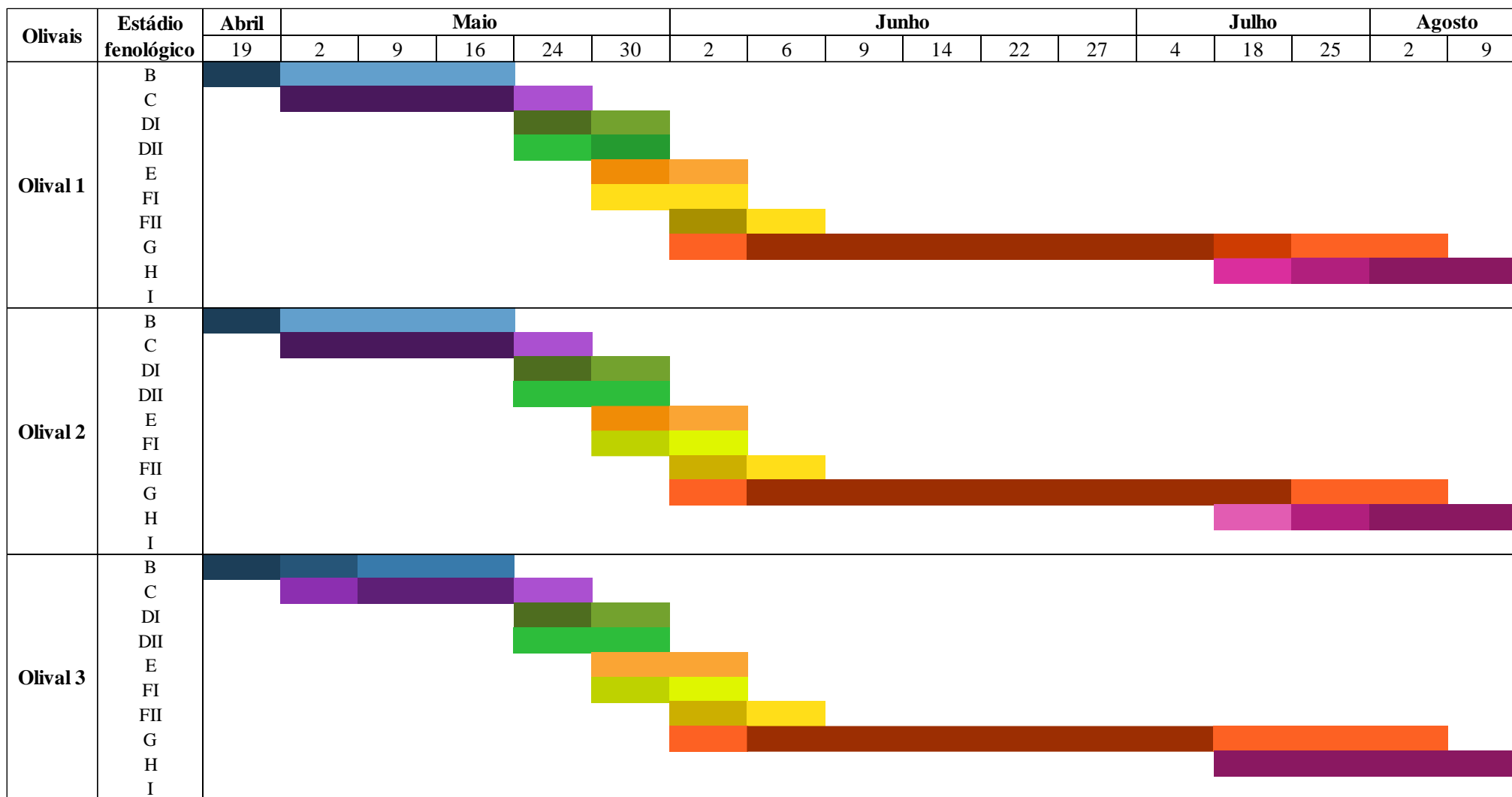
## **4. Resultados e discussão**

### **4.1. Ensaio de campo**

#### 4.1.1. Avaliação fenológica

O acompanhamento foi realizado em 15 oliveiras no total, sendo 5 em cada olival. Os resultados obtidos caracterizam o período de ocorrência e a duração de cada estágio da oliveira da cv. Santulhana nos diferentes olivais estudados (Figura 15). Com base na análise dos resultados, no início do acompanhamento (19 de abril) as oliveiras se encontravam no estágio de início da atividade vegetativa (B). Esse estágio teve uma duração de 27 dias em todos os olivais acompanhados. Além disso, 13 dias após a brotação das gemas (B) iniciou-se o aparecimento dos botões florais (C). Dessa forma no mês de abril e início de maio procedeu-se o desenvolvimento inicial das oliveiras justificado devido ao alcance de temperaturas suficientes para quebrar a dormência das árvores. Nota-se que o desenvolvimento inicial foi semelhante nos olivais, mesmo que o O3 tenha sido um pouco mais tardio o fim do estágio B. Junto os estádios de brotação das gemas e surgimento dos botões florais totalizaram 36 dias de ocorrência, quando as oliveiras começaram a utilizar suas reservas energéticas para a produção da safra de 2022/23.

A partir dos estádios B e C, os demais possuem uma duração mais curta. Como exemplo, os dois próximos estádios, formação da corola (DI) e sua mudança de cor (DII). Esses dois estádios possuíram desenvolvimento semelhante nos olivais entre o período de 24 a 30 de maio (6 dias). Sua duração foi curta, e o estágio DI foi mais marcante visualmente do que o estágio DII que teve pouca porcentagem de ocorrência nos olivais, em comparação com o estágio anterior. Já o estágio de aparecimento dos estames (E) ocorreu no período de 30 de maio a 2 de junho (3 dias). Esse estágio foi extremamente curto e pouco marcante visualmente, visto que a maior porcentagem de ocorrência foi no O1 com 40%. Tal acontecimento pode ser explicado devido a maiores temperaturas nesse período. Evidencia-se também que a floração iniciou no mesmo período e com a mesma duração.



Est. Fen.	Porcentagem de ocorrência			
B	0-25	26-50	51-75	76-100
C	0-25	26-50	51-75	76-100
DI	0-25	26-50	51-75	76-100
DII	0-25	26-50	51-75	76-100
E	0-25	26-50	51-75	76-100
FI	0-25	26-50	51-75	76-100
FII	0-25	26-50	51-75	76-100
G	0-25	26-50	51-75	76-100
H	0-25	26-50	51-75	76-100
I	0-25	26-50	51-75	76-100

**Figura 15** - Evolução fenológica das árvores da cv. Santulhana realizado desde abril até agosto de 2022 nos olivais acompanhados durante o estudo.

No estágio FI os O2 e O3 tiveram maior porcentagem de ocorrência que o O1. Tal acontecimento pode ser justificado devido a 40% dos botões florais no O1 terem permanecido com maior porcentagem de ocorrência no estágio anterior.

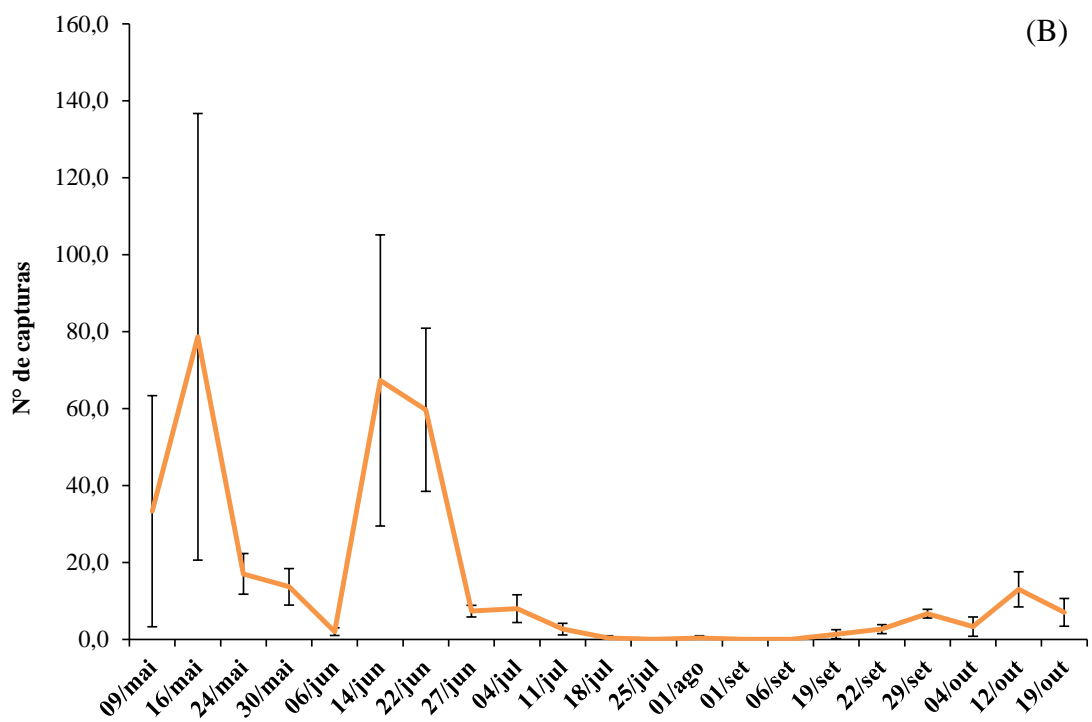
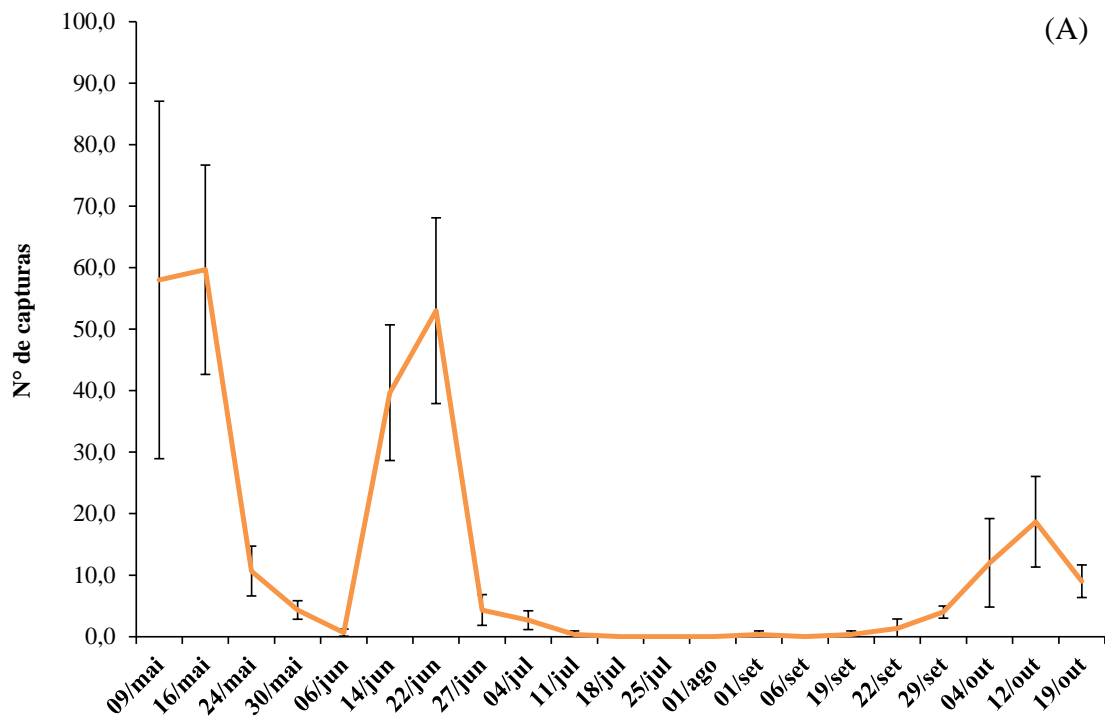
Quanto a plena floração (FII), esse estágio iniciou-se no dia 2 de junho com uma duração de 4 dias. O desenvolvimento desse estágio nos 3 olivais foi semelhante com destaque para o O1 que apresentou maior porcentagem de ocorrência do que os demais. Diferente do estágio FI, o estágio FII foi mais marcante visualmente com a maior porcentagem de ocorrência. Contabilizando o estágio FI e FII, o período de floração das oliveiras teve uma duração total de 7 dias em todos os olivais. Mesmo resultado foi obtido por Benlloch-González *et al.* (2018), em que a cv. Picual teve uma duração total de floração de 7 dias na região de Córdoba, Espanha. Entretanto, o início da floração teve uma duração de 5 dias e a plena floração de 2 dias, sendo que essa região típica de temperaturas mais elevadas que a região de estudo. Esse estágio fenológico é decisivo para a produção final, pois é nesse momento que a temperatura influencia na qualidade das flores e no vingamento que resultará na formação do fruto. Após a floração inicia-se a formação dos frutos (G), em que as flores fertilizadas dão origem as azeitonas. No início de junho já era possível observar algumas inflorescências fecundadas, mas a maior porcentagem de ocorrência foi observada no dia 6 de junho nos 3 olivais. A partir dessa data, somente no dia 18 de julho que foi possível observar o início da lignificação do endocarpo (H). O estágio de formação dos frutos teve início no dia 2 de junho e terminou no dia 25 de julho no O3, já nos olivais 1 e 2 no dia 2 de agosto. Sendo assim, esse estágio teve duração de 53 dias no O3 e 61 dias nos O1 e O2. Após a formação dos frutos observou-se a lignificação do endocarpo (H), o qual teve início no dia 18 de julho. Nesse estágio, o O3 teve início 7 dias mais cedo do que os demais olivais com 80% de ocorrência. Os O1 e O2 obtiveram valores de ocorrência maiores que 80% somente a partir do dia 2 de agosto, devido a ter permanecido mais tempo no estágio anterior. Daí em diante, os olivais foram acompanhados até o dia 4 de outubro em que os frutos se encontravam no estágio H.

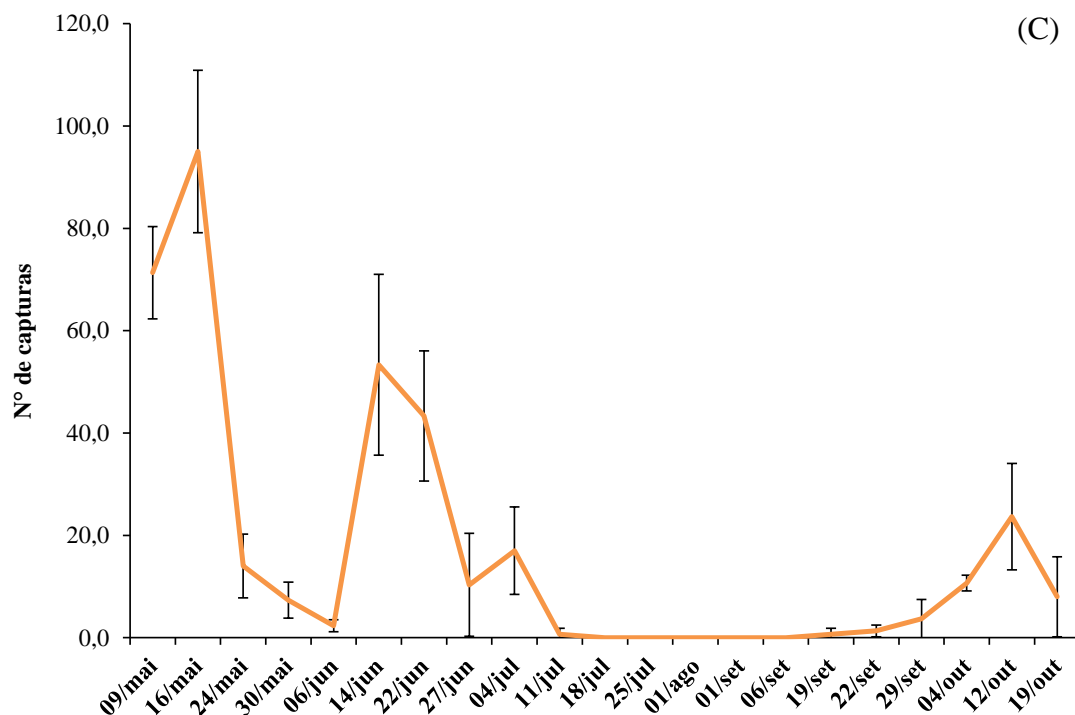
Em locais com temperaturas mais elevadas esse estágio ocorre pelo menos com um mês de antecedência, como relatado por Siakou *et al.* (2022) em que o endurecimento teve início no mês de junho para a cv. Koroneiki. Sendo assim, a duração de dias de cada

estádio e o momento de acontecimento de cada é totalmente influenciado pelas condições climáticas (Mairech *et al.*, 2021; Siakou *et al.*, 2022).

#### 4.1.2. Incidência da traça-da-oliveira

Para o O1, foram capturadas 837 mariposas no período de maio a novembro, representando uma média de aproximadamente 13 mariposas/armadilha. As maiores densidades foram registradas em 3 períodos distintos, sendo uma no mês de maio, outra no mês de junho e a terceira no mês de outubro (Figura 16). No mês de maio, o pico registrado ocorreu nos dias 9 e 16 com uma captura total de 353 mariposas. Já o segundo maior registro de densidade populacional, foi nos dias 14 e 22 do mês de junho quando foram capturadas 278 mariposas. O terceiro pico ocorreu no período do dia 4 ao dia 12 de outubro quando se verificou uma captura de 92 mariposas. Na análise dos registros do O2, em todo o acompanhamento foram capturados no total 973 traças representando um valor médio de aproximadamente 15 traças/armadilha. Verificou-se também que no segundo olival o valor total de captura e a média por armadilha foram maiores que os resultados registrados no O1. Foram registrados 3 momentos em que houve maior densidade populacional, sendo eles no mês de maio, junho e outubro (Figura 16). No mês de maio, o pico populacional foi registrado nos dias 9 e 16 quando houve o registro de 336 traças capturadas. Já no mês de junho nos dias 14 e 22 foi registrado o maior pico nesse olival com uma captura total de 381 traças. E o último pico foi registrado no dia 12 de outubro com um total de 81 traças.





**Figura 16** - Registro do número de capturas da traça-da-oliveira durante os períodos de maio a novembro nos olivais acompanhados: Macedo do Mato (A); Izeda (B); Santulhão (C).

Já no O3, foram capturados 1.088 traças no total com uma média de aproximadamente 17 traças/armadilha. Os maiores registros de indivíduos ocorreram em períodos dos meses de maio, junho, julho e outubro (Figura 16). De modo que no mês de maio o pico de densidade populacional ocorreu nos dias 9 e 16 com uma captura total de 499 traças. No mês de junho foi registrado o segundo maior pico nesse olival com registro nos dias 14 e 22, sendo a captura total foi de 290 traças. Os dois demais picos tiveram menores capturas, sendo eles registrados nos dias 4 de julho e 12 de outubro com capturas totais de 51 e 71 indivíduos, respectivamente.

Portanto, em todo o acompanhamento foram capturados no total 2.898 traças com uma média de captura de aproximadamente 15 mariposas/armadilha. O O3 se destacou com maior número de capturas, em contrapartida, o O1 registrou menor incidência dessa praga (Figura 16). Os períodos de maiores registros (maio, junho e outubro) representam 81,95% das capturas com um total de 2.375 traças. Ainda cima, no início do mês de maio foi capturado a maior quantidade desse inseto com um total de 1.188 traças, e a menor incidência ocorreu entre os períodos de 12 e 19 de outubro com uma captura total de 238 traças.

Nos 3 olivais foi possível observar os mesmos períodos de maior incidência dessa praga (maio, junho e outubro), sendo possível supor sobre a ocorrência das gerações filófaga, antófaga e carpófaga.

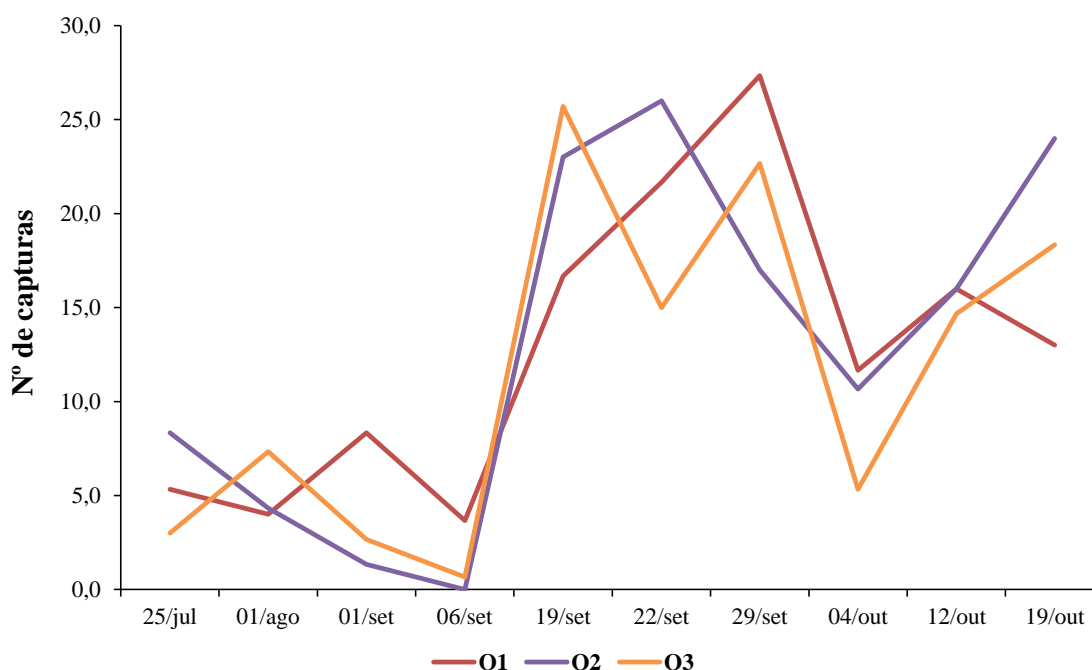
Analisando com os estádios fenológicos todos os máximos registrados ocorreram nos períodos de aparecimento dos botões florais (maio), formação dos frutos (junho e julho) e lignificação do caroço (a partir de julho). Momentos os quais são definitivos para a determinação da produção. Deste modo, pode-se observar que a geração filófaga, a qual surge no ano anterior, após o aumento das temperaturas resultou em adultos nos meses de maio os quais estavam hábeis para a postura de ovos nos botões florais. Assim sendo, houve o surgimento da geração antófaga responsável pelo pico registrado no mês de junho após 15 primeiros dias do mês. Finalizando, os últimos registros ocorreram nos meses de outubro e novembro com adultos hábeis para a postura nos frutos formados, sendo estes a geração carpófaga proveniente da geração antófaga. Sendo este o fim do ciclo anual da traça-da-oliveira que recomeça com a postura de ovos da geração carpófaga, a qual resultará em adultos no próximo ano. Logo, com os resultados obtidos pode-se inferir que as maiores populações registradas foram da geração antófaga.

Os resultados do presente estudo tiveram discrepância com os resultados registrados por Rodrigues *et al.* (2019b) na ocorrência das gerações. Seus estudos realizados em Viseu verificaram a incidência da geração antófaga entre meados de março e junho, da geração carpófaga entre maio e julho e a filófaga entre julho e final de setembro. Já segundo Gómez-Guzmán *et al.* (2022), no sul de Portugal a geração antófaga no ano de 2021 foi registada entre junho e julho durante o estágio de formação dos frutos. Evidencia-se que os locais de estudos dos autores Rodrigues *et al.* (2019b) e Gómez-Guzmán *et al.* (2022) possuem temperaturas mais elevadas do que a região de Trás-os-Montes. Quanto aos resultados obtidos por Molina de la Rosa (2010) e os resultados obtidos no presente estudo houve semelhança quanto a ocorrência das gerações.

#### 4.1.3. Incidência da mosca-da-azeitona

A contabilização dos indivíduos ocorreu de forma singular em que os machos e fêmeas foram distinguidos apenas para o discernimento dos resultados registrados, afim de determinar as populações de cada de acordo com o momento de captura. Após instalação das armadilhas, as capturas foram contabilizadas a partir do período de 25 de julho a 19 de novembro. Durante todo o acompanhamento de campo, foram capturadas

no total 1.123 moscas com uma média de 12 moscas/armadilha. O O2 registrou a maior incidência desse inseto com um total de 392 capturas, e o O3 a menor incidência com um total de 345 capturas. Além disso, na Figura 17 observa-se que em dois momentos houve concordância entre os olivais quanto ao maior registro de densidade populacional. Esses registros ocorreram no primeiro momento entre o período de 19 a 29 de setembro, e no segundo momento entre 12 a 19 de outubro. Comparando com a fenologia, as oliveiras encontravam-se em avanço na lignificação do caroço, confirmando a preferência desse inseto para o ataque durante esse estágio fenológico, conforme apontado por Gonçalves *et al.* (2007).



**Figura 17** - Registro do número total de capturas da mosca-da-azeitona durante dos meses de julho a novembro.

Vale ressaltar que a maior densidade populacional registada nos olivais foi durante o mês de setembro entrando assim em discordância com os resultados obtidos por Malheiro *et al.* (2016) e Paredes *et al.* (2023), cujas maiores capturas ocorreram no mês de outubro com as azeitonas em elevados índices de maturação. Entretanto, Malheiro *et al.* (2016) evidenciaram que em setembro houve o início do aumento da densidade populacional, mas não foi o maior pico registrado durante seus estudos.

Há pesquisas que identifiquem a maior densidade populacional durante a primavera, quando os adultos migram entre os olivais, ainda que sem a presença de frutos formados. Mas do ponto de vista agrônomo e econômico, a densidade populacional

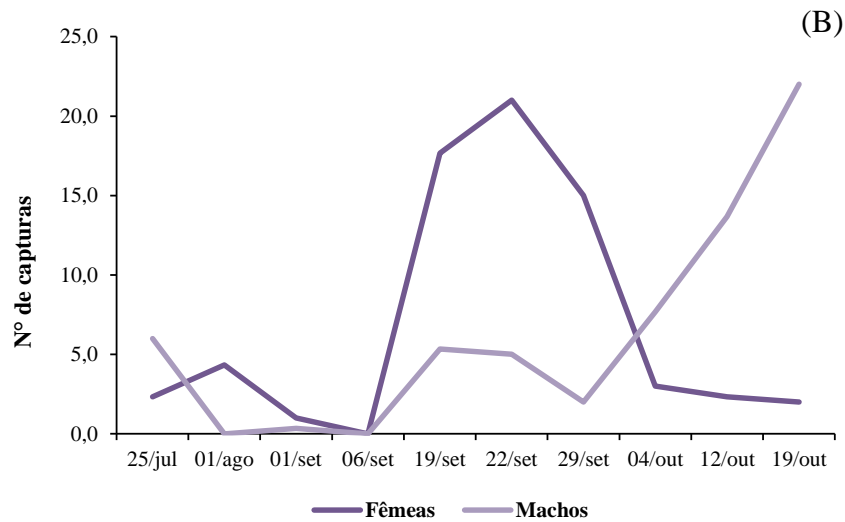
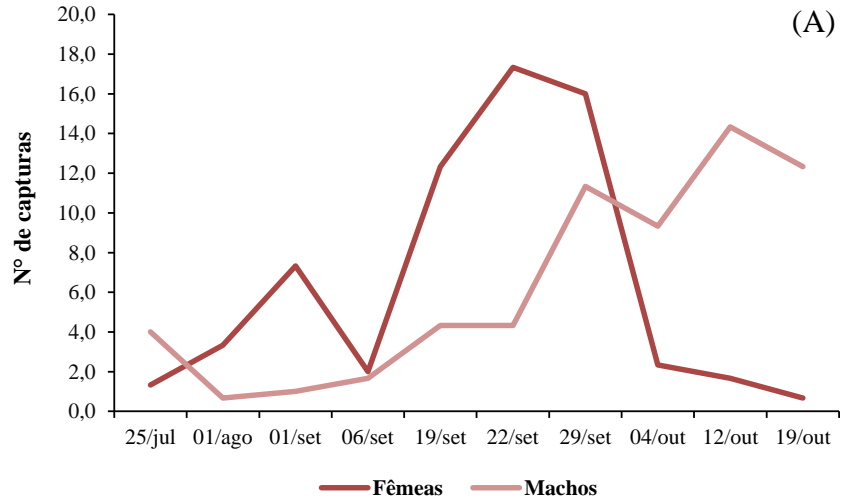
desses insetos é mais preocupante a partir da formação dos frutos devido à picada para oviposição, justificando dessa forma o porquê da instalação das armadilhas após julho. Ortega *et al.* (2021) apontam que há grande movimentação desses insetos durante o outono devido à procura desses por comida e frutos para a oviposição. Além disso, Marchini *et al.* (2017) confirma que é nesse momento que as fêmeas são fertilizadas, justificando também a maior atividade das moscas nos olivais. O presente estudo têm conformidade com os resultados obtidos por Marchini *et al.* (2017) e Ortega *et al.* (2021), pois o maior registro de densidade populacional ocorreu nessa estação do ano onde os maiores picos (setembro e outubro) totalizaram uma captura de 891 moscas representando quase 79% do total.

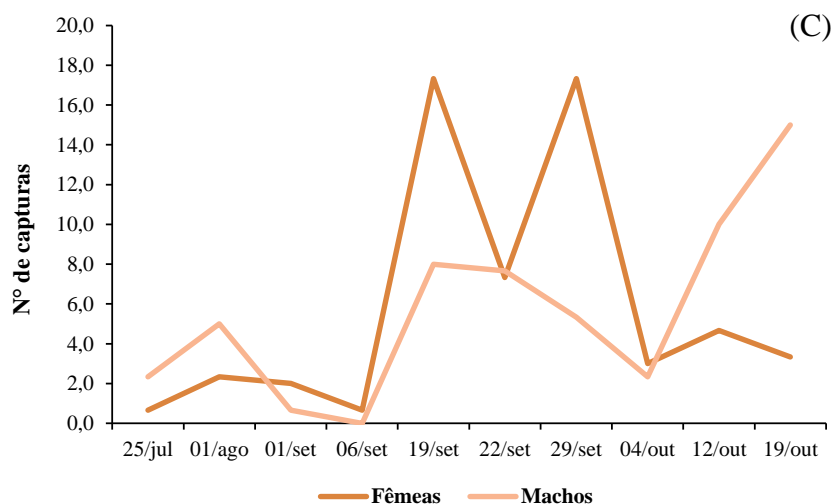
Conforme ilustrado na Figura 18, o maior pico registrado no período de 19 a 29 de setembro se deu principalmente devido à captura de fêmeas. De modo que nesse momento do total de 585 moscas capturadas nos olivais, 424 eram fêmeas representando 72,60% dos registros nesse momento. Fato que indica novamente a correspondência com os resultados obtidos por Marchini *et al.* (2017) e Ortega *et al.* (2021). Nesse mesmo período foram capturados 160 machos no total, o que pode evidenciar uma baixa densidade em comparação com a quantidade de fêmeas. A baixa densidade populacional de machos no momento de acasalamento não interfere na fertilização das fêmeas, como discutido por Rossini *et al.* (2022) devido a estes apresentarem a capacidade de acasalar diariamente quando atingido maturidade sexual. Desse modo, basta uma grande incidência de fêmeas para garantir a próxima geração de moscas, fato o qual foi observado.

Observa-se ainda que a partir do dia 12 de outubro a captura de machos aumentou enquanto a de fêmeas diminuiu (Figura 18). Além disso, a partir dessa data houve um aumento contínuo de macho até o último dia de registro no dia 19 de novembro. Esse acontecimento também foi registrado no ano de 2021 no estudo realizado por Rossini *et al.* (2022) em um olival na Itália.

Diferente do acompanhamento populacional da traça-da-oliveira, o da mosca-da-azeitona não nos permite suposições sobre as gerações anteriores ao outono. Uma vez que, a instalação das armadilhas foi feita no final do mês de julho, havendo apenas o acompanhamento durante o final do verão e da estação completa do outono. Pode-se ter observado nesse estudo durante as capturas no outono, a terceira geração da mosca devido

ao alto crescimento populacional nesse período. Tal acontecimento também ocorreu nos estudos de Martínez-Pertíñez & Medina Vélez (2020). Entretanto, o acompanhamento dessa praga não avaliou os danos ocasionados aos frutos e nem outros fatores determinantes para a descrição de gerações.





**Figura 18** - Comparação entre a captura de machos e fêmeas da mosca-da-azeitona nos olivais acompanhados durante o período de julho a outubro: Macedo do Mato (A); Izedã (B); Santulhana (C).

## 4.2. Ensaio de laboratório

### 4.2.1. Parâmetros de qualidade

No sentido de proceder à determinação da qualidade dos azeites da cv. Santulhana, foram determinados os parâmetros de qualidade em duas épocas distintas, sendo elas 3 meses (março) e 12 meses (dezembro) após extração. Os indicadores de qualidade são determinados Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022, o qual permite por meio desse definir as características físico-químicas e organolépticas dos azeites. Desse modo, a análise dos indicadores de qualidade procedeu-se a partir da determinação da acidez, índice de peróxidos (IP), coeficientes de extinção em 232 e 268 nm ( $K_{232}$  e  $K_{268}$ ) e análise sensorial (Tabela 2). Os resultados da análise sensorial serão abordados no próximo tópico.

Quanto aos limites legais estabelecidos pelo Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022 para a classificação comercial dos azeites, a categoria de máxima qualidade é a virgem extra. Nessa categoria os níveis de acidez devem ser  $\leq 0,8$  %, do índice de peróxidos  $\leq 20$  mEq.O<sub>2</sub>/kg, do coeficiente de extinção  $K_{232} \leq 2,50$  e do coeficiente de extinção  $K_{268} \leq 0,22$ . Dessa forma, valores maiores que esses limites se enquadram nas demais categorias de menor qualidade: virgem e lampante.

**Tabela 2** - Valores máximos, mínimos, médios e desvio padrão dos parâmetros de qualidade avaliados através da acidez (%), índice de peróxidos (mEq.O<sub>2</sub>/kg) e

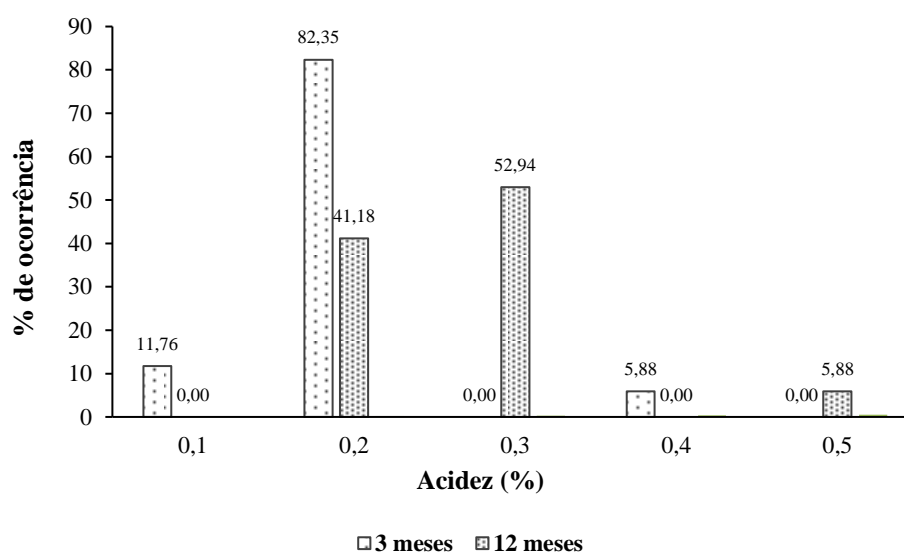
coeficientes de extinção ( $K_{232}$  e  $K_{268}$ ) obtidos dos azeites da cv. Santulhana na safra 2022/23.

<b>Parâmetros de Qualidade</b>	<b>3 meses</b>	<b>12 meses</b>	<b>Valor – p</b>
<b>Acidez total (%)</b>	0,19 ± 0,00b (0,11 – 0,37)	0,25 ± 0,00 a (0,19 – 0,47)	***
<b>IP (mEq.O<sub>2</sub>/kg)</b>	4,5 ± 0,07 b (1,66 – 17,02)	8,3 ± 0,21 a (3,32 – 17,81)	***
<b>K<sub>232</sub></b>	1,82 ± 0,08 b (1,56 – 2,03)	2,28 ± 0,05 a (2,08 – 2,82)	***
<b>K<sub>268</sub></b>	0,14 ± 0,01 b (0,12 – 0,16)	0,17 ± 0,01 a (0,15 – 0,25)	***

\*\*\* Significância em  $p < 0,001$ .

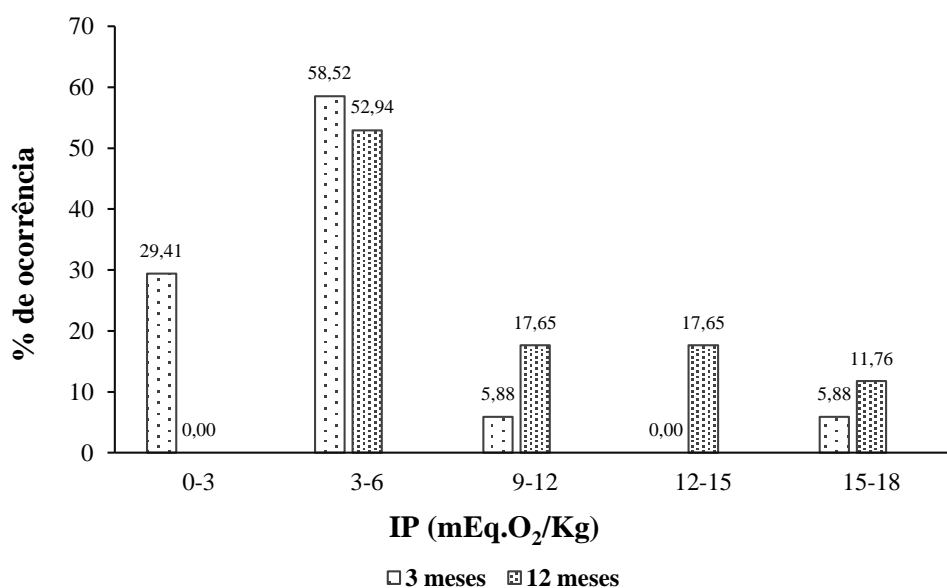
Os resultados obtidos da acidez mostram a significância nos diferentes períodos após a extração dos azeites. Nos diferentes momentos avaliados obtiveram diferenças significativas ( $p < 0,001$ ). Este parâmetro na primeira análise (3 meses) variou de 0,11% a 0,37% apresentando uma média de 0,19% de ácido oleico. Já na análise 12 meses após a extração a acidez variou de 0,19% a 0,47% apresentando uma média de 0,25% de ácido oleico. A partir da Figura 19 pode-se observar que a distribuição da porcentagem de ocorrência, quanto aos valores de acidez apontados nas duas análises, mantiveram-se em valores menores a 0,8% estabelecido pelo regulamento europeu. Desse modo, até então as amostras avaliadas nos dois diferentes momentos enquadram-se na classificação comercial de azeite virgem extra.

Constata-se que 88,2% dos azeites em estudo, apresentaram valores nos intervalos de 0,2 e 0,3%, nos dois períodos (Figura 19). Valores semelhantes foram apontados pelos autores Rodrigues *et al.* (2020), os quais em seus estudos com os azeites de árvores centenárias (nordeste de Portugal) das cvs. Lentisca, Madural, Rebolã, Redondal, Verdeal e Verdeal Transmontana também foi registrado a baixa acidez livre de 0,2 a 0,3%. O trabalho apresentado por Marx *et al.* (2022) também obteve resultados de baixa acidez em seus estudos com azeites monovarietais da cv. Arbequina produzidos na região transmontana, os quais apresentaram valor médio de 0,31%.



**Figura 19** - Porcentagem de ocorrência da acidez total nos períodos de 3 e 12 meses após extração.

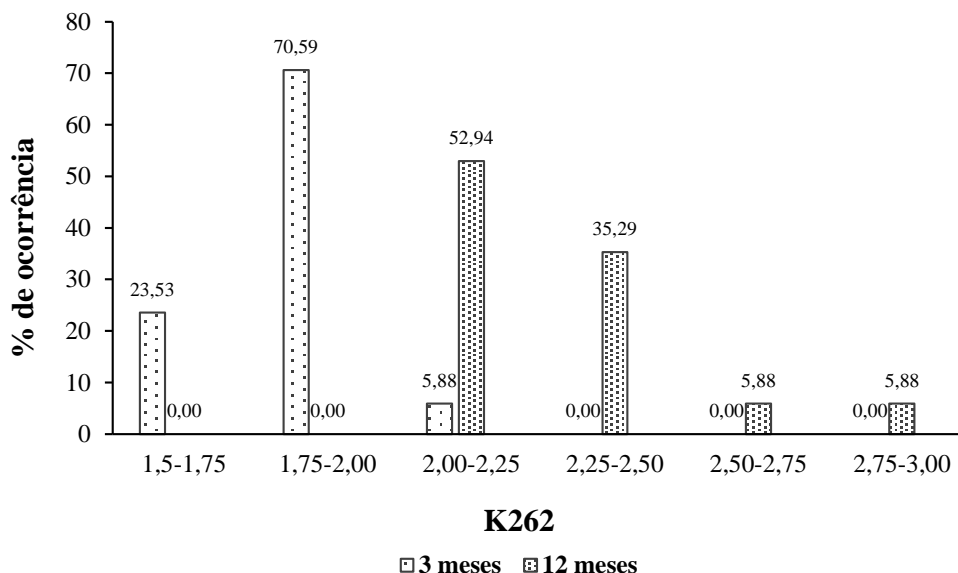
Quanto ao índice de peróxidos, as análises estatísticas apontaram diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os períodos de 3 e 12 meses após a extração. Esse índice mede a concentração de hidroperóxidos avaliando a deterioração oxidativa de óleos (Paulo *et al.*, 2023). Na primeira análise esse índice variou de 1,66 a 17,02 mEq.O<sub>2</sub>/kg, possuindo valor médio de 4,49 mEq.O<sub>2</sub>/kg. Já na análise de dezembro os resultados variaram de 3,32 a 17,81 mEq.O<sub>2</sub>/kg apresentando um valor médio de 8,25 mEq.O<sub>2</sub>/kg. Nos dois períodos da análise, os azeites permaneceram com valores inferiores ao limite ( $\leq 20$  mEq.O<sub>2</sub>/kg) estabelecido pelo regulamento europeu para a categoria de virgem extra. A distribuição percentual das amostras permite-nos observar que nos dois momentos avaliados estes não registraram valores próximos ao limite regulamentado (Figura 20). Além disso, os azeites analisados permaneceram com maior porcentagem de ocorrência entre os teores de 3 e 6 mEq.O<sub>2</sub>/kg, nos dois momentos avaliados. O mesmo foi observado pelos autores Rodrigues *et al.* (2020) com teores que variaram de 3 a 5,2 mEq.O<sub>2</sub>/kg para os azeites das cvs. Lentisca, Madural, Rebolã, Redondal, Verdeal e Verdeal Transmontana. Outros estudos em diferentes regiões geográficas apontaram maiores resultados para esse índice com valores médios superiores a 8 mEq.O<sub>2</sub>/kg (Chéu-Guedes *et al.*, 2023; Sicari *et al.*, 2021).



**Figura 20** - Porcentagem de ocorrência do índice de peróxidos nos períodos de 3 e 12 meses após extração.

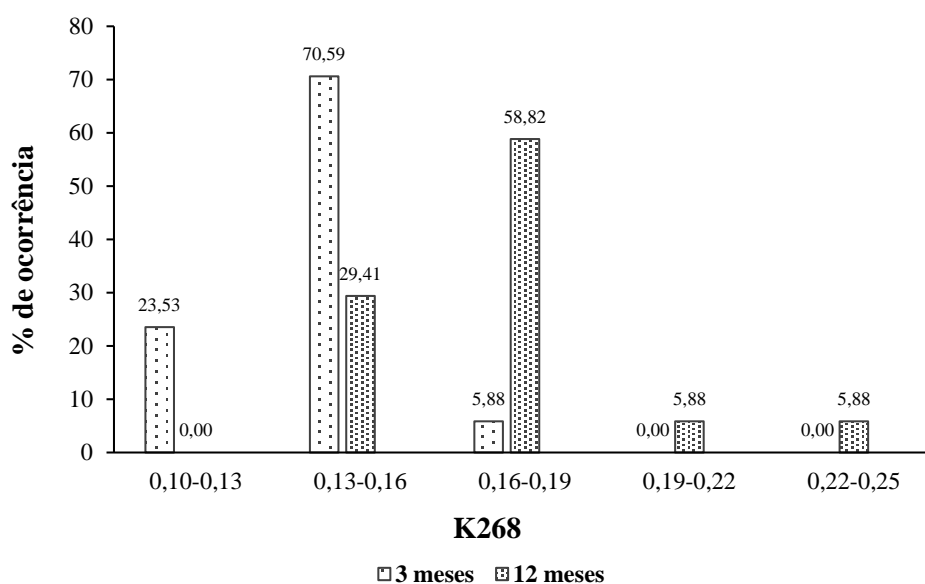
Em relação aos coeficientes de extinção, foi apontado diferença significativa ( $p < 0,001$ ) quantos aos resultados obtidos nos dois períodos avaliados (Tabela 2). Os resultados obtidos pela espectrofotometria a 232 nm variaram de 1,56 a 2,03 com uma média das amostras de 1,82, após os 3 meses da extração dos azeites. Já na segunda análise, os resultados variaram de 2,08 a 2,82 com um valor médio de 2,28. Diante da distribuição dos azeites em relação as absorvâncias lidas, observa-se que 11,76% das amostras ultrapassaram o limite legal ( $\leq 2,50$ ) com valores superiores a 2,50 nas análises após 12 meses de extração dos azeites (Figura 21). Desse modo, 88,24% das amostras mantiveram sua qualidade e classificação quanto azeite virgem extra, 5,88% perderam essa qualidade se enquadrando na categoria de azeite virgem ( $\leq 2,60$ ) e outros 5,88% como lampante ( $> 2,60$ ). Esse coeficiente de extinção mede a oxidação primária dos azeites complementando os resultados obtidos nos índices de peróxidos. Deste modo, mesmo com os resultados obtidos pelos índices de peróxidos permanecerem entre os limites para a categoria de azeite virgem extra, a medição da oxidação primária dos azeites monovarietais da cv. Santulhana apresentou o aumento da oxidação em duas amostras. O mesmo acontecimento foi relatado por Chéu-Guedes *et al.* (2023) nos seus estudos com azeites monovarietais da cv. Madural, onde com o passar do tempo o coeficiente de extinção  $K_{232}$  aumentou. Entretanto, os azeites da cv. Madural apresentaram maiores

potenciais oxidativos de modo que mesmo com o aumento, os azeites mantiveram-se no limite regulamentado ( $\leq 2,50$ ).



**Figura 21** - Porcentagem de ocorrência nos períodos de 3 e 12 meses após extração para os valores obtidos de  $K_{232}$ .

Assim como no coeficiente de extinção  $K_{232}$ , houve diferença significativa ( $p < 0,001$ ), quantos aos resultados obtidos nos dois períodos avaliados para a absorvância lida a 268 nm (Tabela 2). Três meses após extração, os azeites resultaram em variações de 0,12 a 0,16 apresentando um valor médio de 0,14. Já no mês de dezembro os valores variaram de 0,15 a 0,25 com um valor médio de 0,17. Na Figura 22, a análise da distribuição das amostras em porcentagem de ocorrência mostra que após passados 12 meses da extração dos azeites, 5,88% das amostras ultrapassaram o limite estabelecido pelo regulamento para a categoria de virgem extra e uma amostra se aproximou com um valor de 0,21. Portanto, 94,12% das amostras mantiveram suas qualidades, do ponto de vista químico, permanecendo na categoria de azeite virgem extra e apenas 5,88% ( $\leq 0,22$ ) desceu para a categoria de azeite virgem ( $\leq 0,25$ ). Assim como para o coeficiente de extinção  $K_{232}$ , Chéu-Guedes *et al.* (2023) relata o aumento deste ao longo do tempo. Mas mesmo assim, os azeites monovarietais da cv. Madural conservaram seus teores abaixo o limite do regulamento europeu para a máxima qualidade do azeite.



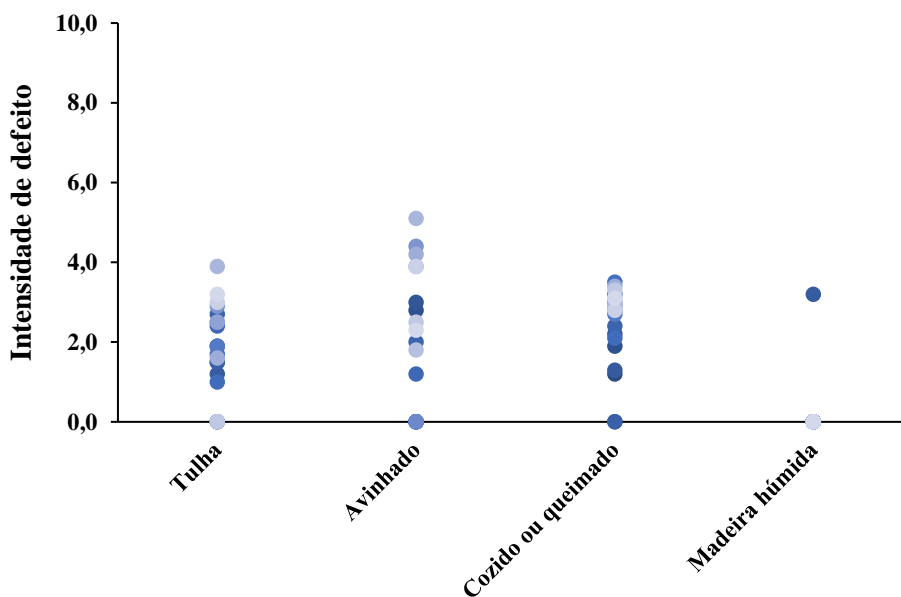
**Figura 22** - Porcentagem de ocorrência nos períodos de 3 e 12 meses após extração para os valores obtidos de  $K_{268}$ .

#### 4.2.1.1. Análise sensorial

Assim como os demais índices de qualidade, os resultados obtidos nas análises sensoriais nos permitem classificar os azeites conforme o Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022. Esse regulamento determina que para a classificação em máxima categoria de qualidade, os azeites não podem apresentar defeitos sensoriais e devem possuir média para frutado superior a zero ( $Md > 0$ ). Dito isso, foi feita a classificação comercial dos azeites para verificar a presença ou ausência de atributos negativos. Nos azeites sem atributos negativos, foi feita a descrição do perfil nomeadamente dos atributos olfativos e gustativos percebidos. Deste modo, os resultados registrados foram determinados a partir de uma escala de 0 (nenhuma sensação sensorial percebida) a 10 (intensidade máxima de sensação sensorial percebida), quanto a intensidade de seus atributos de modo a caracterizar os azeites monovarietais da cv. Santulhana. Para a análise sensorial do estudo foram avaliadas 17 amostras nos períodos de 3 e 12 meses após a extração, onde as amostras identificadas com defeitos foram analisadas apenas no período de 3 meses após a extração.

Quanto ao registro de defeitos sensoriais, 58,8% das amostras apresentaram defeitos como tulha, avinhado, madeira úmida e cozido ou queimado (Figura 23). O defeito que predominou foi o cozido/queimado, em que todas amostras apontadas com defeito apresentaram este, com um valor médio de 2,4 de intensidade numa escala de 0 a

10. Esse defeito acontece devido a condições térmicas inadequadas durante o processo de obtenção dos azeites, as quais aquecem excessivamente e/ou batimento da pasta excessivo. O segundo maior defeito detectado foi tulha, onde 8 amostras o apresentaram com um valor médio de 1,8 de intensidade. Defeito o qual acontece devido ao amontoamento das azeitonas antes do processo de extração ocasionando na fermentação anaeróbia destes. Em terceira ordem de incidência, o defeito de avinhado esteve presente em 6 amostras com um valor médio de 1,9 de intensidade. O defeito de avinhado é percebido nos azeites devido a apresentarem sensações de semelhança com vinho ou vinagre. Além disso, o causador desse defeito é a demora do processamento das azeitonas favorecendo o acontecimento de fermentação acética. A menor incidência foi da percepção do defeito de madeira úmida, a qual de 10 amostras apenas 1 o apresentou. A derivação de azeites com sensações de madeira úmida é ocasionada devido à extração do azeite a partir de azeitonas que sofreram com episódios de geadas (congelamento).



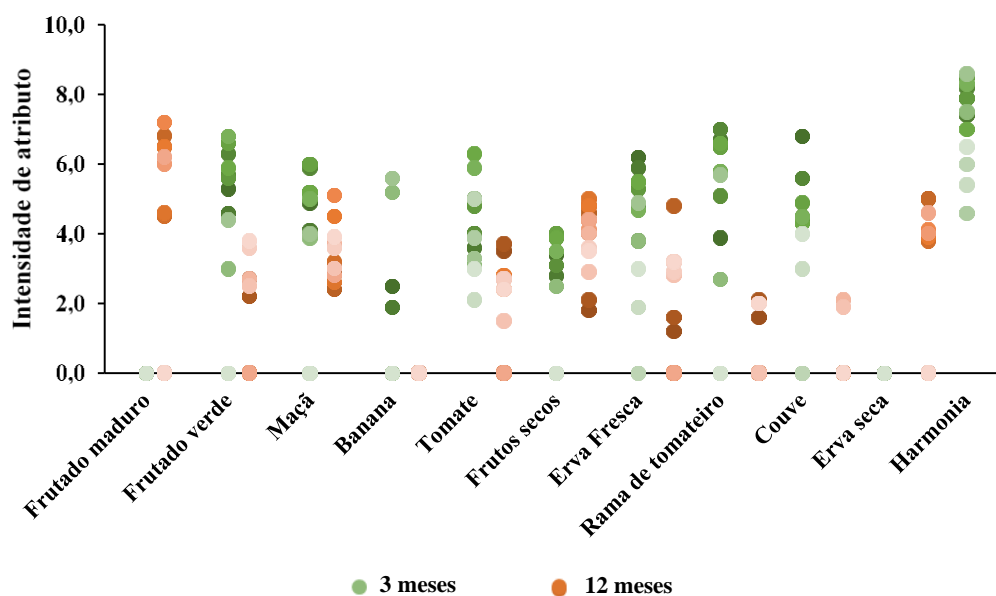
**Figura 23** - Principais defeitos encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana.

Ainda segundo o regulamento, esse permite-nos classificar como azeite virgem amostras que apresentem média de defeitos menores que 3,5 de intensidade, e quanto a valores superiores esses são classificados como lampantes. O cozido ou queimado, defeito que mais predominou entre as amostras, obteve valores que variaram de 0,7 a 3,2 de intensidade. Já para o defeito de tulha, as intensidades variaram de 0,0 a 3,1. Com terceira maior predominância, o defeito de avinhado obteve resultados que variaram de 0,0 a 4,7. Nesse defeito foi possível observar que duas amostras ultrapassaram o limite

legal estabelecido pelo regulamento, de modo que permitiu classificá-las como lampante ( $Md \geq 3,5$ ). Já para o defeito de madeira úmida, o qual foi detectado em apenas uma amostra, o valor obtido foi de 1,6 de intensidade. Dito isso, de 10 amostras as quais foram identificados defeitos sensoriais, 8 podem ser classificados como azeite virgem ( $Md \leq 3,5$ ) e 2 amostras diminuíram sua qualidade sendo classificadas como lampante. Já quanto a classificação de azeite virgem extra, 7 amostras apresentaram uma média de frutados superior a 2,0 sem a presença de defeitos tanto no período de março quanto de dezembro.

Em relação ao perfil olfativo dos azeites da cv. Santulhana, seus atributos diferiram devido à ausência da percepção herbácea de folha de oliveira (Figura 24). Na análise realizada 3 meses após a extração, os azeites tinham notas de frutado verde em todas as amostras com um valor médio de 3,9. Os demais atributos detectados por ordem de predominância nas amostras foram tomate (4,2), erva fresca (4,0), rama de tomateiro (4,0), maçã (3,6), couve (3,3), frutos secos (2,2) e banana (1,1). A maior predominância registrada foi de notas de tomate, a qual esteve presente em todas as amostras e a de menor ocorrência foi a de notas de banana, em que apenas 2 amostras a apresentaram.

Nas análises realizadas 12 meses após extração, os azeites apresentaram notas de frutado verde e maduro em seu perfil olfativo, assim como no gustativo. De modo que o frutado maduro se sobrepôs ao frutado verde com uma intensidade média de 3,5 enquanto para o frutado verde foi de 1,3. Seguindo a ordem de predominância, os atributos apontados foram frutos secos (3,9), maçã (3,3), erva seca (1,4), tomate (1,6), erva fresca (1,4), rama de tomateiro (0,6) e couve (0,3). A maior predominância ocorreu para o atributo de frutos secos, o qual esteve presente em todas as amostras. Nota-se que os atributos olfativos de tomate, erva fresca e rama de tomateiro diminuíram após passados 9 meses em que ficaram armazenados, o mesmo foi relatado por Rodrigues *et al.* (2018) para os azeites da cv. Arbequina. Entretanto, diferente do retratado pelos autores, no presente estudo as notas de maçã (olfatórias e gustativas) aumentaram com o passar do tempo.



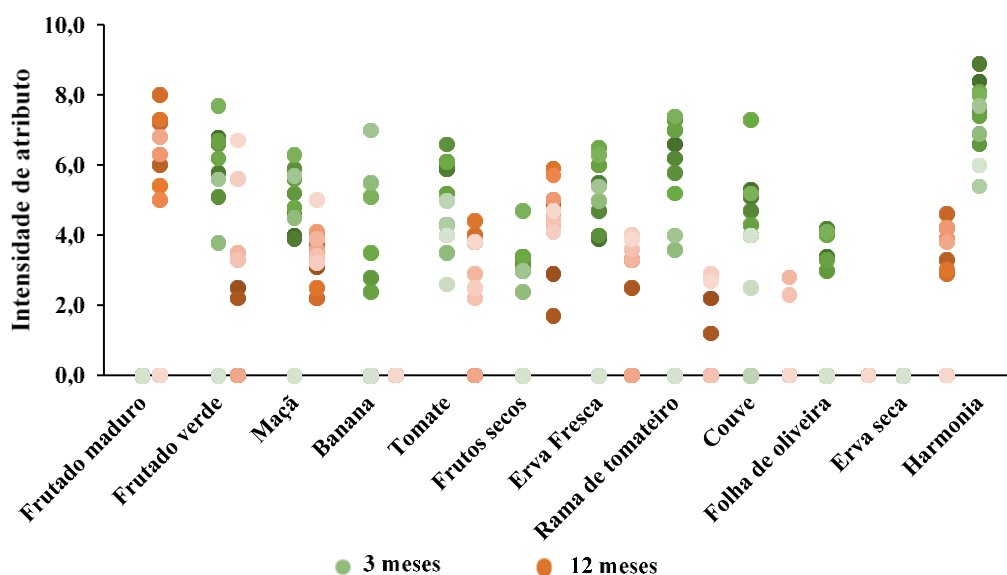
**Figura 24** - Principais dados olfativos encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana 3 meses e 12 após extração.

Quanto ao perfil gustativo desses azeites, foram detectados sensações herbáceas e frutadas, em que a intensidade de cada atributo está descrita na Figura 25. No período de 3 meses após a extração, o perfil descritivo desses azeites apresentaram somente notas de frutado verde com uma média de intensidade de 4,4. Além disso, por ordem de predominância nas amostras, os atributos registrados na análise sensorial de março fora tomate (4,8), maçã (3,6), frutos secos (2,3), erva fresca (3,8), rama de tomateiro (4,3), couve (3,3), banana (1,9) e folha de oliveira (1,6). Em que, todas amostras obtiveram sensações gustativas de tomate e apenas 3 amostras obtiveram sensações de banana e folha de oliveira.

Já o perfil gustativo desses azeites 12 meses após a extração apresentou notas de frutado verde e frutado maduro. O frutado maduro apresentou maior intensidade (3,7) com a presença em 4 amostras, enquanto o frutado verde esteve presente em 3 amostras com uma intensidade média de 1,7. Seguindo a ordem de predominância dos atributos nas amostras, após passados os 9 meses foram percebidos notas de frutos secos (4,4), maçã (3,4), tomate (1,8), erva seca (2,1), erva fresca (1,5), rama de tomateiro (0,6) e couve (0,4). Nesse momento todas as amostras obtiveram notas de maçã e frutos secos, onde a menor incidência foi para os atributos de couve e rama de tomateiro, com a presença em 1 e 2 amostras, respectivamente. Além disso, nota-se a presença de notas de erva seca em 4 amostras e a ausência da sensação de frutado de banana. Desse modo, observa-se que

as percepções gustativas desses azeites distinguiram-se com o passar dos meses, sendo que finalizaram 1 ano de sua extração com notas mais adocicadas e mais intensas em frutado maduro. Além disso, passaram a ser mais intensas quanto aos atributos de frutos secos e maçã, mantendo-se com uma forte característica sua descrição quanto a sensações de frutas, visto que perdeu intensidade nos atributos herbáceos.

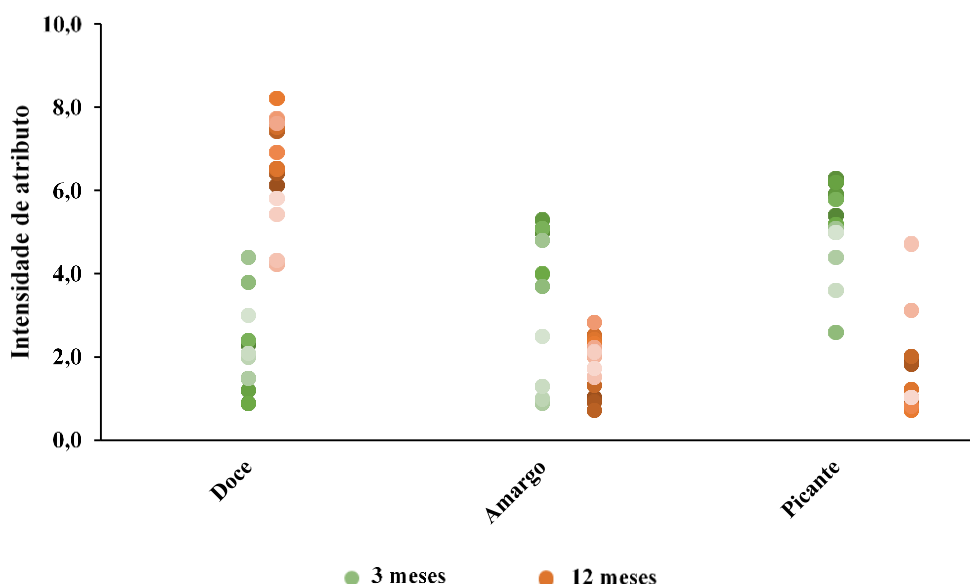
Rodrigues *et al.* (2020) relatou em seus estudos alta intensidade do atributo de maçã para as cvs. Madural, Rebolã, Redondal e Verdeal Transmontana com valor médio de 3,8. Esse valor se aproximou bastante do obtido no presente estudo, onde as amostras após os 12 meses de extração apresentaram uma intensidade média de 3,4. Outros resultados se assemelham quanto as notas de frutos secos, que também foi relatado pelos autores com intensidades entre 1,6 e 2,4. Entretanto, os azeites da cv. Santulhana apresentaram alta intensidade de notas de frutos secos com uma média de 4,4. Logo, as sensações de frutos secos, tomates e maçã foram altas, assim como nos estudos de Rodrigues *et al.* (2020), os quais justificam esses atributos devido ao “terroir” da região transmontana. Outros estudos realizados por Rodrigues *et al.* (2018), Lukić *et al.* (2018) e Rodrigues *et al.* (2019) relatam a mesma predominância de notas de frutos secos, maçã e tomate para azeites extraídos na região transmontana.



**Figura 25** - Principais dados gustativos encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana 3 meses e 12 após extração.

Em relação aos principais atributos positivos quanto as percepções gustativas de doce, amargo e picante (Figura 26), apenas 41,2% das amostras se enquadraram com

esses atributos sem apresentar defeitos sensoriais. Verifica-se ainda que na primeira análise sensorial realizada 3 meses após a extração, esses azeites apresentaram maiores intensidades de amargo e picante com valores médios de 3,8 e 5,2, respectivamente. Já passados os 12 meses de extração, a intensidade de amargo e picante diminuíram, consideravelmente, para respectivamente valores médios de 1,8 e 1,6 de intensidade. Todavia, em dezembro os azeites apresentaram alta intensidade da sensação gustativa doce, a qual apresentou um valor médio de 6,5 na escala de 0 a 10. Desse modo, com o passar dos meses os azeites da cv. Santulhana passaram a ser mais adocicados com menores percepções do amargo e picante. Rodrigues *et al.* (2018) obtiveram conclusões semelhantes, onde os azeites da cv. Arbequina produzidos na região apresentaram a diminuição do amargor e pungência consoante o com o passar do tempo.

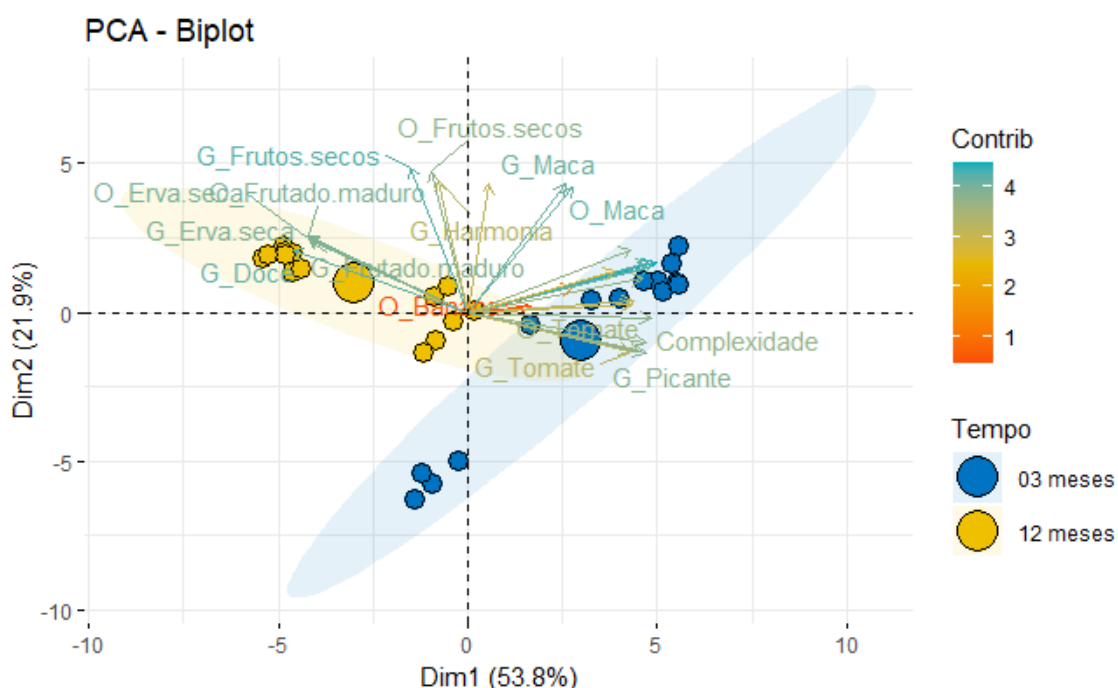


**Figura 26** - Principais dados gustativos quanto sensações doce, amargo e picante encontrados nos azeites monovarietais da cv. Santulhana 3 meses e 12 após extração.

Enquanto ao perfil olfato-gustativo, essa análise permitiu-nos observar o equilíbrio entre os atributos positivos. Visto que, a média das duas análises resultaram em intensidades de 5,5 para complexidade, 6,4 para persistência e 7,7 para harmonia. Vale ressaltar que passado os 12 meses após extração a harmonia aumentou entre os atributos, enquanto a complexidade e persistência diminuíram. O mesmo foi relatado pelos autores Rodrigues *et al.* (2018), onde com os passar do tempo a complexidade e persistência dos azeites da cv. Arbequina, produzidos na região Trás-os-Montes, diminuíram. Os

resultados obtidos na análise sensorial quanto aos atributos positivos permitiram a distinção simultânea das amostras segundo os períodos estudados de 3 meses e 12 meses após extração. Para isso foi realizado o PCA, onde é possível observar que os azeites nos dois momentos obtiveram discriminação de 75,7% (Figura 27).

Os azeites monovarietais da cv. Santulhana, em primeiro momento, distinguiram-se devido às sensações verdes com intensidades elevadas de tomate, picante e complexidade. Já passados os 12 meses de extração, estes distinguiram-se com notas de frutado maduro, e maiores intensidades de doce, frutos secos, maçã e harmonia.



**Figura 27** - Diferenciação dos azeites monovarietais da cv. Santulhana quanto aos resultados das análises sensoriais realizadas 3 e 12 meses após extração: Biplot 2D-PCA quanto esse parâmetro.

#### 4.2.2. Clorofilas e carotenoides

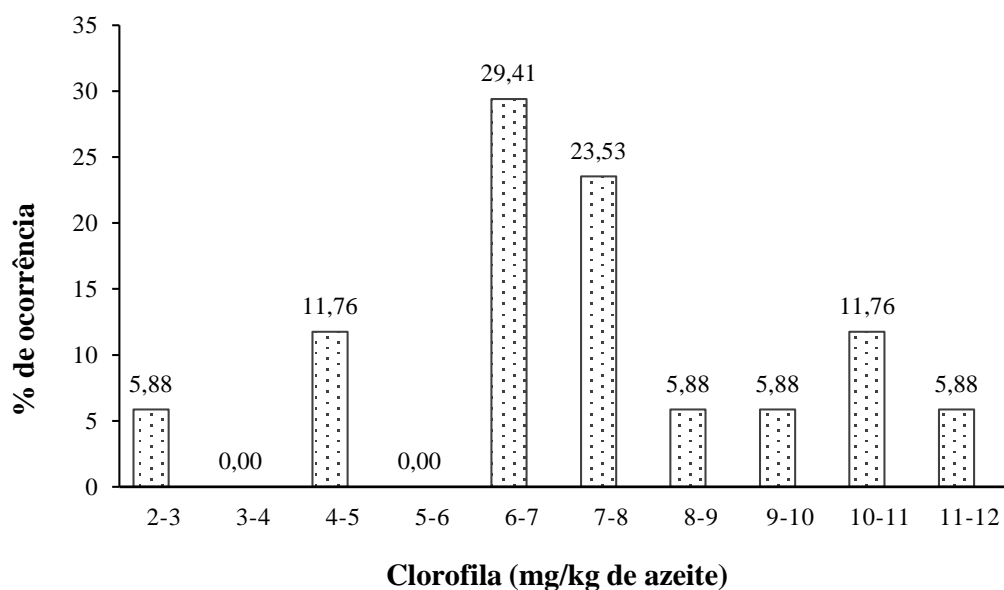
A composição dos azeites conta com a presença de clorofilas e carotenoides que influenciam diretamente sobre a cor e potencial antioxidante destes. Uma vez que, na ausência de luz as clorofilas agem como antioxidantes aumentando o tempo de vida dos azeites. Além disso, em situação contrária, na presença de luz e calor, há a agitação das clorofilas que diminuem o tempo de vida dos azeites devido à degradação destas. As clorofilas são responsáveis pela coloração verde dos azeites (clorofila a e b), além de que

se em contato com ácidos graxos livres ocorre a sua transformação em feofitinas responsáveis pela coloração amarelada (feofitina a e b).

Quanto aos carotenoides, além das influências já citadas, esses são precursores de vitamina, principalmente vitamina A e E. Os principais carotenoides na composição dos azeites são o  $\beta$ caroteno e as xantofilas. Além disso, são responsáveis também por conferir a coloração amarelada aos azeites, de modo que sua quantidade depende de fatores como índice de maturação, cultivar, sistema de extração e condições de armazenamento dos azeites (Beltrán *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2017).

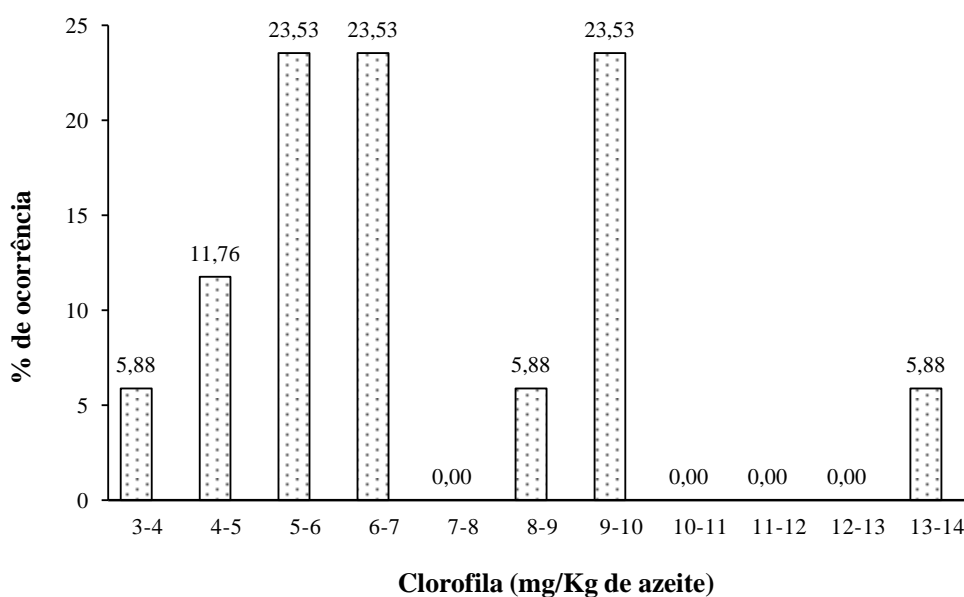
Em relação aos teores de clorofilas, nas análises realizadas após os 3 meses de extração foram obtidos valores que variaram de 2,99 a 11,53 mg/kg de azeite apresentando um valor médio de 7,47 mg/kg de azeite. Entre amostras houve uma variância entre os valores registrados. Sendo que, a maior incidência desse teor ocorreu entre os intervalos de 6-7 e 7-8 mg/kg de azeite, com ocorrência de 29,41% e 23,53%, respectivamente. Entre os intervalos de teores de 3-4 e 5-6 mg/kg de azeite não houve registros. Conforme a Figura 28 é possível observar a variação entre os resultados obtidos mostrando que os azeites da cv. Santulhana possuem uma distinta quantidade de clorofilas na composição de seus azeites.

Os azeites da cv. Santulhana, diferente dos azeites monovarietais da cv. Arbequina os quais registraram valores médios de 3,68 mg/kg de azeite de clorofila (Marx *et al.*, 2022), apresentam elevados teores. De modo que seu valor médio de 7,47 mg/kg de azeite se aproxima do valor obtido para a cv. italiana Leccino, a qual no estudo dos autores Sicari *et al.* (2021) apresentou um valor médio de 10,62 mg/kg de azeite.



**Figura 28** - Porcentagem de ocorrência do teor de clorofilas nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração.

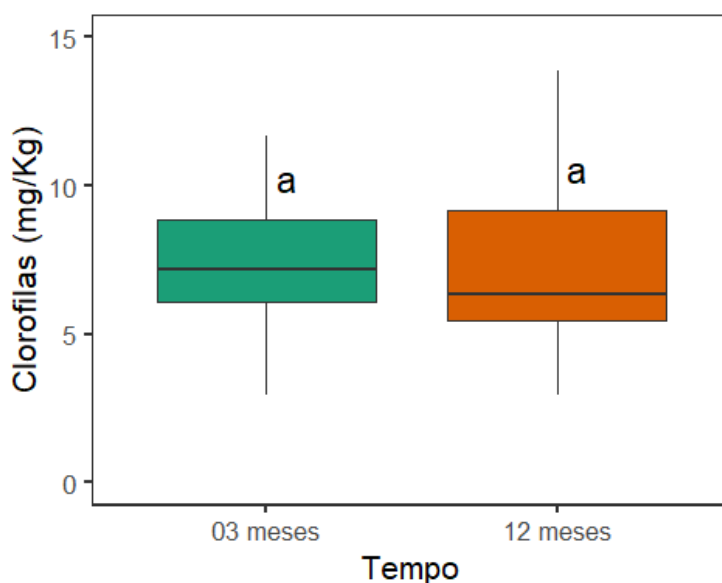
Já na repetição da análise, passados 12 meses da extração, os resultados registrados variaram de 3,00 a 13,70 mg/kg de azeite, cujo valor médio foi de 6,97 mg/kg de azeite. Assim como na primeira análise houve variância entre os resultados das amostras. As maiores incidências ocorreram entre os teores de 5 e 7 mg/kg de azeite e entre 9 e 10 mg/kg de azeite, com uma ocorrência de 47,06% e 23,53%, respectivamente. Para os teores entre 7 e 8 mg/kg de azeite e de 10 a 13 mg/kg de azeite não houve registro (Figura 29).



**Figura 29** - Porcentagem de ocorrência do teor de clorofilas nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração.

Comparando as médias obtidas nos dois períodos analisados, observa-se a diminuição na quantidade dos teores de clorofila após a passagem do tempo de armazenamento dos azeites. Além disso, observa-se que após passados os 12 meses de armazenamento as amostras concentraram-se com menores teores de clorofila, como é possível comparar nas Figuras 28 e 29. Por isso, pode-se de forma a extrapolar os resultados obtidos criar a hipótese de que quanto maior o tempo de armazenamento dos azeites da cv. Santulhana menores serão os teores de clorofila. De modo que a diminuição dos teores de clorofila possa ser percebida devido à mudança da cor esverdeada dos azeites para uma coloração mais amarelada.

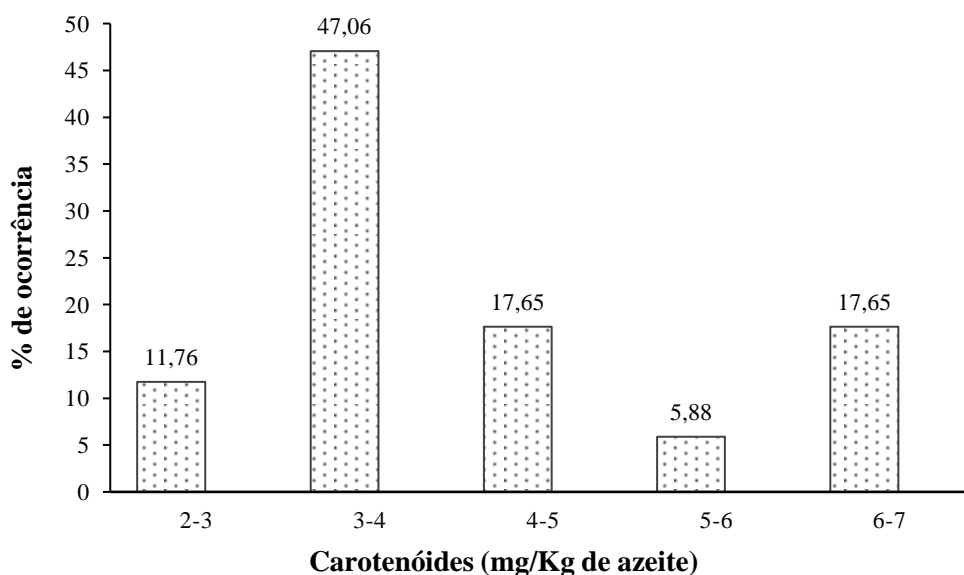
Na Figura 30 é possível concluir que embora tenha sido possível observar uma diminuição no teor de clorofila entres os dois diferentes períodos analisados, estatisticamente os resultados não obtiveram diferenças significativas. Tal conclusão pode ser justificada devido às médias registradas entre as amostras, nos períodos de 3 meses e 12 meses após a extração, permaneceram entre 5 e 7,5 mg/kg de azeite.



**Figura 30** - Boxplot do teor de clorofilas das amostras de azeites monovarietais da cv. Santulhana analisados nos períodos de 3 e 12 meses após extração. Letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey).

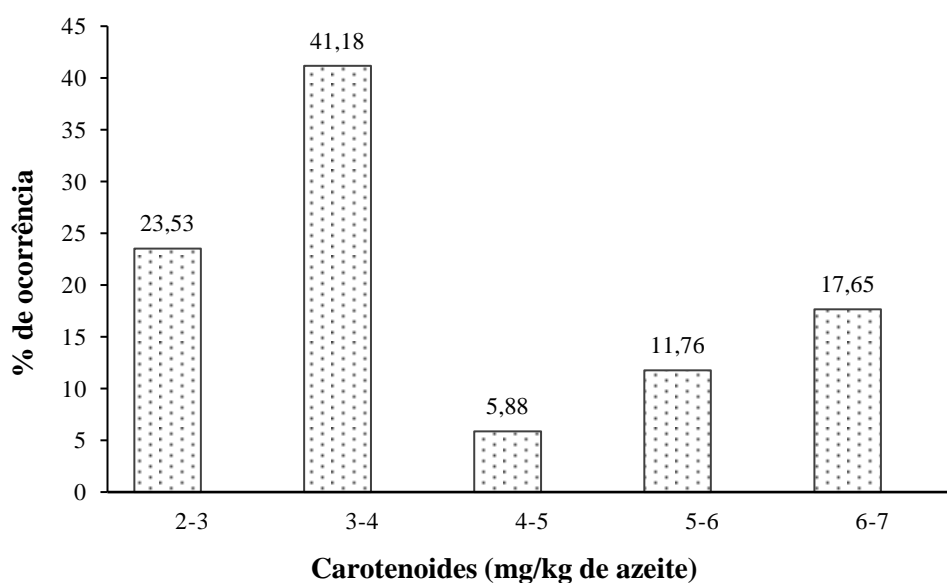
Já quanto aos teores de carotenoides após os 3 meses de extração dos azeites, esses variaram de 2,46 a 6,88 mg/kg de azeite apresentando um valor médio de 4,28 mg/kg de

azeite. Diferente dos teores de clorofila, as variações entre os resultados das amostras foram menores. A degradação das clorofilas é superior ao dos carotenoides desde o processo de maturação dos frutos, onde a perda de cor influencia na relação clorofila/carotenoide (Motilva & Romero, 2010). Além disso, a maior incidência de teores de carotenoides entre as amostras foi entre 3 e 4 mg/kg de azeite, com uma ocorrência de 47,06%. Ainda assim, observa-se que houve registros entre os demais teores de carotenoides demonstrando que assim como as clorofilas, esses possuem diferentes quantidades na composição dos azeites elementares da cv. Santulhana (Figura 31).



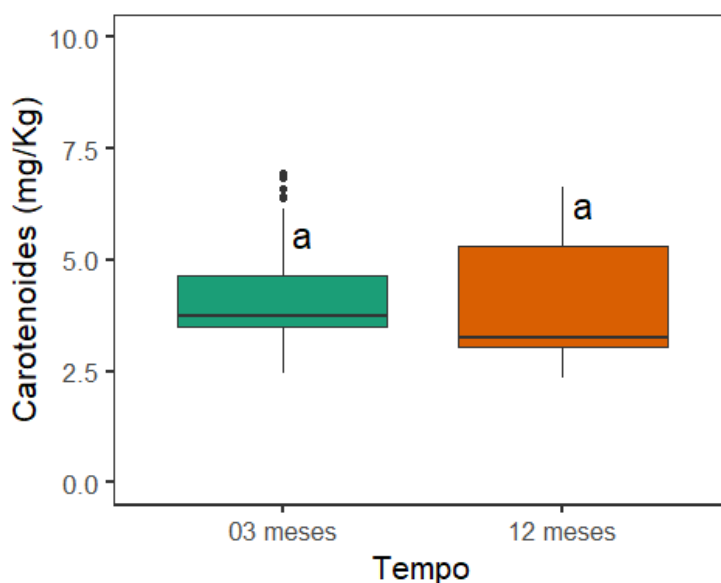
**Figura 31** - Porcentagem de ocorrência do teor de carotenoides nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração.

Já na análise realizada após os 12 meses de extração, os resultados variaram de 2,37 a 6,51 mg/kg de azeite, com um valor médio de 3,96 mg/kg de azeite. Os resultados obtidos entre os dois períodos não diferiram muito. Observando a Figura 32, é possível concluir que a maior incidência continuou entre os teores de 3 e 4 mg/kg de azeite, com uma diminuição na porcentagem de ocorrência, visto que houve um aumento na ocorrência de amostras com teores entre 2 e 3 mg/kg de azeite. Desta maneira, observou-se a diminuição nos teores de carotenoides, mesmo que mínimo, além de que 3 amostras mantiveram seus teores após o tempo de armazenamento. Pode-se concluir, portanto, que mesmo com o passar dos meses de armazenamento dos azeites, os teores de carotenoides diminuíram.



**Figura 32** - Porcentagem de ocorrência do teor de carotenoides nas amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração.

Deste modo, assim como os teores de clorofila, os teores de carotenoides nas amostras de azeites monovarietais da cv. Santulhana não obtiveram estatisticamente diferenças significativas. Na Figura 33 observa-se a diminuição da média na análise realizada 12 meses após extração, porém ambas as médias obtidas mantiveram entre teores de 3 a 4 mg de carotenoides/kg de azeite, não havendo diferença proeminente.



**Figura 33** - Boxplot do teor de carotenoides das amostras de azeites monovarietais da cv. Santulhana analisados nos períodos de 3 e 12 meses após extração. Não foram observadas diferenças significativas a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey).

#### 4.2.3. Cor

Quanto ao estudo da cor dos azeites, foi utilizado a escala CIELAB a qual expressa as cores de acordo com sua tonalidade, luminosidade e saturação. Essa escala ordena quanto a luminosidade ( $L^*$ ), tonalidade de vermelho a verde ( $a^*$ ) e tonalidade de amarelo a azul ( $b^*$ ). Além disso, para essa análise levou-se em conta os resultados da saturação ( $C^*$ ) e o ângulo da tonalidade ( $h^*$ ). Dito isso, os resultados entre as escalas obtiveram diferenças significativas estatisticamente ( $p < 0,001$ ), visto que houve variação entre os registros de 3 meses e 12 meses após a extração (Tabela 3).

Como é possível observar na Tabela 3, com o passar dos 12 meses após extração, houve um aumento significativo nas escalas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $h^*$ . No que refere à luminosidade, o aumento da média obtida na segunda análise traduz que ocorreu um clareamento dos azeites estudados. Já na questão da tonalidade, as amostras de azeite perderam tonalidade verde, justificando também uma mudança no ângulo de tonalidade.

**Tabela 3** - Avaliação da cor acordo com luminosidade ( $L^*$ ), tonalidade ( $a^*$  e  $b^*$ ), saturação ( $C^*$ ) e ângulo de tonalidade ( $h^*$ ) segundo a escala CIELAB. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) e variação de valores são mostrados.

Indicativos	3 meses	12 meses	Valor - p
$L^*$	78,42 $\pm$ 3,46 b	82,73 $\pm$ 0,65 a	***
	(72,76 – 87,59)	(80,39 – 83,84)	
$a^*$	-13,28 $\pm$ 2,52 b	-6,39 $\pm$ 1,42 a	***
	(-15,34 – -5,17)	(-10,02 – -4,33)	
$b^*$	60,56 $\pm$ 16,42 a	20,53 $\pm$ 5,37 b	***
	(15,02 – 80,26)	(13,35 – 35,87)	
$C^*$	62,02 $\pm$ 16,54 a	21,51 $\pm$ 5,55 b	***
	(15,89 – 81,78)	(14,05 – 37,29)	
$h^*$	102,86 $\pm$ 1,95 b	107,44 $\pm$ 0,62 a	***
	(100,94 – 109,00)	(105,86 – 108,71)	

\*\*\* Significância em  $p < 0,001$ .

Deste modo, comparando com os resultados obtidos na análise de clorofila houve conformidade diante os registros, visto que na análise nesse mesmo período estes obtiverem uma redução no teor de clorofila. Díez-Betriu *et al.* (2023) apontou sobre a relação negativa entre o teor de clorofila e a coordenada cromática  $a^*$ , a qual o aumento

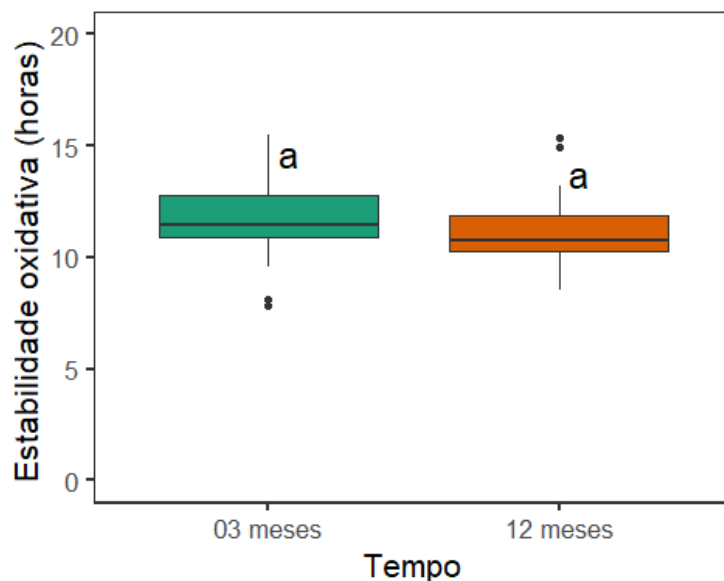
da coordenada  $a^*$  evidencia a diminuição do teor de clorofila. Diferente dos outros indicativos, as escalas de  $b^*$  e  $C^*$  diminuíram suas médias na análise realizada no segundo período em estudo. Diante disso, a diminuição da escala  $b^*$  traduz que não houve ganho de cor amarela nos azeites. Estudos realizados pelos autores Díez-Betriu *et al.* (2023) apontam a relação direta entre o período de armazenamento e a coordenada cromática  $b^*$ , onde ocorre a degradação dos carotenoides quanto maior o tempo de armazenamento. Além disso, os autores apontam a relação positiva entre a coordenada  $b^*$  e o teor de carotenoides.

Tendenciosamente esperava-se que com o clareamento e perda da tonalidade verde dos azeites, estes ganhassem cor amarelada. Entretanto, o registro obtido teve conformidade com os resultados obtidos nos teores de carotenoides, os quais em sua grande maioria permaneceram com os mesmos teores na análise realizada no mesmo período. Já em questão da saturação, sua diminuição determina uma menor expressão das cores, conferindo uma tonalidade mais acinzentada.

Portanto, as amostras de azeites da cv. Santulhana no período de 3 meses após extração apresentavam cores mais expressivas na tonalidade de verde. Fato o qual passados 12 meses da extração, a coloração mudou para tonalidades mais azuladas e acinzentadas, perdendo a expressividade do tom de verde-claro. Pode-se justificar tal acontecimento devido a maior diminuição dos teores de clorofila do que de carotenoides.

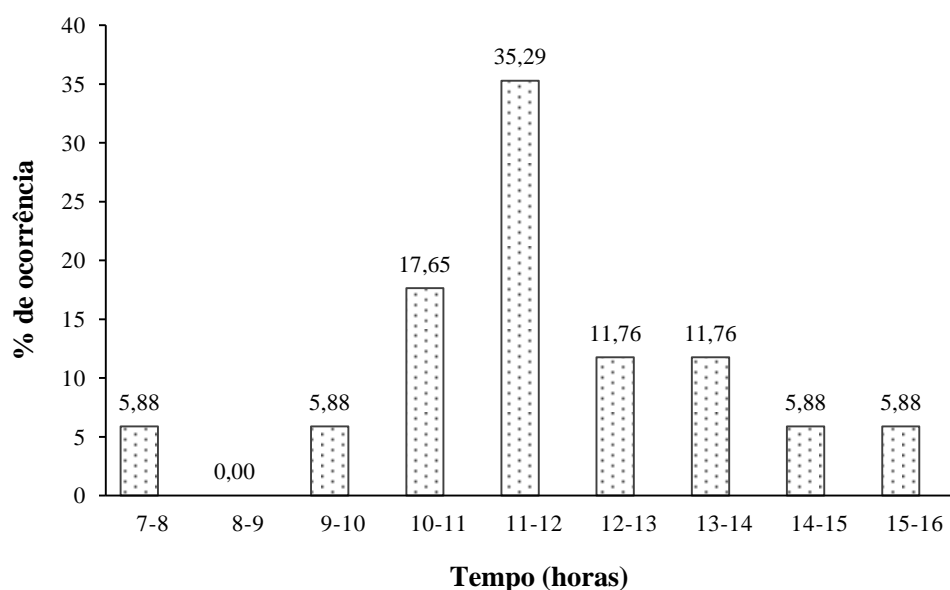
#### 4.2.4. Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa é um parâmetro de análise que permite compreender sobre o tempo estimado de resistência que o azeite suporta ficar sem perder sua qualidade, quando submetido a condições favoráveis à sua oxidação (temperatura e oxigênio). Desse modo, azeites que possuem maiores resultados, ou seja, maior tempo estimado de resistência, maior potencial terá, pois, conseguirá manter sua qualidade por mais tempo possuindo uma maior validade. Apresentando os resultados gerados a partir das análises estatísticas, os azeites monovarietais da cv. Santulhana não tiveram diferença significativa entre os 3 meses e 12 meses após a extração dos azeites (Figura 34).



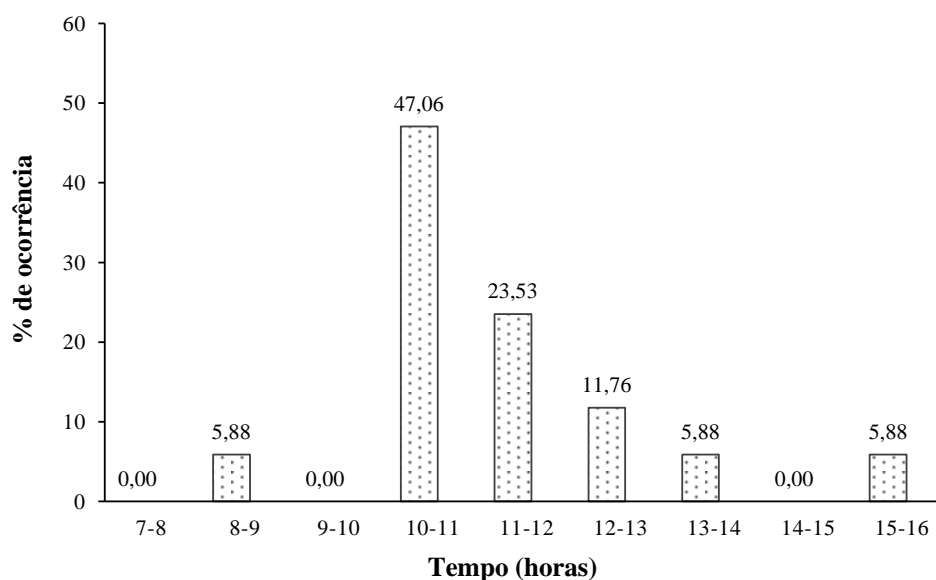
**Figura 34** - Boxplot da estabilidade oxidativa dos azeites da cv. Santulhana após os 3 e 12 meses da extração. Letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey).

Na análise de março os resultados variaram de 7,83 h a 15,50 h apresentando um valor médio de 11,75 h. É possível observar que dentro dessas análises houve uma variação dos resultados devido a amostras que apresentaram valores distintos entre si. Nesse período de 3 meses após a extração, a maior incidência de tempo ocorreu entre o intervalo de 11-12 h com uma porcentagem de 35,29% de ocorrência. Já a menor incidência ocorreu nos intervalos de 7-8 h, 9-10 h, 14-15 h e 15-16 h. No intervalo de tempo de 8-9 h não foi registrado valores (Figura 35). Já na análise de dezembro, os resultados variaram de 8,56 h a 15,36 h apresentando um valor médio de 11,21 h. Observa-se assim como na primeira análise uma variação dos resultados.



**Figura 35** - Porcentagem de ocorrência do tempo estimado das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração.

No período de 12 meses após a extração dos azeites, 47,06% das amostras de azeites tiveram resultados entre 10-11 h, 23,53% entre 11-12 h e 11,76% entre 12-13 h. As amostras obtiveram menores incidências no intervalo de 8-9 h, 13-14 h e 15-16 h com uma porcentagem de ocorrência de 5,88%. Para os intervalos de 7-8 h, 9-10 h e 14-15 h não houve registro de valores (Figura 36).

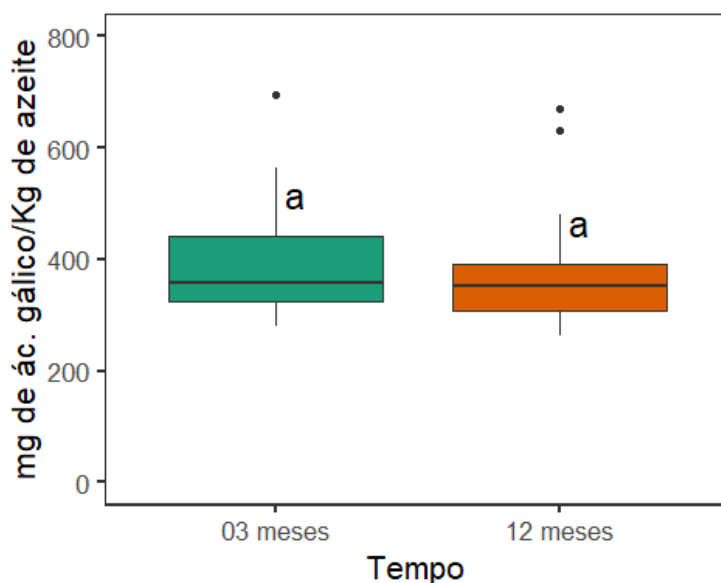


**Figura 36** - Porcentagem de ocorrência do tempo estimado das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração.

De forma conclusiva, observa-se que após os 12 meses de extração houve um aumento na ocorrência de azeites com tempo estimado entre 10 e 11 horas. Sendo assim, 5 amostras diminuíram seu tempo estimado reduzindo, portanto, seu potencial de tolerar mais tempo nas prateleiras, mesmo que em condições ao abrigo de luz a qual foram submetidas. Em comparação com os resultados obtidos por Chéu-Guedes *et al.* (2023) para os azeites monovarietais da cv. Madural, os azeites da cultivar de estudo apresentaram maior resistência a oxidação.

#### 4.2.5. Fenóis totais

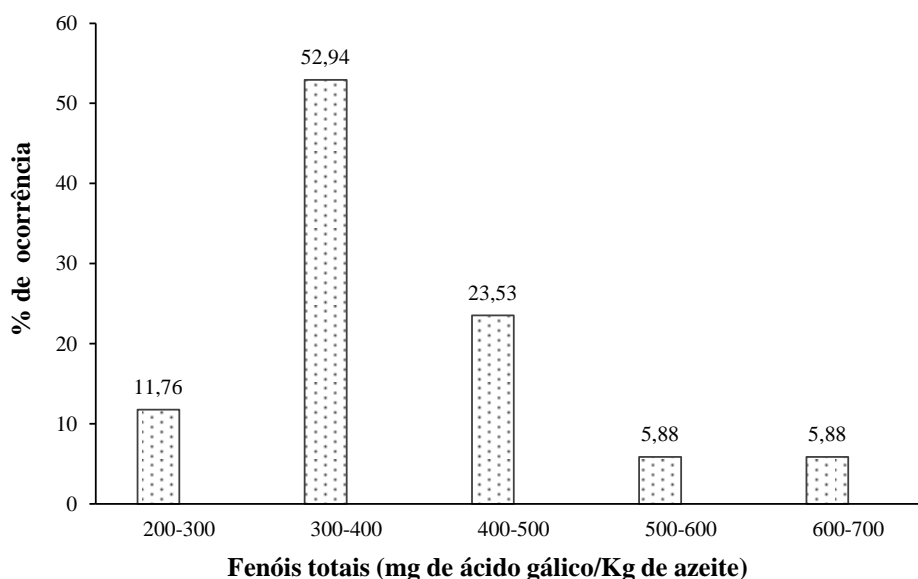
A análise de teor de fenóis totais avalia a atividade antioxidante dos azeites e seus resultados são expressos em concentração de fenóis em mg de ácido gálico/kg de azeite. Seguindo os resultados gerados pela análise estatística, verifica-se que não houve diferença significativa entre as amostras durante os períodos de 3 meses e 12 meses após a extração dos azeites (Figura 37).



**Figura 37** - Boxplot da concentração de fenóis nos períodos de 3 e 12 meses após extração dos azeites elementares da cv. Santulhana. Letras minúsculas iguais significam que não houve diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey).

Nas primeiras análises (3 meses), os resultados variaram de 290,96 a 625,65 mg de ácido gálico/kg de azeite, sendo o valor médio de 392,09 mg de ácido gálico/kg de azeite. A maior incidência das amostras ocorreu entre 300 e 400 mg de ácido gálico/kg

de azeite, representando 52,94% das amostras de azeites monovarietais da cv. Santulhana (Figura 38).

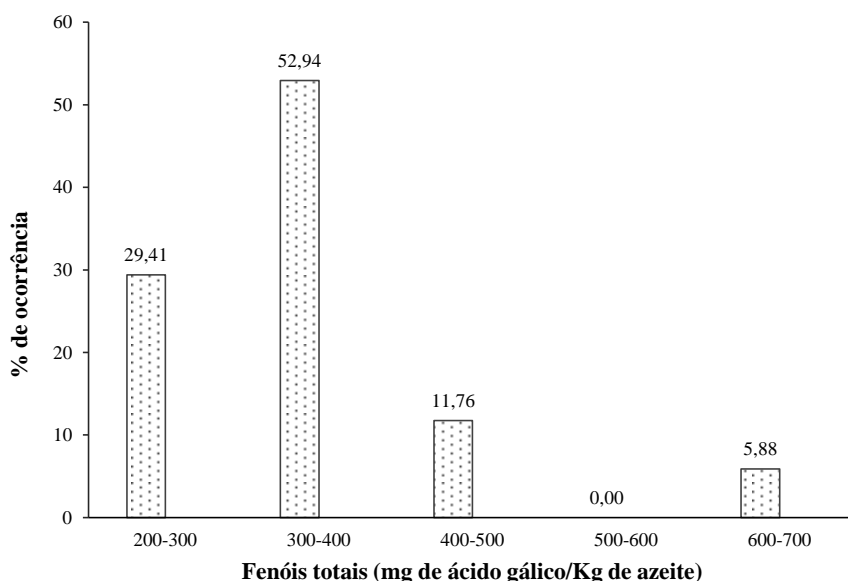


**Figura 38** - Porcentagem de ocorrência do teor de fenóis totais das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração.

Já nas análises realizadas após 12 meses de extração, os resultados variaram de 272,07 a 649,97 mg de ácido gálico/kg de azeite apresentando um valor médio de 367,38 mg de ácido gálico/kg de azeite. De modo que 52,94% das amostras obtiveram valores entre 300 e 400 mg de ácido gálico/kg de azeite e a segunda maior incidência foi entre 200 e 300 mg de ácido gálico/kg de azeite (Figura 38). Em comparação com os resultados obtidos na primeira análise, houve um aumento de amostras com valores entre 200 e 300 mg de ácido gálico/kg de azeite demonstrando que houve uma diminuição entre a concentração de fenóis totais com o passar do tempo. Além disso, é possível observar essa ocorrência devido a amostras de azeite passarem de concentrações de 500 e 600 mg de ácido gálico/kg de azeite para valores de 300 e 400 mg de ácido gálico/kg de azeite (Figura 39).

Em comparação com os resultados descritos por Negro *et al.* (2019) para azeites monovarietais de cultivares italianas, os azeites da cv. Santulhana se destacam com maiores teores de fenóis totais, visto que esses autores identificaram teores médios que variaram de 138 e 278 mg ácido gálico/kg para as cvs. Colozzese, Barone di Monteprofico, Cellina di Nardò, Cornola, Ogliarola di Lecce, Orniella, Oliva Grossa e

Espinha. Sendo assim, a cv. Santulhana responsável por derivar azeites com ótimos teores de fenóis contribuindo em sua atividade antioxidante.

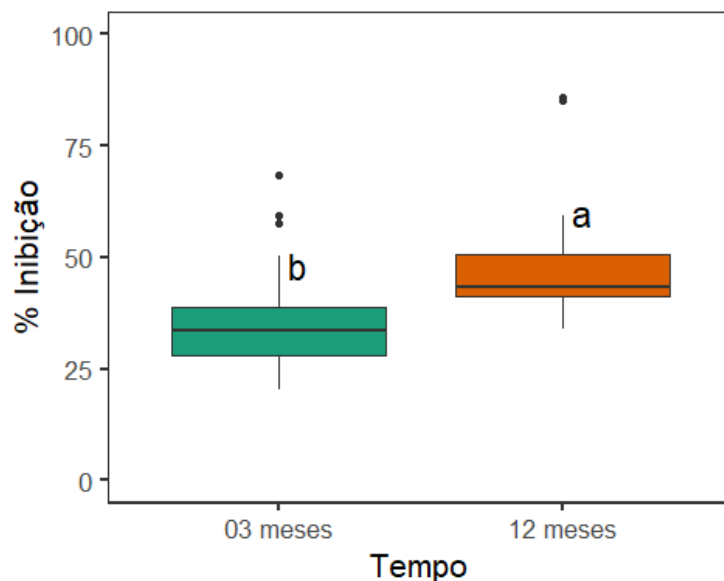


**Figura 39** - Porcentagem de ocorrência do teor de fenóis totais das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração.

Deste modo, os resultados mesmo que não significativos estatisticamente é possível observar uma diminuição na concentração do teor de fenóis após passado os 12 meses de extração. Essa redução, mesmo que mínima, pode ser observada nas médias obtidas em cada análise, sendo na primeira de 392,02 mg de ácido gálico/kg de azeite e na segunda 367,38 mg de ácido gálico/kg de azeite. A diferença entre as médias obtidas é de 24,71 mg de ácido gálico/kg de azeite, a qual justifica a insignificância estatística dos resultados obtidos nos dois períodos devido à diferença entre eles ser tão baixa. A redução do teor de fenóis totais também foi descrita por Chéu-Guedes *et al.* (2023), em que os azeites monovarietais da cv. Madural apresentaram uma queda nesse teor ao longo do tempo de seus estudos.

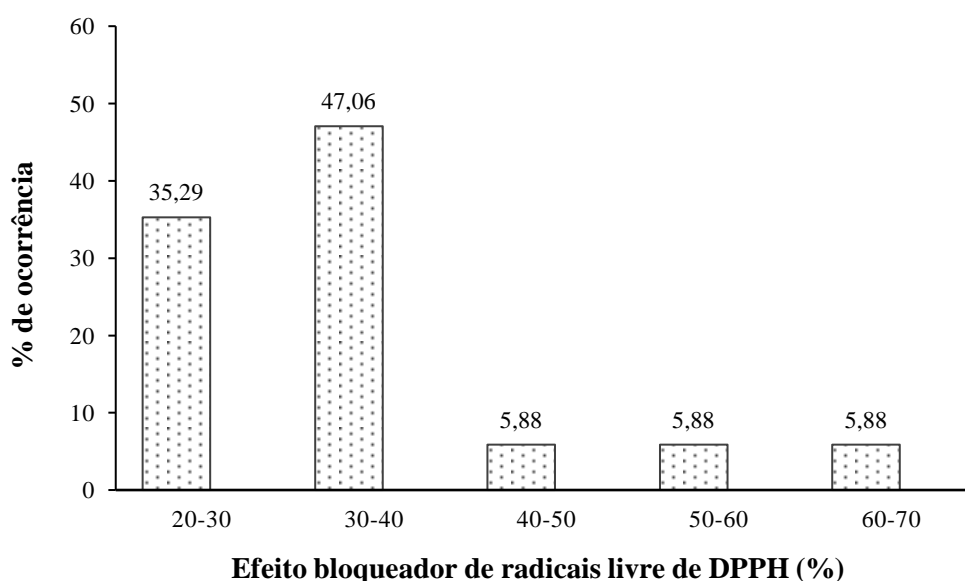
#### 4.2.6. Efeito bloqueador de radicais livres de DPPH

Quanto a análise dos bloqueadores de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), essa é responsável por avaliar o potencial antioxidante dos azeites, sendo seus resultados apresentados a partir da porcentagem de inibição desse radical. Após a análise estatística, o boxplot permite-nos observar que houve significância estatística ( $p < 0,001$ ) entre as análises realizadas após 3 e 12 meses de extração (Figura 40).



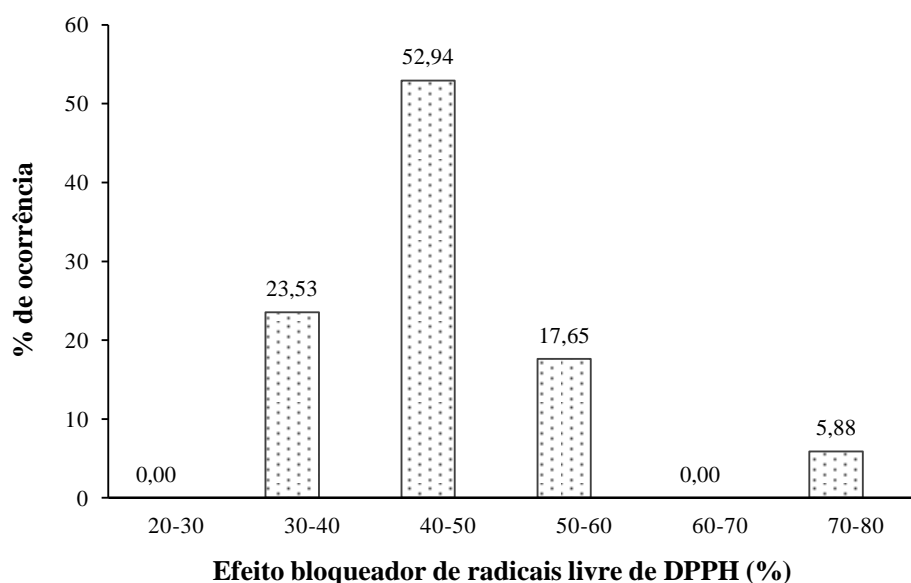
**Figura 40** - Boxplot do efeito bloqueador de radicais livre de DPPH obtidos nos períodos de 3 e 12 meses de extração dos azeites elementares da cv. Santulhana. Letras minúsculas diferentes significam diferença estatística significativa a um nível de significância de 5% (ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Tukey).

Na análise de 3 meses após extração, os resultados variaram de 22,26 a 62,93% apresentando um valor médio de 35,05%. Os resultados variaram entre si devido a distintos valores registrados entre as amostras. Nessa primeira determinação do potencial antioxidante dos azeites da cv. Santulhana, a maior incidência ocorreu nos valores de 30 a 40% de inibição do radical livre do reagente DPPH com 47,06% (Figura 41). Além disso, a segunda maior incidência ocorreu nos valores de 20 a 30% de inibição, representando 35,29% das amostras analisadas. Deste modo, quanto menor os valores registrados melhor o efeito bloqueador de radicais livres de DPPH dos azeites, sendo assim os azeites da cultivar de estudo registraram uma boa atividade antioxidante no período de 3 meses após a extração. Resultados semelhantes foram obtidos por Astolfi *et al.* (2021) para azeites de cultivares italianas da região de Toscana (Arancino, Coratina, Frantoio, Leccino, Moraiolo, Nocellara, Olivastra Seggianese, Pendolino e Raggiolo) e Apúlia (Coratina, Frantoio, Leccino, Ogliarola, Olivastra, Peranzana e Pichioline), os quais foram de 36,2% e 37,6% de inibição do radical DPPH, respectivamente. Em vista disso, após os 3 meses de extração, os azeites monovarietais da cv. Santulhana obtiveram valores médios próximos aos azeites da zona central e sul da Itália.



**Figura 41** - Porcentagem de ocorrência do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 3 meses após a extração.

Quanto aos resultados registrados após 12 meses de extração, esses variaram de 34,25 a 85,43% de inibição, apresentando um valor médio de 47,54%. Assim como na análise realizada anteriormente, houve uma distinção entre as amostras com resultados que variaram entre si. Nesse período, a maior incidência ocorreu entre 40 e 50% de inibição, com uma representatividade de 52,94% das amostras avaliadas. A segunda maior incidência ocorreu entre 30 e 40% com uma representatividade de 23,53% das amostras (Figura 42). Tais resultados demonstram a diminuição do potencial de bloquear a atividade de radicais livres de DPPH após passado 12 meses da extração do azeite. Desta maneira, houve uma diminuição do potencial da atividade antioxidante dos azeites se comparar com os resultados obtidos após os 3 meses de extração. Diferente da comparação feita no período de 3 meses de extração com os resultados descritos por Astolfi *et al.* (2021), após passados os 12 meses de extração os azeites da cultivar de estudo se aproximaram de valores obtidos para azeites somente da região central da Itália. Segundo Astolfi *et al.* (2021), azeites das cvs. Dritta e Intosso na região de Abruzzo apresentaram valor médio de 47% de inibição do radical de DPPH, sendo bem próximo do obtido para os azeites do presente estudo.



**Figura 42** - Porcentagem de ocorrência do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH das amostras monovarietais da cv. Santulhana analisadas 12 meses após a extração.

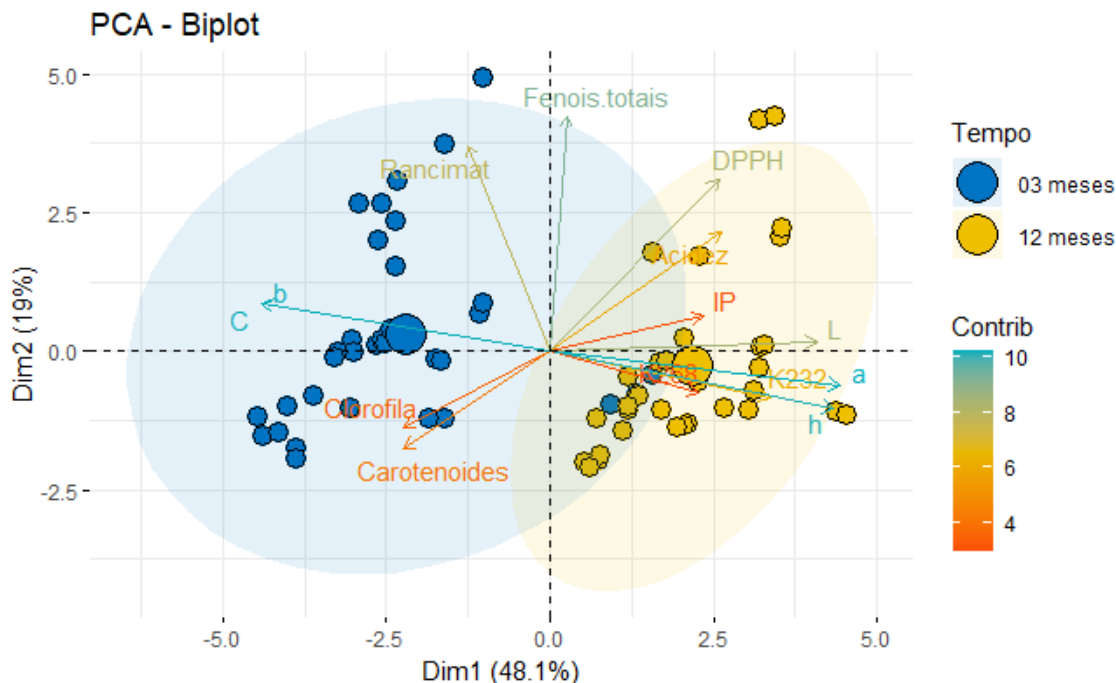
Na comparação entre as médias das análises, a primeira registrou uma média de 35,05% de inibição e a segunda 47,54% de inibição. A diferença de 12,49% entre os resultados concede-nos informações acerca da diminuição do potencial da atividade antioxidantes desses azeites após passados os 12 meses de extração (Figura 42).

Valores semelhantes foram obtidos por Rodrigues *et al.* (2020) para a cv. Arbequina, quanto as diferenças de densidade das árvores e a qualidade de seus azeites, os quais variaram de 46,08 a 73,91% de inibição por esse método. Desse modo, o valor médio obtido 12 meses após a extração dos azeites da cv. Santulhana se encontraram dentro do mesmo intervalo de porcentagem de inibição. Já na análise de 3 meses após extração, os azeites apresentaram maior capacidade de inibição do radical livre de DPPH, ou seja, maior atividade antioxidante do que os azeites da cv. Arbequina estudados por Rodrigues *et al.* (2020). Portanto, pode-se inferir que a atividade antioxidante do azeite da cultivar de estudo obteve melhor atividade no bloqueio de radicais livres de DPPH após os 3 meses de extração destes, sendo que com o tempo de armazenamento essa atividade diminui.

#### 4.2.7. Discriminação dos parâmetros químicos

Nesse contexto de diferenciação dos períodos de 3 meses e 12 meses após a extração dos azeites da cv. Santulhana, a Análise de Componentes Principais (PCA) foi

aplicada. Os resultados obtidos na PCA 2D mostra a discriminação dos resultados obtidos nas análises químicas quanto aos indicativos de qualidade, clorofila, carotenoides, cor, estabilidade oxidativa (Rancimat), fenóis totais e DPPH (Figura 43).



**Figura 43** - Diferenciação dos parâmetros químicos dos azeites 3 meses e 12 meses após extração: Biplot 2D-PCA com base nos resultados das análises químicas.

Os resultados obtidos nesse PCA foram satisfatórios com uma discriminação de 67,1%, onde houve bem delimitado a diferenciação dos azeites analisados nos dois períodos de estudo. Sendo que os azeites analisados 3 meses após extração se diferenciam devido aos teores de clorofila, carotenoides, estabilidade oxidativa, fenóis totais e quanto as coordenadas  $b^*$  e  $C^*$  da Colorimetria. Tal afirmação justifica-se devido aos azeites nesses momentos terem apresentado maiores valores nesses resultados. Essa distinção permite-nos inferir que no período de março os azeites obtiveram maiores composições de clorofilas e carotenoides, os quais definiram cores verdes vivas para estes. Além disso, estes registraram maior tempo de prateleira com mais potencial antioxidante.

Em contrapartida, os azeites em dezembro distinguiram-se devido aos indicativos de qualidade, DPPH e quanto as coordenadas  $a^*$ ,  $h^*$  e  $L^*$  da escala de Colorimetria. Essa distinção determina que em dezembro os mesmos azeites analisados perderam potencial de atividade antioxidante, diminuíram sua qualidade quanto a acidez, índice de peróxidos e coeficientes de extinção. Além disso, houve a mudança de cor destes devido à perda de tonalidade verde e clareamento das amostras.

# Capítulo 5

## Conclusão

## 5. Conclusão

Este trabalho visa contribuir para a caracterização da Santulhana, cultivar minoritária e de maior expressão na Terra Fria Transmontana, de modo que, contribua também para a sua conservação, valorização e preservação como patrimônio genético da região Trás-os-Montes. A grande importância dessa cultivar e os escassos conhecimentos a respeito da mesma impulsionou a realização deste estudo com ênfase na caracterização fenológica, dos atributos químicos e organolépticos dos azeites, além do comportamento ao ataque de pragas.

O acompanhamento em campo para análise da evolução fenológica e densidade populacional das duas principais pragas da oliveira, permitiu entender mais sobre a cultivar de dispersão localizada. A evolução fenológica da cv. Santulhana a partir do início da atividade vegetativa e reprodutiva aconteceu de forma rápida com curtas durações dos estádios de início da floração e plena floração com duração de apenas 3 a 4 dias. Visto isso, o período de floração dessa cultivar é curto e rápido, de forma que as condições adversas podem influenciar nesse momento de extrema importância para a produtividade final. Ainda que a porcentagem de vingamento das flores já é baixo para as oliveiras, o encurtamento de seus estádios é um problema na região. Já a partir do acompanhamento da curva de voo da traça-da-oliveira e mosca-da-azeitona foi registrado que seus ataques apresentaram potencial para significância na produtividade nessa safra 2022/23, devido à baixa formação de frutos ocasionada pela bienalidade das oliveiras. Como foi observado poucos frutos nas árvores, o ataque pode ter atrapalhado a fertilização das flores e após a formação dos frutos ter ocasionado a queda prematura.

Entretanto, o foco do estudo foi apenas a caracterização de cada estágio fenológico quanto a sua duração e época de registro, sendo estas observações meramente informativas quanto ao que foi percebido em campo. Deste modo, considera-se interessante o aprofundamento de estudos a partir da influência das pragas na produção da cv. Santulhana de forma que haja um conjunto de informações acerca de momentos de maior incidência e práticas preventivas. Além disso, o acúmulo de informações nunca é diminuto e sempre será importante para os produtores, os quais tornar-se-ão mais capacitados e orientados.

Quanto as análises físico-químicas dos azeites, foi possível perceber a sensibilidade destes quanto a sua degradação. Os azeites após 12 meses de extração

apresentam alterações significativas quanto a sua qualidade. Todos os parâmetros químicos analisados evoluíram com o aumento dos resultados, podendo ser inferido uma relação direta entre o tempo de armazenamento e a qualidade dos azeites. Deste modo, é pertinente constatar que o prazo de validade dos azeites deve ser avaliado de forma mais assertiva considerando a degradação destes, mesmo que ao abrigo de luz e temperatura.

Para os azeites monovarietais da cv. Santulhana, as análises apontam que o prazo de 1 ano é o máximo o qual se pode assegurar a qualidade quanto ao seu valor nutricional. Em questão de seus atributos sensoriais percebidos através dos sentidos do paladar e olfato, os azeites monovarietais dessa cultivar apresentam notas que agradam o mercado consumidor. As percepções de notas de frutos secos, tomates e maçã, os quais estão presentes em abundância nesses azeites, são característicos da região transmontana, sendo registrado para demais cultivares da região. Portanto, essa cultivar minoritária apresenta qualidades organolépticas que mostram seu potencial na produção de azeites tão expressivos quanto ao de cultivares de maior dispersão.

# **Capítulo 6**

## **Referências Bibliográficas**

## 6. Referências bibliográficas

- Aguilera, M. P., Beltrán, G., Ortega, D., Fernández, A., Jiménez, A., & Uceda, M. (2005). Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. *Food Chemistry*, 89(3), 387–391. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.046>
- AR5 Synthesis Report: Climate Change 2014 — IPCC. (2014). <https://www.ipcc.ch/report/ar5/syr/>
- Astolfi, M. L., Marini, F., Frezzini, M. A., Massimi, L., Capriotti, A. L., Montone, C. M., & Canepari, S. (2021). Multielement characterization and antioxidant activity of italian extra-virgin olive oils. *Frontiers in Chemistry*, 9, 769620. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.769620>
- Barranco Navero, D., Fernandez-Escobar, R., & Rallo Romero, L. (2008). *El cultivo del olivo (6a ed. revisada y ampliada)*. Mundi-Prensa.
- Beltrán, G., del Río, C., Sánchez, S., & Martínez, L. (2004). Seasonal changes in olive fruit characteristics and oil accumulation during ripening process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(13), 1783–1790. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1887>
- Benlloch-González, M., Sánchez-Lucas, R., Benlloch, M., & Ricardo, F.-E. (2018). An approach to global warming effects on flowering and fruit set of olive trees growing under field conditions. *Scientia Horticulturae*, 240, 405–410. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.054>
- Bento, A. A., Torres, L. M., Lopes, J., & Pereira, J. A. (2001). Revista de Ciências Agrárias. Avaliação de prejuízos causados pela traça da oliveira, *Prays oleae* (Bern.) em Trás-os-Montes, 24:1-2, 89–96.
- Besnard, G., Terral, J.-F., & Cornille, A. (2018). On the origins and domestication of the olive: A review and perspectives. *Annals of Botany*, 121(3), 385–403. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx145>

- Bezner Kerr, R., Hasegawa, T., Lasco, R., Bhatt, I., Deryng, D., Farrell, A., Gurney-Smith, H., Ju, H., Lluch-Cota, S., Meza, F., Nelson, G., Neufeldt, H., & Thornton, P. (2022). Food, fibre, and other ecosystem products. Em H.-O. Pörtner, D. C. Roberts, M. M. B. Tignor, E. S. Poloczanska, K. Mintenbeck, A. Alegría, M. Craig, S. Langsdorf, S. Löschke, V. Möller, A. Okem, & B. Rama (Orgs.), *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
- Bohm, J. (2013). Grande livro da oliveira e do azeite português oleícola. Dinalivro.
- Cantero, F. de A. (1997). *Enfermedades y plagas del olivo* (3º ed, Vol. 1–2). Riquelme y Vargas Ediciones.
- Carvalho, G. P. de, Lopes, E., Mondragão-Rodrigues, F., Conceição, L. A., Peixe, A., & Garcia, J. B. (2017). *Actas Portuguesas de Horticultura*. Evolução da maturação de seis variedades nacionais de azeitona baseada em três metodologias de avaliação da cor, 424–431.
- Caselli, A., & Petacchi, R. (2021). Climate change and major pests of mediterranean olive orchards: are we ready to face the global heating? *Insects*, 12(9), 802. <https://doi.org/10.3390/insects12090802>
- Chéu-Guedes, M. H., La Rubia, M. D., Sánchez, S., Ramos, N., & Pacheco, R. (2023). Characterization of flavoured olive oils of ‘Madural’ variety. *Processes*, 11(1), 205. <https://doi.org/10.3390/pr11010205>
- Coelho, V., Pereira, J. A., Santos, S. A. P., Mexia, A., & Bento, A. (2011). Estudo da influência do diâmetro dos orifícios de armadilhas Olipe na luta contra a mosca-da-azeitona, *Bactrocera oleae* (Rossi). *Actas do Workshop em Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 191–201.
- Compreendendo o Espaço de Cor CIE L\*C\*h. ([s.d.]). Konica Minolta Sensing. <https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/compreendendo-o-espaco-de-cor-cie-lch/>

- Conselho Oleícola Internacional. (2022, janeiro 13). The world of olive oil. International Olive Council. <https://www.internationaloliveoil.org/the-world-of-olive-oil/>
- Díez-Betriu, A., Bustamante, J., Romero, A., Ninot, A., Tres, A., Vichi, S., & Guardiola, F. (2023). Effect of the storage conditions and freezing speed on the color and chlorophyll profile of premium extra virgin olive oils. *Foods*, 12(1), 222. <https://doi.org/10.3390/foods12010222>
- European Commission. Statistical Office of the European Union. (2022). Key figures on the European food chain: 2022 edition. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2785/510715>
- EUROSTAT. (2020). Agriculture, forestry and fishery statistics :2020 edition.: Vol. European Commission. Statistical Office of the European Union. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2785/496803>
- Falcão, P. D. (2015, abril). Espaço Rural—CONFAGRI Mar/Abri. “Azeite português atinge auto-suficiência”, 24–27.
- Garcia, E. L., Luh, B. S., & Martin, M. H. (2005). Olives. Em D. M. Barrett, L. P. Somogyi, & H. S. Ramaswamy (Orgs.), *Processing fruits: Science and technology* (2nd ed). CRC Press.
- Gavahian, M., Mousavi Khaneghah, A., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Garcia-Mantrana, I., Collado, M. C., Meléndez-Martínez, A. J., & Barba, F. J. (2019). Health benefits of olive oil and its components: Impacts on gut microbiota antioxidant activities, and prevention of noncommunicable diseases. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 220–227. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.008>
- Gómez-Guzmán, J. A., Herrera, J. M., Rivera, V., Barreiro, S., Muñoz-Rojas, J., García-Ruiz, R., & González-Ruiz, R. (2022). A Comparison of IPM and organic farming systems based on the efficiency of oophagous predation on the olive moth (*Prays oleae* Bernard) in olive groves of southern Iberia. *Horticulturae*, 8(10), 977. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100977>

- Gonçalves, F., Pereira, J. A., & Torres, L. M. (2007). Protecção contra a mosca-da-azeitona em olivicultura biológica.
- Google Earth. (2009). <https://earth.google.com/web/>
- GPP. (2020). Campanha 2019-2020—Sistemas de Informação—Estatísticas e análises. Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral. <https://www.gpp.pt/index.php/en/estatisticas-e-analises/siaz-campanha-2019-2020-azeite>
- GPP. (2022). Informação sobre Produtos | Produtos | GlobalAgrimar. <https://www.gpp.pt/index.php/produtos/produtos>
- Group, G. M. (2022, dezembro 19). "Ano completamente desastroso". Quebra de 50% na produção de azeite em Trás-os-Montes. TSF Rádio Notícias. <https://www.tsf.pt/portugal/economia/ano-completamente-desastroso-quebra-de-50-na-producao-de-azeite-em-tras-os-montes-15514794.html>
- Hamze, L. M., Trentacoste, E. R., Searles, P. S., & Rousseaux, M. C. (2022). Spring reproductive and vegetative phenology of olive (*Olea europaea* L.) cultivars at different air temperatures along a latitudinal-altitudinal gradient in Argentina. *Scientia Horticulturae*, 304, 111327. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111327>
- INE. (2016). Revista Eletrónica do INE - dezembro de 2016. Instituto Nacional de Estatísticas. [https://www.ine.pt/ine\\_novidades/semin/INEWS30/files/assets/basic-html/page-4.html#](https://www.ine.pt/ine_novidades/semin/INEWS30/files/assets/basic-html/page-4.html#)
- INE. (2022). Contas Económicas da Agricultura. 1.<sup>a</sup> Estimativa. [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_destaques&DESTAQUESdest\\_boui=541080993&DESTAQUESmodo=2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=541080993&DESTAQUESmodo=2)
- Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Lourenço-Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Bioactive Compounds

and Quality of Extra Virgin Olive Oil. *Foods*, 9(8), 1014.  
<https://doi.org/10.3390/foods9081014>

Kaniewski, D., Marriner, N., Morhange, C., Khater, C., Terral, J.-F., Besnard, G., Otto, T., Luce, F., Couillebault, Q., Tsitsou, L., Pourkerman, M., & Cheddadi, R. (2023). Climate change threatens olive oil production in the Levant. *Nature Plants*.  
<https://doi.org/10.1038/s41477-022-01339-z>

López-Bernal, Á., García-Tejera, O., Testi, L., Orgaz, F., & Villalobos, F. J. (2020). Studying and modelling winter dormancy in olive trees. *Agricultural and Forest Meteorology*, 280, 107776. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2019.107776>

Lukić, I., Horvat, I., Godena, S., Krapac, M., Lukić, M., Vrhovsek, U., & Brkić Bubola, K. (2018). Towards understanding the varietal typicity of virgin olive oil by correlating sensory and compositional analysis data: A case study. *Food Research International*, 112, 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.022>

Mairech, H., López-Bernal, Á., Moriondo, M., Dibari, C., Regni, L., Proietti, P., Villalobos, F. J., & Testi, L. (2021). Sustainability of olive growing in the Mediterranean area under future climate scenarios: Exploring the effects of intensification and deficit irrigation. *European Journal of Agronomy*, 129, 126319. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126319>

Malheiro, R., Casal, S., Cunha, S. C., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2016). Identification of leaf volatiles from olive (*Olea europaea*) and their possible role in the ovipositional preferences of olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae). *Phytochemistry*, 121, 11–19.  
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.10.005>

Marchini, D., Petacchi, R., & Marchi, S. (2017). *Bulletin of Insectology*. *Bactrocera oleae* reproductive biology: new evidence on wintering wild populations in olive groves of Tuscany (Italy), 70, 121–128.

- Martínez-Pertíñez, Á., & Medina Vélez, P. (2020). A *Bactrocera oleae* (Rossi) damage estimation model to anticipate pest control strategies in olive production. *Crop Protection*, 137, 105281. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105281>
- Marx, Í. M. G., Casal, S., Rodrigues, N., Cruz, R., Veloso, A. C. A., Pereira, J. A., & Peres, A. M. (2022). Impact of incorporating olive leaves during the industrial extraction of cv. Arbequina oils on the physicochemical–sensory quality and health claim fulfillment. *European Food Research and Technology*, 248(1), 171–183. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03870-3>
- Medeira, M. C., Maia, M. I., Narane, S., Serrano, M. C., Leitão, Lopes, J., & Santos, M. (2002). Flower anomalies in *Olea europaea* cv. Santulhana. *Acta Horticulturae*, 586, 479–483. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.586.99>
- Medina-Alonso, M. G., Navas, J. F., Cabezas, J. M., Weiland, C. M., Ríos-Mesa, D., Lorite, I. J., León, L., & la Rosa, R. de. (2020). Differences on flowering phenology under Mediterranean and Subtropical environments for two representative olive cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 180, 104239. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104239>
- Molina de la Rosa, J. L. (2010). Técnicas de cultivo: Plagas y enfermedades del olivo. Consejería de Agricultura y Pesca, Servicio de Publicaciones y Divulgación.
- Monteiro, M. A. (1999). A oliveira: Património Natural Transmontana. João Azevedo.
- Motilva, M.-J., & Romero, M.-P. (2010). The effect of the ripening process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (p. 59–68). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00007-3>
- Negro, C., Aprile, A., Luvisi, A., Nicolì, F., Nutricati, E., Vergine, M., Miceli, A., Blando, F., Sabella, E., & De Bellis, L. (2019). Phenolic profile and antioxidant activity of italian monovarietal extra virgin olive oils. *Antioxidants*, 8(6), 161. <https://doi.org/10.3390/antiox8060161>

- Ortega, M., Moreno, N., Fernández, C. E., & Pascual, S. (2021). Olive landscape affects *Bactrocera oleae* abundance, movement and infestation. *Agronomy*, 12(1), 4. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010004>
- Paredes, D., Alves, J. F., Mendes, S., Costa, J. M., Alves, J., da Silva, A. A., & Sousa, J. P. (2023). Landscape simplification increases *Bactrocera oleae* abundance in olive groves: Adult population dynamics in different land uses. *Journal of Pest Science*, 96(1), 71–79. <https://doi.org/10.1007/s10340-022-01489-1>
- Paulo, F., Tavares, L., & Santos, L. (2023). Olive mill pomace extract loaded ethylcellulose microparticles as a delivery system to improve olive oils oxidative stability. *Resources*, 12(1), 6. <https://doi.org/10.3390/resources12010006>
- Pavão, F. (2016). Olival tradicional de Trás-os-Montes e Alto Douro. Um futuro a preservar—Francisco Pavão. *Agroportal*. <https://www.agroportal.pt/olival-tradicional-de-tras-os-montes-e-alto-douro-um-futuro-a-preservar-francisco-pavao/>
- Pavão, F. A. (2018). Azeites de Portugal—Guia 2018. Azeite de qualidade produz-se no ameaçado olival tradicional, 58, 46–49.
- Pedan, V., Popp, M., Rohn, S., Nyfeler, M., & Bongartz, A. (2019). Characterization of phenolic compounds and their contribution to sensory properties of olive oil. *Molecules*, 24(11), 2041. <https://doi.org/10.3390/molecules24112041>
- Pereira, J. A., Alves, M. R., Casal, S., & Oliveira, B. (2004). Effect of olive fruit fly infestation on the quality of olive oil from cultivars cobrançosa, madural and verdeal transmontana. *Italian Journal of Food Science*, 355–365.
- Peres, A. M., Baptista, P., Malheiro, R., Dias, L. G., Bento, A., & Pereira, J. A. (2011). Chemometric classification of several olive cultivars from Trás-os-Montes region (northeast of Portugal) using artificial neural networks. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 105(1), 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2010.11.001>

- Pirovani, V. D., Martins, D. S., Souza, S. A. S., Uramoto, K., & Ferreira, P. S. F. (2010). Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae), seus parasitoides e hospedeiros em viçosa, zona da mata mineira. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77(4), 727–733. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p7272010>
- Regulamento de Execução (UE) 2022/2105 da Comissão de 29 de julho de 2022, 284 OJ L (2022). [http://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2022/2105/oj/por](http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2022/2105/oj/por)
- Reis, P. (2014). O olival em Portugal: Dinâmicas, tecnologias e relação com o desenvolvimento rural. *Animar/Projecto RURANIMAR*.
- Roca, M., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2001). Changes in chloroplast pigments of olive varieties during fruit ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 832–839. <https://doi.org/10.1021/jf0010001>
- Rodrigues, A., Batista, V., Nave, A., Matos, C., & Costa, C. A. D. (2019). Contributo para a elaboração de um modelo de somatório de temperaturas para a traça-da-oliveira, *Prays oleae* (Bernard). *Revista de Ciências Agrárias*, 111-118 Páginas. <https://doi.org/10.19084/RCA16185>
- Rodrigues, M. A., Fernandes, L. A., Claro, A. M., Ferreira, I. Q., & Arrobas, M. (2011). 3º Colóquio Nacional de Horticultura Biológica. Aplicação de um estimulante do vingamento dos frutos em olival, 60–66.
- Rodrigues, M. Â. R., & Correia, C. M. (2009). Manual da safra e contra safra do olival. Bragança. Em M. Rodrigues & J. Cabanas, *Manutenção do solo* (p. 41–58). Instituto Politécnico de Bragança.
- Rodrigues, N., Baptista, P., Casal, S., & Pereira, J. A. (2018). Azeites de Portugal—Guia 2018. Cv. Santulhana - Uma cultivar de oliveira a redescobrir, 58, 56–57.
- Rodrigues, N., Casal, S., Peres, A. M., Baptista, P., & Pereira, J. A. (2020). Seeking for sensory differentiated olive oils? The urge to preserve old autochthonous olive cultivars. *Food Research International*, 128, 108759. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108759>

- Rodrigues, N., Casal, S., Rodrigues, A. I., Cruz, R., Peres, A. M., & Pereira, J. A. (2022). Impact of frost on the morphology and chemical composition of cv. santulhana olives. *Applied Sciences*, 12(3), 1222. <https://doi.org/10.3390/app12031222>
- Rodrigues, N., Marx, Í. M. G., Casal, S., Dias, L. G., Veloso, A. C. A., Pereira, J. A., & Peres, A. M. (2019). Application of an electronic tongue as a single-run tool for olive oils' physicochemical and sensory simultaneous assessment. *Talanta*, 197, 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.055>
- Rodrigues, N., Oliveira, L., Mendanha, L., Sebti, M., Dias, L. G., Oueslati, S., Veloso, A. C. A., Pereira, J. A., & Peres, A. M. (2018). Olive oil quality and sensory changes during house-use simulation and temporal assessment using an electronic tongue. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 95(9), 1121–1137. <https://doi.org/10.1002/aocs.12093>
- Rosário, M. C. D. (2004). O sistema agrário de Trás-os-Montes e a modernidade sustentável. *Gestão e Desenvolvimento*, 237-257 Páginas. <https://doi.org/10.7559/GESTAOEDESENVOLVIMENTO.2004.114>
- Rossini, L., Bruzzone, O. A., Contarini, M., Bufacchi, L., & Speranza, S. (2022). A physiologically based ode model for an old pest: modeling life cycle and population dynamics of *Bactrocera oleae* (Rossi). *Agronomy*, 12(10), 2298. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102298>
- RStudio Team. (2020). RStudio: Integrated development environment for R [RStudio, PBC.]. <http://www.rstudio.com/>
- Sales, H., Šatović, Z., Alves, M. L., Fevereiro, P., Nunes, J., & Vaz Patto, M. C. (2021). Accessing ancestral origin and diversity evolution by net divergence of an ongoing domestication mediterranean olive tree variety. *Frontiers in Plant Science*, 12, 688214. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.688214>
- Seçmeler, Ö., & Galanakis, C. M. (2019). Olive fruit and olive oil. In *Innovations in Traditional Foods* (p. 193–220). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814887-7.00008-3>

- Siakou, M., Bruggeman, A., Eliades, M., Djuma, H., Kyriacou, M. C., & Moriana, A. (2022). Phenology, morphology and physiology responses of deficit irrigated ‘koroneiki’ olive trees as affected by environmental conditions and alternate bearing. *Agronomy*, 12(4), 879. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040879>
- Sicari, V., Leporini, M., Giuffré, A. M., Aiello, F., Falco, T., Pagliuso, M. T., Ruffolo, A., Reitano, A., Romeo, R., Tundis, R., & Loizzo, M. R. (2021). Quality parameters, chemical compositions and antioxidant activities of Calabrian (Italy) monovarietal extra virgin olive oils from autochthonous (Ottobratica) and allochthonous (Coratina, Leccino, and Nocellara Del Belice) varieties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 363–375. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00640-9>
- Tapia, C. F., & Meza A, F. (2020). Producción de aceite de oliva: Acercando la agroindustria a la pequeña olivicultura de la provincia de Elqui. *Agronomía del olivo*, 29–46.
- Trovão, R. de P., & Silva, R. da M. R. (2022). Azeite de oliva e suas propriedades funcionais: Uma revisão bibliográfica / Olive oil and its functional properties: a literature review. *Brazilian Journal of Development*, 8(6), 44245–44254. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n6-108>