

**TALITA ORRICO ROCHA**

**COMPOSTOS BIOATIVOS E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MORANGOS  
'OSO GRANDE' PRODUZIDOS EM SISTEMAS DE CULTIVO ORGÂNICO E  
CONVENCIONAL**

**BRASÍLIA**

**2010**

**Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Departamento de Nutrição  
Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana**

**TALITA ORRICO ROCHA**

**COMPOSTOS BIOATIVOS E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MORANGOS  
'OSO GRANDE' PRODUZIDOS EM SISTEMAS DE CULTIVO ORGÂNICO E  
CONVENCIONAL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição Humana, Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Departamento de Nutrição, Faculdade de ciências da saúde, Universidade de Brasília.

**Orientador: Dr. Celso Luiz Moretti**

**BRASÍLIA**

**2010**

**COMPOSTOS BIOATIVOS E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MORANGOS  
'OSO GRANDE' PRODUZIDOS EM SISTEMAS DE CULTIVO ORGÂNICO E  
CONVENCIONAL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição Humana, Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Departamento de Nutrição, Faculdade de ciências da saúde, Universidade de Brasília.

**APROVADA EM:**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Doutor Celso Luiz Moretti  
(Presidente da Banca – Embrapa Hortaliças)

---

Professora Doutora Wilma Maria Coelho Araújo  
(Membro Interno – Universidade de Brasília)

---

Doutora Leonora Mansur Mattos  
(Membro Externo – Embrapa Hortaliças)

---

Professora Doutora Kênia Mara Baiocchi de Carvalho  
(Membro Interno – Universidade de Brasília)

**BRASÍLIA  
2010**

**ROCHA, Talita Orrico**

Compostos bioativos e qualidade microbiológica de morangos ‘oso grande’ produzidos em sistemas de cultivo orgânico e convencional./Talita Orrico Rocha

Dissertação de Mestrado/ Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Departamento de Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.  
Brasília, 2010.

Área de Concentração: Nutrição Humana

Orientador: Dr. Celso Luiz Moretti

1.morango 2.orgânico 3.convencional 4.caracterização físico química 5.compostos fenólicos  
6. vitamina C.

Para Cleber, Artur e Vítor, por darem sentido a  
minha vida e tornarem possível a realização de  
um sonho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, saúde e força nos momentos difíceis.

Ao meu marido, Cleber por seu companheirismo e amor incondicional e aos meus filhinhos, Vitor e Artur por trazerem sentido a tudo que faço.

Ao meu orientador, Dr. Celso por não só me orientar, mas também, pela amizade, afeto e generosidade ofertados nos momentos difíceis, sinceros agradecimentos.

A Dra. Leonora pela impagável contribuição, amizade e carinho.

A minha mãe Noemia e as minhas irmãs Ruth e Neblina e também ao meu cunhado Ruthiere pelo apoio e ajuda.

Aos meus irmãos, Isaac e Jonas, ao meu pai, Jeremias, a minha cunhada, Aline e aos meus sogros, Sônia e Eduardo pelo apoio.

As colegas do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Católica de Brasília, Lívia, Natália, Márcia, Andreia, Alinne, Giselle, e a do Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Hortaliças, Bianca pela colaboração nos experimentos.

Ao colega Marcos Sodré pela ajuda no experimento da qualidade microbiológica e grande amizade.

A Ester pela colaboração e ajuda.

A Dra. Marileusa pelo apoio e orientação em alguns momentos.

Aos amigos, Ramá, Thiago, Mízia, Douglas, Nilton, Liane, Joana e Viviane por toda ajuda e apoio.

A Embrapa Hortaliças, ao CNPq, MCT, a CAPES e a Universidade Católica de Brasília pelo fomento.

A Universidade de Brasília pela oportunidade.

Aos produtores de morango de Brazlândia, Sr. Divino e José Ricardo, pelos morangos para a realização do estudo.

E a todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Morangos são fontes de substâncias bioativas, entre elas vitamina C e compostos fenólicos. Os fatores ambientais afetam a qualidade dos morangos bem como a sazonalidade e sua curta vida pós-colheita. Foi um dos objetivos deste trabalho avaliar as características físico-químicas e a presença de compostos bioativos comparando-os entre sistemas de cultivo orgânico, convencional e períodos de colheita. Foram utilizados morangos ‘Oso Grande’ cultivados na cidade de Brazlândia/ DF nos sistemas orgânico e convencional. Foram feitas quatro colheitas ao longo do ano de 2008. Os morangos foram analisados quanto à cor, firmeza, massa média, umidade, acidez titulável, sólidos solúveis totais, pH, fenólicos totais, antocianinas totais, ácido elágico total e vitamina C total. Não houve diferenças entre médias ao nível de significância de 0,05 pelo teste de Tukey, em nenhuma variável analisada quando comparadas entre sistemas de cultivo. Sólidos solúveis totais e massa média variaram entre períodos de colheita, sendo os meses de maio e julho os mais indicados para essa prática. Baseando-se neste estudo morangos ‘Oso Grande’ o sistema de cultivo não foi capaz de subtrair ou adicionar teores ou atributos. Também foi objetivo deste estudo avaliar a qualidade microbiológica do morango produzido em sistema de cultivo orgânico e convencional em Brasília. Para o experimento foi utilizado o plano de amostragem representativa descrito na Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA. A presença de *Salmonella* sp. foi detectada em três marcas, sendo que no cultivo orgânico foi detectado em duas marcas. Não foram observadas contagens significativas para Coliformes a (45°C). O lote de morango da marca B, E e F foram considerados como impróprio para o consumo humano por apresentar microrganismo patogênico que representa perigo severo à saúde do consumidor. A implementação de medidas que visem o controle da inocuidade dos alimentos para o consumidor devem ser implantados do campo até o ponto de comercialização principalmente com a adoção do programa de Boas Práticas Agrícolas em toda cadeia produtiva e Boas Práticas de Fabricação.

## ABSTRACT

Strawberries are a source of bioactive substances, including vitamin C and phenolic compounds. Environmental factors affect the quality of strawberries as well as seasonality and short shelf-life. It was one of the objectives of this study to evaluate the physicochemical characteristics and the presence of bioactive compounds by comparing them between organic farming systems, conventional and harvest periods. We used strawberries 'Oso Grande' grown in the city of Brazlândia / DF in organic and conventional. Four harvests were made during the year 2008. The strawberries were analyzed for color, firmness, average weight, moisture, acidity, soluble solids, pH, total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and total vitamin C total. No differences between the average level of 0.05 by Tukey test in any variable analyzed compared between cropping systems. Soluble solids and average weight ranged between harvest periods, with the months of May and July the most suitable for this practice. Based on this study strawberries 'Oso Grande' cultivation system was unable to add or subtract content or attributes. Also aim of this study was to evaluate the microbiological quality of strawberries produced in the system of organic and conventional crops in Brasilia. For the experiment we used representative sampling plan described in Resolution No. 12, January 2, 2001 ANVISA. The presence of Salmonella sp. was detected in three brands, whereas in organic farming was detected in two brands. There were no significant scores for the coliforms (45 ° C). The batch of strawberry mark B, E and F were considered unfit for human consumption by pathogenic microorganisms that are present severe danger to consumer health. The implementation of measures to control food safety should be deployed from the field to the consumer's table especially with the adoption of Good Agricultural Practices program throughout the production chain and Good Manufacturing Practices.

## SUMÁRIO

|  |      |
|--|------|
| RESUMO .....                                     | vii  |
| ABSTRACT .....                                   | viii |
| SUMÁRIO .....                                    | ix   |
| LISTA DE FIGURAS .....                           | xi   |
| LISTA DE TABELAS .....                           | xii  |
| APRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DO TRABALHO .....      | xiii |
| PARTE I.....                                     | 14   |
| 1. INTRODUÇÃO .....                              | 14   |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA .....                   | 15   |
| 2.1 MORANGO .....                                | 15   |
| 2.1.1 HISTÓRICO E DESCRIÇÃO BOTÂNICA.....        | 15   |
| 2.1.2 SISTEMAS DE CULTIVO.....                   | 17   |
| 2.1.3 ASPECTOS NUTRICIONAIS DO MORANGO .....     | 19   |
| 2.1.4 CULTIVAR OSO GRANDE .....                  | 20   |
| 2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS .....                    | 20   |
| 2.2.1 COMPOSTOS FENÓLICOS EM MORANGOS .....      | 21   |
| 2.2.3 ÁCIDO ASCÓRBICO EM MORANGOS .....          | 24   |
| 2.2.3 ANTOCIANINAS EM MORANGOS.....              | 25   |
| 2.3 SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA .....               | 25   |
| 3. OBJETIVOS.....                                | 28   |
| 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                  | 28   |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS .....                      | 29   |
| 4.1 OBTENÇÃO DOS MORANGOS PARA AS ANÁLISES ..... | 29   |
| 4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....           | 29   |
| 4.2.1 Cor.....                                   | 30   |
| 4.2.2 Firmeza.....                               | 30   |
| 4.2.3 Massa Média .....                          | 30   |
| 4.2.4 Umidade .....                              | 31   |
| 4.2.5 Acidez Titulável .....                     | 31   |
| 4.2.6. Sólidos Solúveis Totais .....             | 31   |
| 4.2.7 pH.....                                    | 31   |
| 4.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS .....   | 31   |
| 4.3.1 PREPARO DOS EXTRATOS .....                 | 31   |
| 4.3.2 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....    | 31   |
| 4.3.3 TEORES DE ANTOCIANINAS TOTAIS .....        | 32   |
| 4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS .....               | 33   |
| 4.4.1 Preparo das amostras e diluições.....      | 34   |
| 4.4.5 Determinação de Coliformes a 45 °C .....   | 34   |
| 4.4.6 Determinação <i>Salmonella</i> sp.....     | 34   |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....              | 35   |
| PARTE II.....                                    | 45   |

|  |    |
|--|----|
| CAPITULO I.....                              | 45 |
| Resumo.....                                  | 45 |
| Abstract .....                               | 45 |
| 1. INTRODUÇÃO .....                          | 46 |
| 1. MATERIAL E MÉTODOS .....                  | 48 |
| 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....              | 50 |
| 2.1 Caracterização Físico-Química .....      | 50 |
| 2.1.1 Cor.....                               | 50 |
| 2.1.2 Firmeza.....                           | 50 |
| 2.1.5 Acidez Titulável (AT).....             | 52 |
| 2.1.6 pH.....                                | 52 |
| 2.2 Compostos Bioativos.....                 | 53 |
| 2.2.1 Fenólicos Totais .....                 | 53 |
| 2.2.3 Antocianinas Totais.....               | 54 |
| 2.2.4 Vitamina C Total.....                  | 54 |
| 3. CONCLUSÕES.....                           | 58 |
| 4. REFERÊNCIAS .....                         | 58 |
| CAPITULO II .....                            | 62 |
| RESUMO .....                                 | 62 |
| ABSTRACT .....                               | 62 |
| 1. INTRODUÇÃO .....                          | 63 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS .....                  | 65 |
| 2.1 Preparo das amostras e diluições.....    | 65 |
| 2.2 Determinação de Coliformes a 45 °C ..... | 65 |
| 2.3 Determinação <i>Salmonella</i> sp.....   | 66 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....              | 66 |
| 4. CONCLUSÕES.....                           | 68 |
| 5. REFERÊNCIAS .....                         | 69 |

**LISTA DE FIGURAS****PARTE I**

|   |    |
|---|----|
| <b>FIGURA 01.</b> Detalhamento do fruto do morango.....   | 10 |
| <b>FIGURA 02.</b> Morangos ‘Oso Grande’ bandejas de 300 g/ colhidos em agosto de 2008 (C3)..... | 29 |

**LISTA DE TABELAS****PARTE I****TABELA 01.** Valor nutricional do morango *Fragaria ananassa* fresco (100 g).....19**PARTE II****TABELA 01.** Caracterização físico-química e compostos bioativos de morangos ‘Oso Grande’ em relação ao sistema de cultivo.....53**TABELA 02.** Compostos Bioativos de morangos ‘Oso Grande’ em relação ao sistema de cultivo.....50**TABELA 03.** Compostos Bioativos de morangos ‘Oso Grande’ em relação ao sistema de cultivo.....51

## **APRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DO TRABALHO**

A dissertação foi dividida em três partes e estruturada da seguinte forma:

### **PARTE I**

Introdução

Revisão de Literatura

Objetivos

Objetivos Específicos

Material e Métodos

Referências Bibliográficas

### **PARTE II**

#### **Capítulo I**

Compostos Bioativos e Caracterização Físico-Química de Morangos ‘Oso Grande’ Produzidos em Sistemas de Cultivo Orgânico e Convencional no Distrito Federal.

#### **Capítulo II**

Qualidade Microbiológica de Morangos ‘Oso Grande’ Cultivados em Sistema Orgânico e Convencional Comercializados no Distrito Federal.

### **PARTE III**

Conclusões

## PARTE I

### 1. INTRODUÇÃO

As frutas e hortaliças desempenham um importante papel na alimentação humana. São fontes naturais de vitaminas e sais minerais, além de fornecerem fibras e compostos bioativos que contribuem para a prevenção de doenças.

O morango, como uma dessas fontes, é uma cultura muito importante no cenário agrícola e nutricional na região do Distrito Federal. A infrutescência é consumida *in natura* e como ingrediente de inúmeras preparações. Sua coloração, aroma e sabor, assim como suas propriedades nutricionais fazem do morango um produto muito apreciado pelos consumidores.

Estudos revelam que o morango apresenta atividades antioxidante, antiinflamatória, anticarcinogênica e antineurodegenerativa. As substâncias relacionadas a essas propriedades são o ácido ascórbico, abundantemente presente na polpa, e os compostos fenólicos, principalmente o ácido elágico, que é o principal composto deste fruto.

Um boletim informativo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), lançado em 2002, com dados de pesquisas que apresentam o morango como uma das culturas com maior presença de resíduos de agrotóxicos, contribuiu para uma nova percepção dos consumidores em relação aos sistemas de cultivo e a sua influência sobre a saúde humana.

O morango cultivado em sistema orgânico surge como uma alternativa, porém, por se tratar de uma planta rasteira, torna-se um produto muito suscetível a contaminação microbiológica, agravada pela ausência das boas práticas agrícolas e más condições de transporte e armazenamento.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e avaliar a qualidade microbiológica de morangos ‘Oso Grande’ cultivados em plantações comerciais nos sistemas orgânico e convencional no Distrito Federal, bem como por períodos de colheita.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 MORANGO

#### 2.1.1 HISTÓRICO E DESCRIÇÃO BOTÂNICA

O morangueiro cultivado nos dias atuais, *Fragaria x ananassa* Duchene (família *Rosaceae*, subfamília *Rosoideae*, tribo *Potentilleae*), originou-se do cruzamento entre as espécies silvestres *Fragaria chiloensis* (procedente do Chile) e *Fragaria virginiana* (procedente da América do Norte), ocorrido, casualmente, nas proximidades de Brest, na França, possivelmente por volta de 1750.

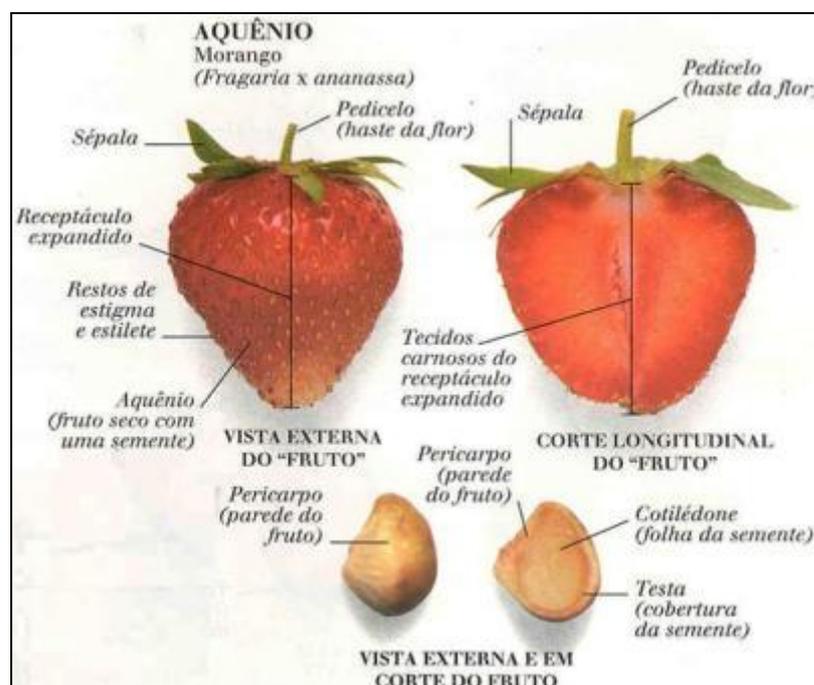
O gênero *Fragaria* compreende dezessete espécies silvestres, classificadas quanto ao nível de ploidia, com número cromossômico básico igual a sete ( $x = 7$ ). A espécie *Fragaria x ananassa* Duch. é octaplóide ( $2n = 8x = 56$ ). Brighhurst (1990) sugeriu a fórmula genômica AAA'A'BBB'B' ( $2A2A'2B2B'$ ) aos octaplóides *F. x ananassa*, *F. chiloensis* e *F. virginiana*, devido às evidências citológicas e genéticas de que estas espécies sejam poliplóides dissômicos, com comportamento meiótico similar ao dos diplóides. O genoma A é considerado homólogo ao genoma do diplóide *F. vesca* (SENANAYAKE & BRINGHURST, 1967; BRIGHURST, 1990).

O morangueiro produz flores bissexuais e auto-férteis (CRANE & WALKER, 1984) e os morangos resultam do desenvolvimento do receptáculo floral. Nitsch (1950) verificou que os aquênios são fontes ricas em hormônio vegetal que controlam o crescimento do receptáculo e, para que isso ocorra o óvulo contido no aquênio tem que ser fertilizado. Flores completamente fertilizadas resultam em frutos bem formados, de bom tamanho e maturação precoce, sendo o seu peso proporcional ao número de óvulos fecundados (NITSCH, 1950; CHAGNON et al., 1989). A polinização das flores de morangueiro resulta da ação combinada da gravidade e do vento (CONNOR, 1970). Entretanto, a taxa de polinização dos aquênios raramente supera 60%, se não houver transporte de pólen pelos insetos (PION et al., 1989 apud CHAGNON et al., 1993). *Apis mellifera* é considerada o polinizador para diferentes cultivares (CHAGNON et al., 1989) e, algumas espécies de Meliponina têm sido utilizadas com sucesso na polinização de morangueiro em estufa e, revelaram ser tão eficientes quanto *A. mellifera* (MAETA et al., 1992; MALAGODI-BRAGA & KLEINERT, 2004).

A produção de morangos (*Fragaria x ananassa*) no Brasil tem crescido nos últimos anos. Apesar dos dados estatísticos não serem precisos, estima-se uma produção anual de

105.000 toneladas, com área ocupada de aproximadamente 3.500 ha. Entretanto o volume de exportação desta rosácea é extremamente baixo (ANUÁRIO, 2006).

O interesse comercial pelo morangueiro é grande em muitos países. Sua coloração, aroma e sabor, assim como suas propriedades nutritivas, fazem do morango um produto muito apreciado pelos consumidores (ALMEIDA et al., 1999). Na Figura 01 estão detalhes morfológicos do fruto.



**FIGURA 01.** Detalhamento do fruto do morango (HOFFMANN, 2003).

A produção mundial de morangos vem crescendo em números absolutos nos últimos anos. No período de 1997 a 2006, a produção cresceu 29%, enquanto a área plantada apresentou um crescimento de 18%. Em 2006 a produção mundial foi estimada em 3,9 milhões toneladas, para uma área total plantada de 262.165 hectares (FAO, 2008).

Os seis principais países em produção e produtividade de morango são, respectivamente, Estados Unidos (740.800 t; 41t ha<sup>-1</sup>), Espanha (306.000 t; 38t ha<sup>-1</sup>), Japão (200.000 t; 25 t ha<sup>-1</sup>), Itália (172.600 t; 23,5 t ha<sup>-1</sup>), Coreia do Sul (151.200 t; 20,5 t ha<sup>-1</sup>) e Polônia (145.000 t; 3t ha<sup>-1</sup>) (SANTOS & MEDEIROS, 2003).

No Brasil, a cultura encontra-se difundida em regiões de clima temperado onde se produz morango para consumo *in natura* e também para industrialização. Trata-se de uma

importante atividade econômica, principalmente em pequenas propriedades rurais que utilizam mão-de-obra familiar (RADMANN et al, 2006).

A produção brasileira alcançou um volume superior a 90 mil toneladas no ano de 1999. Os três principais Estados produtores são Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul, onde são produzidos 80% do morango brasileiro. A produtividade média da cultura no Brasil é de 25 t ha<sup>-1</sup>, sendo quase a totalidade dessa produção proveniente do cultivo no solo (SANTOS & MEDEIROS, 2003). Essa produtividade situa-se abaixo daquela obtida em outros países, de até 70 toneladas por hectare, mas é comparável àquela obtida em alguns dos principais países produtores (HENNION & VESCHAMBRE, 1997; BARUZZI & FAEDI, 1998; LIETEN, 1998; LIETEN et al., 2004).

No Distrito Federal, a produção agrícola do morango é maior na região administrativa de Brazlândia que é responsável por quase um terço do total do plantio de frutas da região. Os dados são da safra de 2004, de acordo com a Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (Emater-DF, 2008), sendo o principal motor econômico local. A região é responsável pela produção de 99% dos morangos produzidos no DF.

Ainda segundo a Emater, em 2008, Brazlândia foi o maior centro produtor de morangos da região Centro-Oeste. A área produtiva é de 100 hectares onde são gerados, no pico da safra em agosto e setembro, mais de 1.000 empregos diretos, produzidos por 120 produtores. No período da safra de maio a outubro, a produção chega a mais de 3.000 toneladas. As principais variedades do morango são Oso Grande, Camarosa, Camino Real, Festival e Aromas, entre outras cultivadas em menor escala. A produção da hortaliça em Brazlândia abastece o mercado de Brasília e Entorno e é exportada para Salvador, Goiânia, Belém e Manaus.

No Distrito Federal, a cultura do morango é predominantemente produzida em sistema convencional havendo alguns produtores que praticam o cultivo sistema orgânico com selo de agência certificadora.

### **2.1.2 SISTEMAS DE CULTIVO**

Segundo Trivellato e Freitas (2003), a agricultura é uma atividade que surgiu há cerca de 10 mil anos em terrenos aluviais de alta fertilidade. É uma atividade considerada recente na história da humanidade. O crescimento da população criou a necessidade de que outros ecossistemas passassem a ser utilizados para a obtenção de alimentos. Cada ecossistema possuía suas peculiaridades, porém, de forma geral, a nutrição vegetal era

baseada em processos biológicos, como ciclagem da biomassa, incorporação de resíduos vegetais e animais ao solo, rotação de culturas, pousio, adubação verde e compostagem.

Os mesmos autores referem ainda que só há dois séculos houve a introdução da química na produção agrícola, em 1840, quando Liebig introduziu sua hipótese anti-humista da nutrição de plantas gerando o desenvolvimento da química agrícola e que em conjunto com o desenvolvimento industrial, proporcionou, anos depois, o surgimento do modelo de agricultura atual. Esse modelo é considerado por alguns autores como altamente dependente de energia, centrado no uso intenso de insumos químicos, máquinas, equipamento mecânico e sementes melhoradas, que se denomina hoje Agricultura Convencional.

Tal modelo de produção vem gerando uma série de controvérsias sociais, tendo em vista que possibilita uma maior produtividade de alimentos, mas concomitantemente desencadeia um desgaste ambiental insustentável. Atualmente, há um esforço entre os governantes e pesquisadores na busca de alternativas mais sustentáveis e ao mesmo tempo viáveis economicamente, porém esse processo caminha de forma lenta.

Outros modelos de cultivo vêm se mostrando capazes de produzir alimentos em escala significativa e, ao mesmo tempo, se mostram capazes de proporcionar melhor sustentabilidade ambiental. Entre eles está a Agricultura Orgânica que, segundo Ormond (2002), é o conjunto de processos de produção agrícola que é baseado na fertilidade, função direta da matéria orgânica contida no solo por meio da ação de microorganismos presentes nos compostos biodegradáveis existentes ou colocados no solo viabilizando o suprimento de elementos minerais e químicos necessários ao desenvolvimento dos vegetais cultivados. Complementarmente, consiste na existência de uma abundante fauna microbiana que diminui os desequilíbrios resultantes da intervenção humana na natureza.

No Brasil, a agricultura orgânica vem crescendo rapidamente desde 1990, tanto em área cultivada, como em número de produtores e mercado consumidor. Esse crescimento se deve, principalmente, ao fato da agricultura convencional basear-se na utilização intensiva de produtos químicos e à maior consciência de parcela dos consumidores quanto aos efeitos adversos que os resíduos de produtos químicos podem causar à saúde. Entretanto, o mercado de produtos orgânicos apresenta algumas dificuldades como: baixa escala de produção e, ainda, necessidade do pagamento da certificação, fiscalização e assistência técnica que, diferentemente do sistema convencional, representam custos adicionais aos produtores (DAROLT, 2003).

Boletim informativo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com dados de pesquisas em que apresenta o morango como uma das culturas com maior presença

de resíduos de agrotóxicos, contribuiu para uma nova percepção dos consumidores em relação aos sistemas de cultivo e a sua influência sobre a saúde humana (ANVISA, 2009).

### 2.1.3 ASPECTOS NUTRICIONAIS DO MORANGO

As frutas e hortaliças desempenham um papel muito importante em nossa alimentação. São fontes naturais de vitaminas e sais minerais, além de fornecerem fibras e compostos bioativos que contribuem para a prevenção de doenças. Recomenda-se a ingestão de 3 a 4 porções de frutas e 4 a 5 porções de hortaliças ao dia (TRIPLOV, 2006). O consumo do morango pode suprir a carência de minerais e vitaminas C e do Complexo B. Na tabela 01 estão os teores de nutrientes em 100 g do fruto fresco.

**TABELA 01.** Valor nutricional do morango *Fragaria ananassa* fresco (100 g)

| <b>Informação Nutricional</b> | <b>Quantidade em 100g</b> |
|-------------------------------|---------------------------|
| Valor energético (Kcal)       | 39,0                      |
| Glicídios (g)                 | 7,4                       |
| Proteína (g)                  | 1,0                       |
| Lipídios (g)                  | 0,60                      |
| Enxofre (mg)                  | 11,5                      |
| Sódio (mg)                    | 31,5                      |
| Iodo ( $\mu\text{g}$ )        | 0,16                      |
| Fósforo (mg)                  | 22,0                      |
| Cobre (mg)                    | 0,20                      |
| Vitamina B1 ( $\mu\text{g}$ ) | 30,0                      |
| Vitamina C (mg)               | 72,8                      |
| Ferro (mg)                    | 0,90                      |
| Zinco (mg)                    | 0,23                      |
| Potássio (mg)                 | 155,2                     |
| Vitamina A ( $\mu\text{g}$ )  | 3,00                      |
| Niacina ( $\mu\text{g}$ )     | 0,400                     |

Adaptado por Pineli (2009) de Sanhueza et al., (2006).

É reportado, ainda, que o morango apresenta atividade antioxidante, antiinflamatória, anticarcinogênica e antineurodegenerativa (HANNUM, 2004). Estudos revelam que as

substâncias relacionadas a essas propriedades são o ácido ascórbico, abundantemente presente na polpa, e os compostos fenólicos, principalmente o ácido elágico.

#### **2.1.4 CULTIVAR OSO GRANDE**

A cultivar Oso Grande caracteriza-se por ser de dias curtos e de grande adaptabilidade, tendo origem na Universidade da Califórnia, EUA, em 1987.

É uma planta com folhas grandes, elevada capacidade produtiva, coloração verde-escura e com ciclo mediano. Produz morangos de tamanho grande, doce, polpa com textura firme no início da produção e mediana ao fim da colheita. Possui boa aceitação por sua coloração vermelho-clara e, por ser extremamente aromática e com sabor subácido, é próprio para o consumo “*in natura*” (SANTOS,1999)

#### **2.1.5 COMPOSTOS BIOATIVOS**

Compostos bioativos são constituintes extranutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos, sendo em sua maioria metabólitos secundários. Geralmente, estão relacionados com os sistemas de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta ou as agressões de insetos ou patógenos. Como existem em grande número, eles podem ser subdivididos em grupos com milhares de compostos distintos. Algumas substâncias são próprias de alguma espécie ou gênero de plantas, outras são unidas por um complicado critério de classificação (MANACH, 2004; LAJOLO, 2009).

Essas substâncias exercem várias ações do ponto de vista biológico, como atividade antioxidante, modulação de enzimas de detoxificação, estimulação do sistema imunológico, redução da agregação plaquetária, modulação do metabolismo hormonal, redução da pressão sanguínea, atividade antibacteriana e antiviral (CARRATU, 2005 apud LAJOLO, 2009).

## **2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS**

Compostos fenólicos contêm anéis aromáticos ligados a um grupo hidroxila e variam de simples moléculas a grandes oligômeros. Nas plantas, os compostos fenólicos atuam como componentes estruturais, além de apresentarem atividades antioxidante (NATELLA et al., 2002; RICE-EVANS et al., 1996), antimicrobiana, antiviral e anticarcinogênica (KHANDUJA et al., 1999; KAUL & KANDHUJA, 1998, STRUBE et al., 1993).

As classes de fenólicos encontradas na dieta humana são os flavanóis (catequina, epicatequina e epicatequina galato, componentes dos chás verde e preto e do vinho tinto); flavononas (como a hesperidina, encontrada em alguns frutos cítricos); flavonóis (kaempferol, miricetina, rutina e quercetina, encontrados em brócoli, cebola, frutas vermelhas e vinho

tinto); flavonas (isoflavonas da soja, principalmente genisteína e daidzeína), antocianidinas (como as cianidinas das frutas vermelhas), e fenilpropanóides (como os ácidos caféico, elágico e clorogênico, presentes em café, batatas e morangos).

Flavonóides são pigmentos que proporcionam cores atrativas em frutos e flores o que parece estar associado às funções de defesa e atração de polinizadores nos vegetais (SANTOS, 2007). Alguns deles combatem efetivamente radicais livres e íons metálicos. Mais de 8.000 compostos fenólicos foram descritos em plantas (URQUIAGA & LEIGHTON, 2000).

Polifenóis de chá preto, por exemplo, acarretam o decréscimo dos níveis de colesterol LDL e a sua oxidação em ratos, além de aumentar os níveis de colesterol HDL (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999). Além disso, os mesmos polifenóis podem ser benéficos para tratamentos de desordens arteroscleróticas, hipertensão e diabetes tipo 2 (ZWART et al., 1999). Outros estudos têm reportado o aumento na proteção contra o estresse oxidativo em células vermelhas do sangue pelos polifenóis. Fenólicos de framboesa reduziram experimentalmente a formação induzida de radicais livres nessas células em estudo *in vitro*, que seguia um modelo de dieta em ratos machos de 6 meses de idade. Polifenóis podem prover proteção contra radicais livres em vários sistemas celulares. Também exibem efeitos citostáticos e citotóxicos em tumorigênese, sendo alguns capazes de inibir a invasão de células altamente metastáticas (HERMES-LIMA, 2004b). Polifenóis também inibem a atividade de diversas enzimas, incluindo as lipoxigenases, ciclooxigenases, monooxigenases, colagenases, xantina oxidase, proteína quinases e também aumenta a atividade de enzimas oxidantes, como a superóxido dismutase. Adicionalmente, podem melhorar respostas anti-inflamatórias. Flavonóides podem ainda inibir ou impedir a formação de radical hidroxil, pela reação de Fenton, dependendo do potencial redox do antioxidante e dos íons metálicos envolvidos na oxidação (FENTON, 1984). A maioria dos polifenóis quelam metais, por exemplo ácido tânico, podem quelar  $Fe^{+2}$  e impedir sua reação com  $H_2O_2$ .

### **2.2.1 COMPOSTOS FENÓLICOS EM MORANGOS**

A variação dos teores de fenólicos em cultivares de morango foi reportada previamente por Stohr & Herrmann (1975).

Analisando compostos fenólicos em morangos, Seeram et al. (2006) identificaram por HPLC o ácido elágico, o ácido elágico glicosilado, as elagitaninas, as galatotaninas, as antocianinas, os flavonóides e o cumaroil glicosilado. As antocianidinas identificadas foram

pelargonidina e cianidina. A maior parte dos flavonóides aglicona encontrada foi quercetina e kaemperol.

Pajk et al. (2006) demonstraram que a suplementação com tomate, morango ou maçã efetivamente acarretou o decréscimo do estresse oxidativo em porcos pela redução da formação de malondialdeído (MDA) no corpo e pela proteção das células vermelhas mononucleadas contra danos ao DNA. O efeito foi particularmente pronunciado em grupos que receberam a mistura dos frutos. Em tecidos de morango foi associada a substâncias polifenólicas a inibição da degradação do ácido indolbutírico (AIA) pela peroxidase, em presença de luz.

Choi et al. (2006) observaram que sucos de morango, couve e alho foram efetivos na redução da formação de N-nitrosodimetilamina, composto potencialmente carcinogênico, em uma dieta rica em aminas e nitratos. Estudos recentes têm demonstrado que extratos de morango e frutas vermelhas do gênero *Vaccinium* apresentam efeitos antioxidativos e anticarcinogênicos *in vitro*, que são parcialmente atribuídos aos teores de compostos fenólicos desses frutos.

De acordo com Wang et al. (1996), a maior atividade antioxidante, medida como capacidade de absorção de radical oxigênio –ORAC, foi observada em morangos, durante estudo que avaliou 12 frutas e 5 sucos. Kähkönen et al. (1999) reportaram que 15 extratos de frutas vermelhas, incluindo 3 cultivares de morango, exibiram alto teor de fenólicos e alta capacidade antioxidante, comparado aos extratos de outras plantas.

Häkkinen et al. (1999) identificaram e quantificaram por HPLC flavonóides e ácidos fenólicos em morangos e concluíram que o ácido elágico é seu principal componente fenólico, representando 51% do total de fenólicos analisados. Constituinte fenólico de algumas espécies, o ácido elágico é um hidrolito de elagitanina e derivado do ácido gálico que ocorre naturalmente, especialmente em morango, uva e nozes (WANG et al., 1994, DANIEL et al., 1989).

Foi demonstrado que o ácido elágico possui funções antimutagênica e anticancerígena, além de ser um potente inibidor da indução química do câncer (MAAS et al., 1992, citado por WANG et al., 1994; MAAS et al., 1991). De acordo com Castongay et al. (1997), o ácido elágico tem sido efetivo na prevenção de câncer induzido pelas substâncias do cigarro.

Investigações preliminares revelaram que a ingestão de alimentos contendo elagitaninas, como morangos e amoras, inibiram eventos associados com a iniciação e promoção ou progressão de câncer de cólon e oesofageal (HARRIS et al., 2001; KRESTY et al., 2001; STONE et al., 1999). Todavia, o mecanismo de proteção não está claramente

elucidado. Larrosa et al. (2005) estudaram o efeito de elagitaninas e ácido elágico na apoptose de células de câncer de cólon humanas e células normais, sendo observado o efeito protetor do ácido elágico, obtido, também, no intestino grosso pela hidrólise das elagitaninas. A atividade antiproliferativa e de indução de apoptose do ácido elágico também foi observada em células de carcinoma cervical, leucemia e de cânceres de mama e próstata (LI et al., 2005; LOSSO et al., 2004; MERTENS-TALCOTT et al., 2005; NARAYNAYAN et al., 1999).

O ácido elágico e algumas elagitaninas têm apresentado propriedades inibidoras contra replicação do vírus HIV transmissor da Aids (MAAS et al., 1991a). Estudos com ratos sugerem que a elagitanina oenotherin B pode ser usada por via oral para inibir o HIV e o vírus da herpes (ASANAKA et al., 1988, citado por MAAS et al., 1991b).

Yu et al. (2005) estudaram o efeito da ingestão do ácido elágico, em coelhos hiperlipidêmicos, na prevenção da arterosclerose, e seus resultados indicaram o efeito protetor via supressão do estresse oxidativo e aumento da apoptose.

Häkinnen & Törrönen (2000) avaliaram a influência das técnicas de cultivo e verificaram que o cultivo orgânico não afetou significativamente o teor de fenólicos em morangos, quando comparado ao sistema convencional.

Zheng et al. (2006) avaliaram as alterações nos teores de compostos fenólicos, antocianinas e capacidade antioxidante de morangos estocados a 5 °C e expostos ao ar e a grandes pressões de oxigênio durante 14 dias. Os autores reportaram um aumento na atividade antioxidante e nos teores de fenólicos totais e antocianinas totais aos 7 dias de armazenamento em morangos estocados com pressão de oxigênio superior a 60 kPa. Investigando o efeito de temperaturas de armazenamento em capacidade antioxidante de morangos, Ayala-Zavala et al. (2004) concluíram que frutos estocados a 5 e 10 °C apresentaram maiores teores de fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante do que frutos armazenados a 0 °C, apesar de as demais características de qualidade comercial terem sido mais bem preservadas à temperatura mais baixa. Cordenunsi et al. (2005) estudaram o efeito da temperatura de armazenamento na composição química e na atividade antioxidante de morangos das cultivares Dover, Campineiro e Oso Grande, produzidos no Brasil, e verificaram um aumento nos teores de antocianinas e vitamina C com o tempo, cujos teores foram diretamente proporcionais à temperatura de estocagem. Os teores de ácido elágico, flavonóides e fenólicos totais não se alteraram e em alguns casos sofreram leves decréscimos sob todas as temperaturas avaliadas (6, 16 e 25°C). Apesar da diferença nos teores de antocianinas entre cultivares e do aumento nos seus teores, os autores não observaram diferença na capacidade antioxidante entre os materiais, que decresceram com o

tempo independente da temperatura de estocagem, o que provavelmente está correlacionado o decréscimo de ácido elágico e outros fenólicos.

A redução da atividade antioxidante durante o processamento e estocagem pode reduzir os efeitos benéficos à saúde em produtos alimentícios. O efeito do processamento na capacidade antioxidante de morango, medida em Habilidade de Redução de Ferro do Plasma (FRAP) foi avaliada em geléias por Wicklund et al. (2005). Como conclusão, os autores observaram um decréscimo nos teores de antocianinas durante 3 meses de armazenamento e maiores teores de antocianinas e capacidade total antioxidante em geléias estocadas a 4°C do que em geléias a 20°C. Não houve diferença entre os armazenamentos sob luz ou no escuro. Adicionalmente, houve grande diferença na capacidade antioxidante de geléias fabricadas com diferentes cultivares de morango.

### **2.2.3 ÁCIDO ASCÓRBICO EM MORANGOS**

A Vitamina C (ácido ascórbico) desempenha um papel importante no organismo humano, como formação do tecido conjuntivo, transporte de íon, e proteção celular contra radicais livres. Nas plantas, ela também desempenha um papel protetor contra as espécies reativas de oxigênio que são formadas a partir de processos fotossintéticos e respiratórios (SMIRNOFF, 1996; LEE & KADER, 2000). Esta vitamina é um nutriente essencial por não ser sintetizada pelo organismo humano, tendo de ser fornecida por meio da dieta ou medicamento. A vitamina C é amplamente encontrada nas folhas verdes escuras como brócolis e espinafre e em frutos, principalmente na laranja, limão, acerola e morango.

Em estudos comparativos entre sistemas de produção orgânica e convencional observaram-se resultados divergentes quanto ao teor de vitamina C nos alimentos. Leclere (1991) relatou altos níveis de vitamina C em alimentos orgânicos. Entretanto, Cayuela (2003) observou em estudos sobre alimentos orgânicos redução de vitamina C e em alguns casos que não houve diferenças significativas dessa vitamina.

Weibel et al.(1986), em estudo com controle de variáveis externas realizado na Suíça, compararam maçãs ‘Golden Delicious’ e avaliaram características de qualidade física e química. Os autores observaram que para a maioria das variáveis analisadas houve similaridade entre os sistemas orgânico e convencional, sobretudo em relação à qualidade visual do produto. Entretanto, os autores destacaram que as frutas cultivadas em sistema orgânico apresentaram significativamente valores mais altos para alguns aspectos em relação ao sistema convencional, como 31,9% de fósforo nas frutas frescas; 14,1% de firmeza (tempo de armazenamento 12% superior); 8,5% de fibras; 18,6% de compostos fenólicos (maior

proteção natural ao organismo); 15,4% superior em teste sensorial que avaliou sabor e aroma, firmeza da polpa e casca; quantidade de suco e conteúdo de açúcar. Por outro lado, os autores não constataram diferenças significativas entre maçãs de sistemas de cultivo orgânico e convencional para os teores de vitaminas.

São multifatoriais as variáveis que influenciam qualidade nutricional, como condições de solo, clima, variabilidade genética. Mesmo dentro de uma mesma cultura pode haver diferenças significativas entre o modo de produção convencional e orgânico.

### **2.2.3 ANTOCIANINAS EM MORANGOS**

As antocianinas são pigmentos vegetais responsáveis pela maioria das cores azul, roxa e todas as tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (MARKAKIS, 1982).

As antocianinas fazem parte do grupo dos flavonóides, são compostos solúveis em água e altamente instáveis em temperaturas elevadas (SHAHIDI e NACZK, 1995). Existem aproximadamente 400 antocianinas diferentes disponíveis nos vegetais (KONG et al., 2003). Além de contribuir para a cor de flores e frutas, as antocianinas atuam como filtro das radiações ultravioletas nas folhas. Em certas espécies de plantas estão associadas com a resistência aos patógenos e atuam melhorando e regulando a fotossíntese (MAZZA e MINIATI, 1993).

Segundo Mazza (2007) nos últimos anos, vários estudos têm mostrado que as antocianinas exibem uma ampla gama de atividades biológicas: antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana e anticancerígena. Além disso, elas exibem uma variedade de efeitos sobre os vasos sanguíneos, plaquetas e lipoproteínas sendo capazes de reduzir o risco de doenças cardíacas coronárias.

## **2.3 SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA**

A presença de microrganismos em alimentos não significa necessariamente um risco para o consumidor ou uma qualidade inferior destes produtos. Excetuando-se um número reduzido de produtos submetidos à esterilização comercial, os diferentes alimentos podem conter bolores, leveduras, bactérias e outros microrganismos. Muitos alimentos tornam-se potencialmente perigosos ao consumidor somente quando os princípios de higienização são negligenciados. Se o alimento está sujeito a condições que permitam o desenvolvimento de agentes infecciosos ou toxigênicos, poderá se tornar um veículo de transmissão de doenças. (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*, 1984).

A ANVISA define como padrões microbiológicos sanitários para morango fresco e similares *in natura* a presença de coliformes totais para amostra indicativa  $2 \times 10^3$  e *Salmonella sp/25g* ausente.

As bactérias são denominadas microrganismos indicadores e são geralmente consideradas como sendo de grande significância quanto à segurança e qualidade microbiológicas de alimentos (HAYES, 1995).

Microrganismos indicadores são, segundo Franco & Landgraf (1996), grupos ou espécies de microrganismos que quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, provável presença de patógenos ou possível deterioração potencial do alimento, além de indicarem condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

Como exemplos de microrganismos indicadores podem ser citados aqueles que, segundo a *International Commission on Microbiological Specification for Foods* (1996), podem ser agrupados em:

- Microrganismos que não oferecem risco direto à saúde: contagem padrão de mesófilos, contagem de psicrotróficos e termófilos, contagem de bolores e leveduras.
- Microrganismos que oferecem um risco baixo ou indireto à saúde: coliformes totais, coliformes fecais, enterococos e enterobactérias totais, *Escherichia Coli*.

A análise microbiológica para verificação de quais e quantos microrganismos estão presentes é fundamental para se conhecer as condições de higiene em que o alimento foi preparado, riscos para a saúde do consumidor e se o alimento terá ou não a vida útil pretendida. Essa análise é indispensável também para verificar se os padrões e especificações microbiológicas para alimentos, nacionais e internacionais, estão sendo atendidos adequadamente (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A comercialização e a disponibilidade de morangos são restritas, pela rápida deterioração dos frutos causada pela senescência e doenças pós-colheita, que acarretam perdas consideráveis, tanto nutritivas quanto econômicas (REIS et al, 2006). Segundo Altieri (1989) estas restrições são agravadas na produção orgânica que é um sistema que evita ou exclui o uso de fertilizantes sintéticos e pesticidas. Para manter a produtividade e o cultivo do solo, conta com rotações de culturas, esterco de animais, adubações verdes, resíduos orgânicos e controle biológico de pragas e doenças.

Um dos pontos mais questionados pelos críticos da agricultura orgânica é a contaminação microbiológica. No entanto, o uso de esterco também ocorre em sistemas convencionais (DAROLT, 2003).

Em estudo realizado pela Embrapa Clima Temperado, no Rio Grande do Sul (2004), que avaliou a qualidade microbiológica de morangos *in natura* produzidos em uma propriedade particular antes da implementação do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), não se verificou crescimento de *Escherichia coli*, indicativo de contaminação fecal. No entanto, detectou-se a presença de coliformes totais (105 NMP g<sup>-1</sup> amostra) e outras Enterobactérias (*Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Yersinia*) (104 NMP. g<sup>-1</sup> amostra) em todas as amostras analisadas de morangos. Os valores encontrados estavam acima dos padrões microbiológicos sanitários para morangos permitidos pela Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da ANVISA. Os resultados mostraram a necessidade da implementação de APPCC no Campo, bem como o uso de embalagens íntegras e higienizadas para a coleta e acondicionamento das frutas. No caso do morango, os frutos não são submetidos à lavagem após a colheita, portanto, os níveis de contaminação presentes na colheita permaneceram nos locais de distribuição e vendas, com a conseqüente perda da qualidade e diminuição da segurança dos alimentos. Para o consumo *in natura* destes morangos, foram necessárias que medidas de higiene fossem adotadas, como lavagens subseqüentes em água corrente potável e sanitização (MATTOS & CANTILLANO, 2004).

Alguns autores referem que o morango tem sua qualidade microbiológica influenciada por sua curta vida pós-colheita, sendo a temperatura fator principal para o aumento de vida pós-colheita (ARAGÃO, 1989; DOMINGUES, 2000). Reis et al (2008) verificaram em seu estudo que o uso de sanificantes foi de fundamental importância para manter baixas as contagens de fungos filamentosos e leveduras dos morangos minimamente processados.

### **3. OBJETIVOS**

Avaliar quantitativa e qualitativamente os compostos bioativos de morangos ‘Oso Grande’ comparando sistemas de cultivo orgânico e convencional assim como avaliar a qualidade microbiológica de morangos comercializados no DF.

#### **3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar físico-quimicamente os morangos quanto a cor, firmeza, pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável, umidade e massa média.
- Caracterizar os compostos bioativos quantificando os teores de compostos fenólicos totais, de ácido elágico total, de antocianinas totais e vitamina C total.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 OBTENÇÃO DOS MORANGOS PARA AS ANÁLISES

Os morangos utilizados nas análises foram colhidos em campos de produção comercial da região de Brazlândia, Distrito Federal (DF). Conforme mostra a figura, duas bandejas de morango convencional e orgânico como são comercializados. Foram feitas quatro coletas ao longo do ano de 2008 com intervalos de 2 meses entre elas (C1- 30 de maio; C2- 30 de julho; C3- 30 de agosto; C4- 30 de novembro).



**FIGURA 02.** Morangos ‘Oso Grande’ bandejas de 300g, colhidos em agosto de 2008 (C3).

### 4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Após colheita os morangos foram levados ao Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Hortaliças (DF) onde foram selecionados e analisados quanto à cor, firmeza, massa média e umidade. Posteriormente, os morangos foram levados ao Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Católica de Brasília onde foram processados em pequenos pedaços e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises de acidez titulável, sólidos solúveis totais e pH.

Foram analisadas quatro repetições de cada tratamento, sendo que cada unidade experimental foi composta por uma bandeja de 300g. As análises foram feitas em triplicata. A

análise de variância dos dados foi calculada, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a ( $p \leq 0,05$ ).

#### **4.2.1 Cor**

A avaliação da cor foi feita por leitura direta em colorímetro (MINOLTA, Cr 200 b, Japão) segundo Conti et al. (2002). De acordo estes autores os valores de  $L^*$  variam do claro ao escuro, sendo o valor 100 correspondente à cor branca e o valor 0 (zero) à cor preta; o componente  $a^*$  varia entre o vermelho e o verde onde os valores positivos correspondem ao vermelho, o 0 (zero) ao cinza e os valores negativos, à cor verde; o componente  $b^*$  varia do azul ao amarelo onde os valores negativos correspondem ao azul, o 0 (zero) ao cinza e os valores positivos, à cor amarela. Os valores de  $a^*$  e  $b^*$  foram convertidos ao índice  $c^*$  (croma), obtido da raiz quadrada de  $a^{*2} + b^{*2}$ . Os mesmos autores consideram o componente  $L^*$  como a luminosidade indicativa do grau de claro e escuro, é viável estabelecer que para a coloração externa, valores menores que 29,24 indicam cor escura, valores de  $L^*$  entre 29,34 e 34,62 indicam condição intermediária e valores maiores que 34,62 cor clara. Para a coloração interna, valores menores que 38,35 indicam cor escura, valores entre 38,35 e 51,57 são intermediários e maiores que 51,57 de cor clara. O valor de  $c^*$  expressa o grau de croma dos frutos, onde, pela classificação proposta, frutos mais coloridos externamente apresentam valores menores que 24,92, a faixa intermediária está entre este valor e 36,08 e os frutos menos coloridos têm valores de croma maiores que 36,08. O valor de  $c^*$ , na coloração interna dos frutos, apresentou uma faixa intermediária entre 33,28 e 42,88, assim frutos menos cromáticos apresentam valores de  $c^*$  menores que 33,28 e os mais cromáticos valores maiores que 42,88.

#### **4.2.2 Firmeza**

A firmeza foi determinada com auxílio de um penetrômetro de bancada (SAMMAR, *Fruit pressure Tester*, Itália), com ponta de prova de 8 mm de diâmetro. Foram realizadas três medidas na região equatorial dos três frutos selecionados aleatoriamente, obtendo-se a pressão requerida em kgf. As leituras foram convertidas em Newton, multiplicando cada medida por 9,82 N (MORETTI, 2002).

#### **4.2.3 Massa Média**

A massa média dos frutos foi calculada pela razão entre o valor total da unidade experimental (embalagem de 300 g) e número de frutos da bandeja.

#### **4.2.4 Umidade**

A umidade (matéria seca) foi determinada por meio de método termogravimétrico a 105 °C, segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz – IAL (1985).

#### **4.2.5 Acidez Titulável**

A acidez titulável dos frutos foi mensurada, usando-se o método de titulação em pH 8,2 com 0,1 mol/L NaOH com auxílio de um pHmetro (QUIMIS). Os resultados foram expressos em % ácido cítrico por 100 gramas de polpa de morango.

#### **4.2.6. Sólidos Solúveis Totais**

O teor de sólidos solúveis totais foi determinado utilizando-se refratômetro de mesa modelo QUIMIS<sup>®</sup>. Os resultados foram expressos em °Brix, segundo a técnica da AOAC (1992).

#### **4.2.7 pH**

O pH foi mensurado com pHmetro (QUIMIS<sup>®</sup>) de acordo com metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz-IAL (1985).

### **4.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS**

#### **4.3.1 PREPARO DOS EXTRATOS**

Os extratos foram preparados segundo metodologia descrita por Youngjae Shin et al. (2007). Foram tomados dez gramas de tecido congelado de morango que em banho de gelo foram homogeneizados com 100 mL de acetona a 80% por três minutos. Em seguida filtrou-se, com papel filtro nº 1, em funil de Buchner com auxílio de bomba de vácuo, rotoevaporou-se por trinta minutos à 45 °C, até ficar uma quantidade inferior a 10 mL, e por fim completou-se o volume em balão volumétrico para 10 mL. Os extratos foram feitos em triplicata e utilizados para quantificar compostos fenólicos totais.

#### **4.3.2 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS**

Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de *Folin-Ciocalteu* descrito por Kjersti et al (2005) com modificações.

Pipetou-se 0,2 mL de extrato (1:10), transferindo para um tubo de ensaio contendo 1,0 mL de solução de *Folin* (1:10), incubou-se por um minuto ao abrigo da luz e adicionou-se 0,8 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5%, incubou-se por mais duas horas a

temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Por fim fez-se a leitura dos extratos a 765 nm. As análises foram feitas em triplicata.

#### **4.3.3 TEORES DE ANTOCIANINAS TOTAIS**

Para determinação dos teores e antocianinas totais foram determinados seguindo a metodologia descrita por Nunes et al (2005) com modificações.

Uma porção de 1g de morango congelado foi pesada e diluída 20 vezes com solução metanólica com 0,5% de ácido clorídrico (HCl). A mistura foi triturada em um homogeneizador de amostras Ultraturrac T102E e centrifugada a 17600 g por 15 minutos e a 4 °C. O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro com comprimento de onda de 515 nm. O resultado final foi expresso em mg de antocianinas totais em equivalentes de pelargonidina-3-glicosídeo kg<sup>-1</sup> MF.

#### **4.3.4 TEORES DE VITAMINA C TOTAL**

O teor de vitamina C total foi determinado segundo metodologia descrita por Terada et al. (1979), modificado por Nunes et al. (1995).

Dois gramas de tecido fresco foram pesados e misturados com 18 mL de mistura ácida (60 g de ácido metafosfórico contendo ácido acético 2N; 120 g de ácido acético glacial (MM = 60,05; 99,7% w/w) Água destilada (Vf = 1L), centrifugados a 15.000 rpm por 20 minutos, a 4 °C, e o sobrenadante foi filtrado. Foi pipetado 1 mL e adicionaram-se a esse volume 5 microlitros de 2,6-diclorofenolindofenol 0,2%, e em seguida agitou-se e incubou-se à temperatura ambiente por uma hora. Adicionou-se, então, 1 mL de tiouréia 2% e agitou-se bem. Foram adicionados 0,5 mL de dinitrofenilhidrazina 2% (exceto no branco), misturou-se e deixou-se em banho-maria por três horas, a 60 °C, exceto o branco. Colocou-se em banho de gelo e adicionaram-se cuidadosamente 2,5 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) gelado (inclusive no branco) e agitou-se. Adicionou-se 0,5 mL de dinitrofenilhidrazina 2% ao branco e agitou-se. Os extratos foram lidos a 540 nm à temperatura ambiente. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico kg<sup>-1</sup> de polpa de morango.

#### 4.3.5 ANÁLISE DE ÁCIDO ELÁGICO TOTAL

As análises que quantificaram o ácido elágico total contido nas amostras foram feitas baseadas no método descrito por Pinto et al. (2008).

Pesou-se 0,5 g de morango liofilizado, sobre o qual se adicionaram 50 mL de solução de acetona 80%. A extração foi feita com auxílio de homogeneizador Ultraturrac 102 por aproximadamente 1 minuto. A mistura ficou em repouso a 4 °C, fechada e ao abrigo da luz, por 1 hora, quando foi, então, filtrada a vácuo. O resíduo foi extraído mais duas vezes com porções de 25 mL de acetona 80%. Os filtrados das 3 etapas de extração foram reunidos em balão volumétrico e uma alíquota de 2 mL foi pipetada para balão de rotaevaporação. O solvente desta alíquota foi evaporado com nitrogênio gasoso e 2 mL de ácido trifluoracético (TFA) 2 N foram adicionados ao balão, o qual foi levado para banho-maria com glicerina a 120 °C, para hidrólise dos taninos, por uma hora. Após esse período, a amostra foi rotaevaporada a 95 °C e ressuspensa com 1 mL de metanol. A amostra foi guardada dentro de um tubo Eppendorf à -80 °C até o momento da análise. Antes de ser analisada a amostra foi descongelada, filtrada em PTFE hidrofílico Millipore 0,22 micrômetros. Para análise em CLAE foram utilizados solventes água:tetrahidrofurano:ácido trifluoracético 98:2:0,1 (A) e acetonitrila (B), obedecendo ao seguinte gradiente: 0 a 2 min-17%B, 2 a 7 min-25%B, 7 a 15 min-35%B, 15 a 20 min-50%B, 20 a 25min-90% B, 25 a 45min-17% B. Para confirmação das substâncias identificadas, algumas amostras foram analisadas em cromatógrafo Shimadzu com detector de arranjo de foto-diodo (DAD- Shimadzu, SPD-M10A DAD, Germany) para obtenção dos espectros de absorção UV-Visível.

#### 4.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para o experimento em tela foi utilizado o plano de amostragem representativa descrito na Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA. Para tal, em outubro de 2008 seis estabelecimentos comerciais de Brasília/DF foram visitados, sendo destes, dois que comercializavam produtos orgânicos e quatro hipermercados. Em cada estabelecimento foram adquiridas cinco bandejas de 300 g (número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente) de morango de um das marcas comercializadas no local, todas do mesmo lote, totalizando 30 bandejas (06 marcas A,B,C,D, E e F 05 repetições de cada). As análises foram feitas em triplicata.

As amostras foram levadas ao Laboratório de Microbiologia e Higiene dos Alimentos da Universidade Católica de Brasília e analisadas quanto aos níveis de

contaminação de coliformes fecais (45°C) e presença de *Salmonella* sp., segundo métodos descritos por Silva, Junqueira e Silveira (1997).

#### **4.4.1 Preparo das amostras e diluições**

As análises foram realizadas em amostras de 25 g de morangos de cada bandeja, pesada assepticamente sem o cálice e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1%, em homogeneizador (MARCONI MA 440/cf) por 1 minuto a 60 BPM (batidas por minuto). Diluições decimais apropriadas foram preparadas e alíquotas dessas diluições foram transferidas para meios específicos, para a determinação de cada grupo de microrganismos.

#### **4.4.5 Determinação de Coliformes a 45 °C**

A determinação de coliformes a 45 °C foi feita pela técnica do Número Mais Provável (NMP/g). Inoculou-se uma alçada de cada um dos tubos com caldo LST com resultados positivos, em tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC), seguindo-se incubação a  $45 \pm 0,2$  °C por 24 a 48 h. O cálculo do número mais provável (NMP) de coliformes fecais foi realizado com o auxílio da tabela de Hoskins.

Os resultados foram expressos como NMP de coliformes presentes por grama do produto.

#### **4.4.6 Determinação *Salmonella* sp**

Após pré-enriquecimento com 225 mL de água peptonada 0,1%, e incubação a 35 °C por 24 h, 1 mL dessa suspensão foi transferido para 10 mL de caldo selenito-cistina, e Caldo Tetracionato (TT), incubado a 35 °C. Depois de 24 horas, foram realizadas sementeiras por esgotamento em placas de Petri contendo Ágar Bismuto Sulfito (BS) e ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). As colônias suspeitas foram submetidas a testes bioquímicos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. E. M. de; MARTIN, Z. J. de; MAKIYAMA, P. A. A industrialização do morango. **Informe Agropecuário**. v. 20, n. 198, p.84-88, 1999.

ALTIERI, M. A. Agroecologia: as bases científicas da agricultura alternativa. Rio de Janeiro: PTA/FASE, 1989. 249 p. Antioxidant activity of three strawberry cultivars. **Food Chemistry**, 93 (1), 113-121, 2005.

**ANUARIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2006**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2006.136 p.

ARAGÃO, G. M. F. de. **Identificação e determinação da resistência térmica de fungos filamentosos Termos-resistentes isolados de polpa de morango**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). 989. 139p. - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15<sup>th</sup> ed., 2:1058<sup>th</sup>1059, Arlington: A.O.A.C. (method 967.21), 1990.

AYALA-ZAVALA, J. F.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; GONZALEZAGUILAR, G. A. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. **Food Science and Technology**, 37, 687–695, 2004.

BARUZZI, G.; FAEDI, W. La fragola in Italia. In: FAEDI, W. (Ed.). La Fragola verso il 2000. **Convegno Nazionale**. Verona: Camera di Commercio Industria Artigianato e Agricoltura, 1998. p.95-110.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. **Nota Técnica para divulgação dos resultados do PARA de 2008**. Brasília, 15 de abril de 2009. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/resultados\\_PARA\\_2008.pdf](http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/resultados_PARA_2008.pdf). Acesso em 2 de março de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001 on line. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br> Acesso em: 06 de junho de 2008.

BRINGHURST, R.S. Cytogenetics and evolution in American *Fragaria*. **Hort. Science**, v.25, n.8, p.879-881, 1990.

BRINGHURST, R.S. Cytogenetics and evolution in American *Fragaria*. **Hort Science**, v.25, n.8, p.879-881, 1990.

BRINGHURST, R.S. Cytogenetics and evolution in American *Fragaria*. **Hort Science**, v.25, n.8, p.879-881, 1990.

CARRATU, E. & SANZINI, E. “Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale”. **Ann. Ist. Super Sanità**, 41 (1), p.7-16, 2005.

CAYUELA, J.A. et al. Influence of the ecological cultivation of strawberries (*Fragaria x Ananassa* Cv. Chandler) on the quality of the fruit and on their capacity for conservation. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.45, p.1736-40, 1997.

CHAGNON, M.; GINGRAS, J.; OLIVEIRA, D. Pollination rate of strawberries. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 82, p. 1350-1353, 1989.

CHAGNON, M.; GINGRAS, J.; OLIVEIRA, D. Complementary aspects of strawberry pollination by honey and indigenous bees (Hymenoptera). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 86, p. 416-420, 1993.

CHAIN REACTION, I. N.; HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. (ED). **Free Radicals in Biology and Medicine**, 3rd ed. Clarendon, Oxford.,1989. 900P.

CHOI, S. Y.; CHUNG, M. J.; LEE S.; SHIN J. H.; SUNG N. J.; N-nitrosamine inhibition by strawberry, garlic, kale, and the Vectors of nitrite-scavenging and N-nitrosamine formation by functional compounds in strawberry and garlic. **Food Control**, 2006. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/foodcont](http://www.elsevier.com/locate/foodcont). Acesso em 24/04/09.

CONNOR, L. J. Studies of strawberry pollination of Michigan. In: The indispensable pollinators. Ark. Agric. Ext. Serv. Misc. Pub. 127p., 1970.

CONTI, J. H.; MINAMI, K.; TAVARES, F. C. A. Produção e qualidade de frutos de morango em ensaios conduzidos em Atibaia e Piracicaba. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n.1, p. 10-17, março 2002.

CORDENUNSI, B. R.; GENOVESE, M. I.; Nascimento J. R. O.; HASSIMOTTO, N. M. A.; SANTOS, R. J.; LAJOLO, F. M.. Effects of temperature on the chemical

composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 113-121, 2005.

CRANE, E.; WALKER, P. Pollination directory for world crops. International Bee Research Association, London, 183p, 1984. DAROLT, M. R. **A evolução da agricultura orgânica no com texto brasileiro**. Disponível em: [http:// www.planetaorganico.com.br](http://www.planetaorganico.com.br). Acesso em: 17 dez. 2007.

DANIEL, E. M.; KRUPNICK, A. S. Y. H.; BLINZLER, J. A.; NIMS, R. W.; STONER, J. D. Extraction, Stability and Quantification of Ellagic Acid in Various Fruits and Nuts. **J. Food Comp. Anal.** v.2, p.338-349, 1989.

DAROLT, M. R. A Evolução da Agricultura Orgânica no Com Texto Brasileiro. Disponível em: [http:// www.planetaorganico.com.br](http://www.planetaorganico.com.br). Acesso em: 17 dez. 2007.

Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal- EMATER-DF). [http://www.emater.df.gov.br/003/00301009.asp?ttCD\\_CHAVE=65232](http://www.emater.df.gov.br/003/00301009.asp?ttCD_CHAVE=65232) acesso em 26 de março de 2009. Extraído de M. da Silva Pinto et al. / **Food Chemistry** 107 (2008) 1629–1635;

DOMINGUES, D. M. **Efeito da radiação gama e embalagem na conservação de morangos ‘Toynoka’ armazenados sob refrigeração**. 2000. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz, Piracicaba.

Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal- EMATER-DF). [http://www.emater.df.gov.br/003/00301009.asp?ttCD\\_CHAVE=65232](http://www.emater.df.gov.br/003/00301009.asp?ttCD_CHAVE=65232) acesso em 26 de março de 2009. Extraído de M. da Silva Pinto et al. / **Food Chemistry** 107 (2008) 1629–1635.

FENTON, H. J. H. The oxidation of tartaric acid in presence of iron. **J. Chem Soc Proc.** v. 10, p.157–158, 1984.

FRANCO, B. G. M. F; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

HÄKKINEN, S. H.; KARENLAMPI, S. O.; HEINONEN, I. M.; MYKKANEN, H. M.; TÖRRÖNEN, A. R. Content of the Flavonols Quercetin, Myricetin, and Kaempferol in 25 Edible Berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.2274-2279, 1999.

HÄKKINEN, S. H.; TÖRRÖNEN, A. R. Content of Flavonols and Selected Phenolic Acids in Strawberries and Vaccinium Species: Influence of Cultivar, Cultivation Site and Technique. **Food Research International**. v.33, p. 517-524, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; The Chemistry of Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. **Biochemical Journal**. 219:1-14, 1994.

HANNUM S. M. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. **Crit Rev Food Sci Nutr**. v.44, n.1, p.1-17, 2004.

Harris G. K.; Gupta A.; Nines R. G.; Kresty L. A.; Habib S. G.; Frankel W. L.; LaPerle K.; Gallaher D. D.; Schwartz S. J.; Stoner G. D. Effects of lyophilized black raspberries on azoxymethane-induced colon cancer and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in the Fischer 344 rat. **Nutr. Cancer**. v.40, n. 2, p.125-33, 2001.

HAYES V, Morris J. Wolf C et al. The SF-36 Health Survey questionnaire: Is it suitable for use with older adults? *Age Ageing*, 1995; 24:120-125,.

HENNION, B.; VESCHAMBRE, D. La fraise: maîtrise de la production. Paris: CTFIL, 1997. 299 p.

HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals (chapter 12). In: **Functional Metabolism Regulation and Adaptation**, Editado por K.B. Storey, John Wiley e Sons, Hoboken, New Jersey, USA pp 319-368, 2004.

ICMSF – International Commission on Microbiological. **Specifications for foods, microorganisms in foods microbiological specifications of food pathogens**. London: Blackie academic & Professional, 1996. v.5. 513p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed., São Paulo, 1985. v.1, 533p.

KÄKÖNEN, M. P., HOPIA, A. I., VUORELA, H. J., RAUHA, J.P., PIHLAJA, K., KUJALA, T. S., HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.3954-3962, 1999.

KAUL, A., KHANDUJA, K. L. Polyphenols inhibit promotional phase of tumorigenesis: Relevance of superoxide radicals. **Nutrition and Cancer**, v.32, p.81-85, 1998.

KHANDUJA, K. L.; GANDHI, R. K.; PATHANIA, V.; SYAL, N. Prevention of N-nitrosodiethylamine-induced lung tumorigenesis by ellagic acid and quercetin in mice. **Food Chem. Toxicol.**, v.37, p.313-318, 1999.

KJERSTI AABY., GRETE SKREDE, and RONALD E.W. Phenolic Composition and Antioxidant Activities in Flesh and Achenes of Strawberries (*Fragaria ananassa*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2005, 53, 4032–4040.

KONG, J. M. et al. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, v. 64, p. 923-933, 2003.

KRESTY, L. A.; # MORSE, M. A.; MORGAN, C.; CARLTON, P. S.; LU, J.; GUPTA, A.; BLACKWOOD, M., and STONER, G.D. Chemoprevention of esophageal tumorigenesis by dietary administration of lyophilized black raspberries. **Cancer Res.** v.61, n.16, p.6112-6119, 2001.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. E.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. E.; ETHERTON, T. D. Bioactive Compounds in Foods: Their Role in the Prevention of Cardiovascular Disease and Cancer. **The American Journal of Medicine**. v.113, n. 9b, p.71S-88S, 2002.

LAJOLO, F. M.; HORST, M. A.. **Biodisponibilidade de compostos bioativos em alimentos**. In: Silvia Maria Franciscato Cozzolino. (Org.). Biodisponibilidade de nutrientes. 3 ed. São Paulo: Ed. Manole, 2009, v. 1, p. 772-807.

LARROSA, M.; TOMAZ-BARBERAN, F. A.; ESPÍN, J. C. The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. **J Nutr Biochem**. p. 1-15, 2005.

LECLERC, J.; MILLER M. L.; JOLIET, E. and ROCQUELIN, G.. Vitamin and mineral contents of carrot and celeriac under mineral or organic fertilization. **Biol. Agric. Hort.**,v.39, p.1094-1097, 1991.

LEE, S. K.; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Post Harv. Biol. Technol.** n.20, p.207-220, 2000.

LI T. M.; CHEN G. W.; SU C. C.; LING J. G.; YEH C. C.; CHENG K. C. Ellagic acid induced p53/p21 expression, G1 arrest and apoptosis in human bladder cancer T24 cells. **Anticancer Res.** v.25, p.971–979, 2005.

LIETEN, P.; LONGUESSERRE, J.; BARUZZI, G.; LOPEZ-MEDINA J.; NAVATEL, J. C.; KRUEGER, E.; MATALA, V.; PAROUSSI, G.. Recent situation of strawberry substrate culture in Europe. **Acta Horticulturae**, v.649, p.193-196, 2004.

LIETEN, F. La fragola in Belgio-Olanda. In: FAEDI, W. (ed.) La Fragola verso il 2000. Convegno Nazionale. Verona: Camera di Commercio Industria Artigianato e Agricoltura, 1998. p.83-94.

LOSSO, J. N., BANSODE, R. R., TRAPPEY, A., BAWADI, H. A., TRUAX, R. In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. **J Nutr Biochem.**, v.15, p. 672-678, 2004.

MAAS, J.L.; WANG, S.Y.; GALLETTA, G.J. Evaluation of strawberry cultivars for ellagic acid content. **Hort. Science**, 26(1): 66–68, 1991.

MAEDA,H.;Katsuki,T.;Akaike,T.;Yasutake,R.Highcor Relation between lipid peroxide radical and tumor promoter effect: suppression of tumor promotion in the Epstein Barr virus /B-lymphocyte system and scavenging of alkyl peroxide radicals by various vegetable extracts. **Jpn. J. Cancer Res.** 1992, 83,923 928.

MALAGODI-BRAGA, K.S.; KLEINERT, A.M.P. Could *Tetragonisca angustula* Latreille (Apinae, Meliponini) be effective as strawberry pollinator in greenhouses? **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 55, p. 771-773, 2004.

MANACH, C. et al. “Polyphenols: food sources and bioavailability”. **Am. J. Clin. Nutr.**,79, p.727-47, 2004.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 163-180.

MAZZA, G.; MINIATI, E. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. Boca Raton: CRC Press, 1993. 362 p.

MAZZA, G.J. Anthocyanins and heart health. **Ann Ist Super Sanita**, v43, n.4, 369-74 2007.

MERTENS-TALCOTT, S. U., PERCIVAL, S. S. et al. Ellagic acid and quercetin interact synergistically with resveratrol in the induction of apoptosis and cause transient cell cycle arrest in human leukemia cells. **Cancer Lett.**, v.218, p.141-151, 2005.

MORETTI C.L; ARAUJO AL; MAROUELLI WA; SILVA WLC. 2002. 1-methylcyclopropene delays tomato fruit ripening. **Horticultura Brasileira** 20: 659-663.

NARAYANAN B. A., GEOFFROY O., WILLINGHAM M. C., RE G. G., NIXON D. W. p53/p21 (WAF1/CIP1) expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis in ellagic acid treated cancer cells. **Cancer Lett**, v. 136, p. 215–21, 1999.

NATELLA F, BELELLI F, GENTILI V, et al. Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. **J Agric Food Chem**, v.50, p.7720-7725, 2002.

NITSCH, J. P. Growth and morphogenesis of the strawberry as related to auxin. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 37, p. 211-215, 1950.

NUNES, M. C. N.; BRECHT, J. K.; MORAIS, A. M. M. B.; SARGENT, S. A. Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by a short delay to cooking. **Postharvest Biology and Technology**, 6: 17-28, 1995.

ORMOND, J. G. P.; DE PAULA, S. R. L.; FILHO, P. F.; ROCHA, L. T. M. da. **Agricultura Orgânica: Quando o Passado é Futuro**. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 15, p. 3-34, mar. 2002.

PAJK, T.; REZAR, V.; LEVART., A.; SALOBIR, J. Efficiency of apples, strawberries, and tomatoes for reduction of oxidative stress in pigs as a model for humans. **Nutrition**, v. 22, p. 376–384, 2006.

PINELI, L. L. O. **Qualidade e potencial antioxidante *in vitro* de morangos *in natura* e submetidos a processamentos**. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, 2009.

PINTO, M. S.; LAJOLO, F. M. ; GENOVESE, M. I. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Food Chemistry**, 107: 1629-1635.

RADMANN, E. B.; BIANCHI, V. J.; OLIVEIRA, R. P.; de, FACHINELLO, J. C. Caracterização e diversidade genética de cultivares de morangueiro. **Hortic. bras.**, v. 24, n. 1, jan.-mar. 2006.

REIS, K. C.; SIQUEIRA, H. H.; ALVES, A. P.; SILVA, D. J.; LIMA, L. C. O. Efeito de diferentes sanificantes sobre a qualidade de morango cv. Oso Grande. **Ciênc. agrotec.** [online]. 2008, vol.32, n.1, pp. 196-202. ISSN 1413-7054.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, v. 20, p.933-956, 1996.

SANHUEZA, R. M. V.; HOFFMAN, A.; ANTUNES, L. S. C.; FREIRE, J. M. **Sistema de Produção de Morango para Mesa na Região da Serra Gaúcha e Encosta Superior do Nordeste. Importância da cultura.** Sistema de Produção, 6 ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica Dez./2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSerraGaucha/importancia.htm>. Acesso em 25/02/2009.

SANTOS, A.M. A situação da cultura do morangueiro no estado do Rio Grande do Sul. In: DUARTE FILHO, J.; CANÇADO, G.M.A.; REGINA, M.A.; ANTUNES, L.E.C.; FADINI, M.A.M., eds. **Morango: tecnologia de produção e processamento.** Caldas: EPAMIG, 1999. p. 115-117.

SANTOS, A. M. Melhoramento genético do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 198, p. 24-29, 1999.

SANTOS, A. M.; MEDEIROS, A. R. M. (Eds). **Morango. Produção. Frutas do Brasil**, 40. Brasília: EMBRAPA CT, 2003. 81p.

SEERAM, N. P; LEE, R.; SCHEULLER, H. S.; HEBER, D. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatographic analysis of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. **Food Chemistry**, v.97, p. 1-11, 2006.

SEANAYAKE, Y. D. A.; BRINGHURST, R. S. Origin of *Fragaria* polyploids: I. cytological analysis. **American Journal of Botany**, v.54, p.221-228, 1967.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: **Technomic**, 1995. 331 p.

SHIN Y.; LIU R. H.; NOCKC, J.F.; HOLLIDAY D.; WATKINS, C. B. (2007) Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 349–357.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997.

SMIRNOFF, N. **The function and metabolism of ascorbic acid in plants.** Ann. Bot. n.78, p.661-669, 1996.

STÖHR, H.; HERRMANN, K. The phenolics of fruits. VI. The phenolics of currants, gooseberries and blueberries. Changes in phenolic acids and catechins during development of black currants. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, 159: 31–37, 1975.

STONER G. D.; KRESTY L. A.; CARLTON P. S.; SIGLIN J. C.; MORSE M. A. Isothiocyanates and freeze-dried strawberries as inhibitors of esophageal cancer. **Toxicol Sci**, v.52 (Suppl), p.95–100, 1999.

TRIVELLATO, M. D.; FREITAS, G. B. **Panorama da Agricultura Orgânica. Alimentos Orgânicos. Produção, tecnologia e Certificação.** Editora UFV. Viçosa: UFV. 2003.

URQUIAGA, E., LEIGHTON, F. O. Plant polyphenol antioxidant and oxidative stress. **Biol. Res.** v.33, p.55–64, 2000.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.701-705, 1996.

WANG, S. Y.; MAAS, J. L.; PAYNE, J. A., et al. Ellagic acid content in small fruits mayhaws, and other plants. **Journal small fruit and viticulture**, v. 2, n. 4, p.11-49, 1994.

WEIBEL, F.P.; BICKEL, R.; LEUTHOLD, S.; ALFÖLDI, T.; NIGGLI, U. Are organically grown apples tastier and healthier? In: **International Ifoam Scientific Conference**, 12<sup>th</sup>., 1998, Mar del Plata. Proceedings... Tholey-Theley: IFOAM, 1999. p.147-153.

WICKLUND, T.; ROSENFELD, H. J.; MARTINSEN, B. K.; SUNDFOR, M. W.; LEA, P.; BRUUM, T.; BLOMHOFF, R.; HAFFNER, K. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. **LWT-Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 387-391, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION .WHO. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. (WHO Technical Report Series, 916).Geneva. 149 p. 2003. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/trs/who\\_TRS\\_916.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/who_TRS_916.pdf)>. Acesso em: 30 outubro 2003.

YU, Y. M.; CHANG, W. C.; WU, C. H.; CHING, S. Y. Reduction of oxidative stress and apoptosis in hiperlipidemic rabbits by ellagic acid. **J.Nut. Bioch.**, v.16, n. 11, p.675-681, 2005.

ZHENG, Y.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; ZHENG, W. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. **L.W.T Food Sci. Tech.**, article in press, 2006. Disponível em [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com). Acesso em 24/04/2008.

ZWART, L. L.; MEERMAN, J. H. W.; COMMANDEUR, J. N. M. and VERMEULEN, N. P. E. Biomarkers of free radical damage. Applications in experimental animals and in humans. **Free Radical Biol. Med.** 26, 202–206, 1999.

## PARTE II

### CAPITULO I

#### CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE MORANGOS 'OSO GRANDE'

##### **Physicochemical characterization and bioactive compounds of strawberry 'Oso Grande'**

ROCHA, Talita Orrico<sup>1</sup>; MORETTI, Celso Luiz<sup>2</sup>; PINELI, Livia de Lacerda de Oliveira<sup>3</sup>; SANTOS, Marcos Sodré dos<sup>4</sup>; MATTOS, Leonora Mansur<sup>2</sup>, CHIARELLO, Marileusa Dosolina<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70919-900, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Pós-Colheita, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 70359-970.

<sup>3</sup> Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70919-900.

<sup>4</sup> Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, 71966-700.

---

Telefone: Fone: (61) 3385-9000 Fax: (61) 3556-5744 talitaorrico@gmail.com

#### **Resumo**

Morangos são fontes de substâncias bioativas, vitamina C e compostos fenólicos estão entre elas. Os fatores ambientais afetam a qualidade dos morangos bem como a sazonalidade e sua curta vida pós-colheita. Os objetivos deste trabalho foram avaliar as características físico-químicas e a presença de compostos bioativos quando comparado entre sistemas de cultivo, orgânico e convencional, e entre períodos de colheita. Foram utilizados morangos 'Oso Grande' cultivados em sistemas orgânico e convencional. Foram feitas quatro colheita de 02 em 02 meses ao longo do ano de 2008. Os morangos foram analisados quanto à cor, firmeza, massa média e umidade, acidez titulável, sólidos solúveis totais, pH, fenólicos totais, antocianinas totais, ácido elágico total e vitamina C total. Não houve diferença significativa nas características analisadas, quando comparadas entre sistemas de cultivo. Sólidos solúveis totais e massa média variaram significativamente entre períodos de colheita, sendo os meses de maio e julho os mais indicados para essa prática. Os resultados mostraram que morangos 'Oso Grande' cultivados no DF são fontes de vitamina C, antocianinas, fenólicos totais e apresentam boa qualidade quanto aos seus atributos físico-químicos e o sistema de cultivo não foi capaz de subtrair ou adicionar teores ou atributos.

**PALAVRAS-CHAVE:** morango, orgânico, compostos bioativos, vitamina C, ácido elágico.

#### **Abstract**

Strawberries are a source of bioactive substances, vitamin C and phenolic compounds are among them. Environmental factors affect the quality of strawberries as well as seasonality and short shelf-life. Our objectives were to evaluate the physicochemical characteristics and the presence of bioactive compounds compared between farming systems, organic and conventional, and between periods. We used strawberries 'Oso Grande' grown in organic and conventional systems. Harvest were made four of 02 in 02 months during the year 2008. The strawberries were analyzed for color, texture, mass and moisture, acidity, soluble solids, pH, total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and total vitamin C total. No significant differences in their traits, when compared to cropping systems. Soluble solids and average weight varied significantly between periods, with the months of May and July the most suitable for this practice. The results showed that strawberries 'Oso Grande' grown in DF sources of vitamin C, anthocyanins, total phenolics and show good quality with regard to their physical-chemical attributes and cultivation system was unable to add or subtract content or attributes.

KEYWORDS: strawberry, organic, bioactive compounds, vitamin C, ellagic acid.

## 1. INTRODUÇÃO

O morango é a única hortaliça pertencente à família das Rosáceas (FILGUEIRA, 2000), ao gênero *Fragaria*, sob denominação botânica atualmente aceita como: *Fragaria x ananassa* Duch (GROPPO & NETO, 1991).

A caracterização física e química é importante, quando se estuda o comportamento de cultivares em uma determinada região, permitindo obter informações sobre a qualidade do produto (DIAS, 2007). O estudo da coloração de frutos por meio da análise dos componentes  $L^*a^*b^*$ , que juntos são uma maneira de quantificar a característica cor (CONTI et al. 2002), torna-se o principal indicador de maturação e atributo que estimula o consumo. A firmeza é o principal fator que determina a qualidade do morango e sua vida pós-colheita (CANTILLANO, 2004). A acidez titulável (AT), representa a proporção entre os teores em ácidos e açúcares existentes nos frutos, regulando o pH celular e podendo influenciar no aparecimento dos pigmentos da hortaliça. Os principais ácidos presentes no morango são os ácidos cítrico e málico. (BORSATTI et al. 2009). O teor de sólidos solúveis (SS) fornece um indicativo sobre a quantidade de açúcares que estão presentes nos frutos.

O morango é um alimento capaz de exercer efeitos antioxidantes, antiinflamatório e anticarcinogênico (HANNUM, 2004). As substâncias relacionadas a essas propriedades são os compostos bioativos presentes em sua estrutura vegetal, tais como, o ácido ascórbico e os compostos fenólicos.

Compostos bioativos são constituintes extranutricionais e ocorrem tipicamente em pequenas quantidades nos alimentos, sendo em sua maioria metabólitos secundários (LAJOLO, 2009). Variam amplamente em estrutura química e função; entre eles estão fitoestrógenos; licopeno; compostos organossulfurados; fibras alimentares; isotiocianatos;

monoterpenos e os compostos fenólicos, incluindo em sua subcategoria os flavonóides (KRIS-ETHERTON et al., 2002).

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo dos fenilpropanóides. Os processos de injúrias e o conseqüente aumento na evolução do etileno induzem a atividade da fenilalanina amônia liase (FAL), que catalisa a biossíntese de fenilpropanóides nas plantas (DIXON & PAIVA, 1995). De acordo com Hannum (2004), os principais fenólicos encontrados no morango são o ácido elágico e alguns flavonóides, como as antocianinas, a catequina, a quercetina e o kaempferol.

O ácido elágico é encontrado em altas concentrações em muitas frutas vermelhas, como morangos, framboesas, amoras, mirtilos, e uvas (MARWAN&NAGEL, 1986; CHEN et al., 2001); e a cor vermelha presente nestes frutos está relacionada a outro componente fenólico, o pigmento solúvel em água antocianina, responsável pela maioria das cores azul, roxa e todas as tonalidades de vermelho encontradas em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (MARKAKIS, 1982).

O consumo do morango pode também suprir a carência de minerais e vitaminas C e do Complexo B (SANHUEZA et al, 2005). Resende (1999) refere ainda que o morango é uma hortaliça rica em vitamina A, B, B2, B5, C, potássio, sódio, folato.

A vitamina C é sintetizada pela maioria dos vegetais e animais. Para os humanos é um nutriente essencial por não ser sintetizada, tendo de ser fornecida por meio da dieta ou medicamento. A vitamina C é amplamente encontrada em fruto como laranja, limão e acerola e hortaliças, tais como brócolis, espinafre e morango.

Estudos comparativos entre sistemas de produção orgânica e convencional têm descrito resultados divergentes quanto ao teor de vitamina C nos alimentos. Alguns estudos relatam altos níveis de vitamina C em alimentos orgânicos (LECLERE, 1991); enquanto outros relatam não existir diferenças ou apresentam níveis mais baixos (CAYUELA, 1997).

Vários fatores podem influenciar os teores de nutrientes e as propriedades físicas de produtos agrícolas: a cultivar utilizada, o tipo de solo e clima, o ano climático e o sistema de produção (orgânico e convencional) (DAROLT, 2003).

A agricultura orgânica que, segundo Ormond (2002), é o conjunto de processos de produção agrícola que é baseado na fertilidade, função direta da matéria orgânica contida no solo por meio da ação de microorganismos presentes nos compostos biodegradáveis existentes ou colocados no solo viabilizando o suprimento de elementos minerais e químicos necessários ao desenvolvimento dos vegetais cultivados. Complementarmente, consiste na

existência de uma abundante fauna microbiana que diminui os desequilíbrios resultantes da intervenção humana na natureza.

No Brasil a agricultura orgânica vem crescendo rapidamente desde 1990, tanto em área cultivada como em número de produtores e mercado consumidor. Este crescimento se deve, principalmente, ao fato da agricultura convencional basear-se na utilização intensiva de produtos químicos e à maior consciência de parcela dos consumidores quanto aos efeitos adversos que os resíduos de produtos químicos podem causar à saúde. Entretanto, o mercado de produtos orgânicos apresenta algumas dificuldades como a baixa escala de produção e, ainda, a necessidade do pagamento da certificação, fiscalização e assistência técnica que, diferentemente do sistema convencional, representam custos adicionais aos produtores (DAROLT, 2003).

Em 2001 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), criou o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) com o objetivo de avaliar continuamente os níveis de resíduos de agrotóxicos nos alimentos *in natura*. Já em seu primeiro boletim divulgado no mesmo ano, o morango foi colocado como uma das culturas com maior presença de resíduos de agrotóxicos, o que contribuiu para uma nova percepção dos consumidores em relação aos sistemas de cultivo e a sua influência sobre a saúde humana. Em 2008 o morango ocupou a segunda colocação no ranking dos alimentos com maior teor de resíduos (ANVISA, 2008).

Este trabalho teve como objetivos avaliar as características físico-químicas (cor, firmeza, massa média, umidade, sólidos solúveis totais, acidez titulável, pH) e a presença de compostos bioativos (fenólicos totais, ácido elágico total, antocianinas totais e Vitamina C total) comparando-as entre sistemas de cultivo, orgânico e convencional, e entre períodos de colheita.

## 1. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados morangos ‘Oso Grande’ cultivados na cidade Brazlândia/ Distrito Federal (DF) nos sistemas orgânico e convencional colhidos em campos de produção comercial. Quatro colheitas foram realizadas ao longo do ano de 2008 com intervalos de mais ou menos 02 meses entre elas (C1- 30 de maio; C2- 30 de julho; C3- 30 de agosto; C4- 30 de novembro). Os morangos estavam 3/4 maduros, condição considerada ideal para colheita. Foram recebidos no dia da colheita e encaminhados ao Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Hortaliças (DF), sendo selecionados e analisados quanto à cor, firmeza e massa média. Posteriormente, foram encaminhados ao Laboratório de Ciência e Tecnologia de

Alimentos da Universidade Católica de Brasília e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises de acidez titulável, sólidos solúveis totais, pH, fenólicos totais, antocianinas totais, ácido elágico total e vitamina C total.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos dispostos em esquema fatorial  $2 \times 2$ , sendo 2 cultivares e 2 sistemas de produção, com 4 repetições ( $n=300\text{ g}$ ). As análises foram feitas em triplicata. A análise de variância dos dados foi calculada, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a ( $p \leq 0,05$ ).

A avaliação da cor foi feita por leitura direta em colorímetro (MINOLTA, Cr 200 b, Japão) segundo Conti et al. (2002), bem como, para a determinação da firmeza, onde, um penetrômetro de bancada (SAMMAR, *Fruit pressure Tester*, Itália) foi utilizado com ponta de prova de 8 mm de diâmetro.

A massa média dos frutos foi calculada pela razão entre o valor total da unidade experimental (embalagem de 300 g) e número de frutos da bandeja.

A acidez titulável (AT) foi mensurada, usando-se o método de titulação em pH 8,2 com 0,1 mol/L NaOH, segundo método citado pela AOAC (1990) e os resultados foram expressos em % ácido cítrico por 100 gramas de polpa de morango.

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados por refratometria, sendo os resultados expressos em  $^{\circ}\text{Brix}$ , segundo o método preconizado pela AOAC (1990).

O pH foi mensurado de acordo com metodologia descrita pela AOAC (1990).

O teor de vitamina C total foi obtido utilizando-se a metodologia preconizada por Terada (1979), descrita por Nunes (1995) e os resultados expressos em mg/kg de massa fresca.

Os compostos fenólicos totais foram determinados segundo método de *Folin-Ciocalteu* descrito por Kjersti et al, (2005); os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mg/kg).

Os teores de antocianinas totais foram determinados segundo método descrito por Nunes, (2005) os resultados foram expressos em equivalentes de pelagornidina 3-glicosídeo (mg/kg).

As análises que quantificaram o ácido elágico contido nas amostras foram feitas em cromatografia líquida de alta eficiência baseadas no método descrito por Pinto et al. (2008), onde, 0,5 g de extrato liofilizado foi diluído em 50 mL de acetona a 80%, foi filtrado 3 vezes sob banho de gelo. Tomou-se 2 mL do extrato que foram secos sob nitrogênio gasoso posteriormente acrescentou-se 2 mL de ácido trifluoracético (TFA 2N) e em seguida foi levado para hidrólise à  $120^{\circ}\text{C}$  em banho de glicerina, rotaevaporou-se sob temperatura de 90

°C ao abrigo da luz. Para a análise o analito foi filtrado em milipore 0.22 uM. Para análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram utilizados solventes água:tetrahidrofurano:ácido trifluoracético 98:2:0,1 (A) e acetonitrila (B), obedecendo ao seguinte gradiente: 0 a 2 min-17%B, 2 a 7 min-25%B, 7 a 15 min-35%B, 15 a 20 min-50%B, 20 a 25min-90% B, 25 a 45min-17% B.

## 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.1 Caracterização Físico-Química

#### 2.1.1 Cor

A cor superficial de produtos consumidos *in natura* tem importância primária e é considerado um atributo de qualidade e sua modificação está relacionada ao seu grau de maturação (VILAS BOAS, 1999). Os morangos avaliados encontravam-se  $\frac{3}{4}$  maduro, ponto de maturação considerada ideal para comercialização pelos produtores.

Não houve diferença significativa entre médias dos parâmetros ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) em relação à cor dos morangos analisados quando comparadas em relação ao sistema de cultivo (Tabela 01) ou período de colheita (Tabela 02). Os morangos cultivados em sistemas orgânico e convencional apresentaram valores de  $L^*$  de  $33,28 \pm 2,03$  e  $30,89 \pm 2,07$ , respectivamente.

Reis et al. (2008) avaliaram morangos, 'Oso Grande' em relação a outras cultivares submetidas a armazenamento e tratamento com sanitizantes. Os valores das médias do parâmetro 'L' (32,37) do tratamento controle (tempo zero) de seu estudo foram similares a este estudo. Chitarra & Chitarra, (1990) referem ainda que frutos de cor forte e brilhante são os preferidos pelo consumidor, embora a cor, na maioria dos casos, não contribua para um aumento efetivo no valor nutritivo ou qualidade comestível do produto. Sendo o morango uma hortaliça não climatérica estes valores tendem a se manter constantes. Alguns autores referem o escurecimento do tom avermelhado de morangos armazenados, mas isso se dá pela perda de água e não a um aumento da quantidade de pigmento.

#### 2.1.2 Firmeza

A firmeza dos morangos cultivados em sistema orgânico foi de  $11,03 \pm 2,32$  N e dos cultivados em sistema de cultivo convencional de  $14 \pm 4,19$  N. Não houve diferença significativa entre as médias ( $p > 0,05$ ) quando comparadas entre os sistemas de cultivo, bem como, quando comparadas entre períodos de colheita (Tabela 02).

A firmeza do morango está relacionada à integridade física do fruto, boas condições de colheita, transporte e armazenamento, contribuindo para a qualidade e aceitabilidade pelo

consumidor. Por pertencer ao grupo não climatérico, onde os frutos estão maduros na colheita e não aumentam sua qualidade organoléptica no período pós-colheita, o morango é colhido com valores muito próximos à sua maturação de consumo. Por se tratar de um estudo transversal, que mostra um retrato de como as variáveis estão relacionadas no momento da colheita não houve variação deste parâmetro.

### **2.1.3 Massa Média (MM)**

Não houve diferença ao nível de significância de 0,05 pelo teste de Tukey entre as massas dos morangos quando comparadas entre sistemas de cultivo. A massa média de morangos cultivados em sistema orgânico foi de  $14,70 \pm 2,53$  g (Tabela 02) e em sistema convencional foi de  $13,09 \pm 0,9$  g. Quando comparadas as médias em relação ao período de colheita observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Sendo os morangos colhidos no mês de julho (colheita 02) os de maior massa, morangos cultivados em sistema orgânico  $17,33 \pm 1,38$  g e sistema convencional  $16,30 \pm 0,89$  g. O mês de julho, na região de Brazlândia, é o período em que as condições edafoclimáticas favorecem o morangueiro, favorecendo a produtividade e é, portanto, considerado o período de safra da hortaliça.

### **2.1.4 Sólidos Solúveis (SST)**

Os teores de SST fornecem indicativos da qualidade de açúcares existentes no fruto, os teores destes carboidratos conferem o sabor adocicado durante a maturação (RHODES, 198; NUNES, 2001).

Quanto a este parâmetro não houve diferença significativa quando comparadas as médias entre sistemas de cultivo, sendo  $7,5 \pm 1,05$  °Brix a média de SST em morangos cultivados em sistema orgânico e  $7,88 \pm 1,18$  °Brix em sistema convencional. Quando comparadas as médias entre períodos de colheitas observou-se teores de SST de  $8,4 \pm 0,68$ - $6,2 \pm 0,19$  °Brix em morangos cultivados em sistema orgânico e  $9,1 \pm 0,25$ - $6,4 \pm 0,37$  °Brix em morangos cultivados em sistema convencional, havendo diferença significativa entre as médias (Tabela 02). Deste modo, os meses de maio e julho seriam os períodos mais favoráveis para a doçura do fruto.

Reis et al. (2008) avaliaram morangos ‘Oso Grande’ por um período de 12 dias submetidos a diferentes tratamentos. Os valores de SST no tempo 0 foram similares aos valores obtidos neste estudo. Já Silva (2007) avaliou a qualidade de morangos ‘Oso Grande’ cultivados na região de Lavras mantidos a temperatura ambiente, o teor de SST encontrados

no primeiro tempo de sua análise foi de 9,84 °Brix, que é correspondente aos valores encontrados nas colheitas 01 (30 de maio) e 02 (30 de julho) deste estudo.

### 2.1.5 Acidez Titulável (AT)

A titulação é o método mais utilizado para medir a acidez, o sabor ácido, de frutos refletindo as quantidades de ácidos orgânicos existentes (VILAS BOAS, 1999 e NUNES, 2001).

Não houve diferença significativa na AT dos morangos cultivados em sistema orgânico ( $125,28 \pm 17,27$  meq/kg) e sistema convencional ( $138,77 \pm 17,01$  meq/kg) e em relação ao período de colheita. Quando comparadas as médias em relação ao período de colheita não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ), os resultados estão descritos na Tabela 02.

Krolow (2007) avaliou morangos ‘Aromas’ comparando sistemas de cultivo (orgânico e convencional) e verificou diferenças significativas quanto a pH, AT e SST. Já Borguini (2006) comparou tomates cultivados em sistemas orgânico e convencional e não encontrou diferença estatística quanto aos parâmetros físico-químicos (Brix, SST, pH e cor) avaliados no ponto inicial (T0) de sua análise.

Camargo (2009), de modo geral, observou efeito diferenciado dos tipos de sistemas de cultivo sobre a maioria das características de morangos e, principalmente, do comportamento das cultivares dentro de cada sistema. O sistema de produção convencional foi mais efetivo em aumentar os teores de SS, AT e SS/AT.

### 2.1.6 pH

O pH mede a quantidade de íons de hidrogênio nas frutas, assim como a AT reflete a acidez do fruto, o sabor ácido é também um indicador de qualidade, porém ao contrário da AT o pH tende a aumentar com o passar do tempo. Essa variação demonstra a aceleração do metabolismo do fruto que ocorre durante o seu armazenamento (MENEZES, 1996). O pH dos morangos cultivados em sistema orgânico foi de  $3,48 \pm 0,13$  e  $3,60 \pm 1,18$  em morangos cultivados em sistema convencional. Não houve diferença significativa entre as médias quando comparadas em relação ao sistema de cultivo (Tabela 01), bem quando, comparadas entre períodos de colheita ( $p > 0,05$ ), os resultados estão descritos na Tabela 02. Valores próximos foram descritos por Moraes et al. (2004), que estudando morangos ‘Oso Grande’ minimamente processados, referem uma variação de 3,66 a 3,70 nos morangos avaliados no tempo 0 do experimento. Barbari et al. (1994) encontraram valores médios de 3,36 para a mesma cultivar, sendo inferior ao encontrado neste trabalho.

## 2.2 Compostos Bioativos

### 2.2.1 Fenólicos Totais

Não houve variações significativas nos teores de fenólicos totais quando comparadas as médias em relação ao sistema de cultivo ou período de colheita ( $p > 0,05$ ) (Tabela 01 e 03). Os morangos cultivados em sistema orgânico contêm  $2759,25 \pm 107,8$  mg de ácido gálico/kg de massa fresca e aqueles cultivados em sistema convencional  $2530,45 \pm 133,84$  mg/kg de massa fresca de fenólicos totais.

Fatores genéticos e ambientais nas fases pré e pós-colheita podem afetar o metabolismo de síntese e consumo destes antioxidantes, o ataque por pragas e parasitas, o sistema de cultivo, incidência de luz e a temperatura ambiente são alguns destes fatores. Por outro lado, grau de estresse mecânico, a exposição à luz, a disponibilidade de oxigênio e a temperatura de armazenamento podem afetar a composição dos frutos na fase pós-colheita (AHERNE & O'BRIEN, 2002; BURNS et al., 2001; SELLAPPAN et al., 2002)

### 2.2.2 Acido Elágico Total

O ácido elágico é considerado o composto fenólico mais importante no morango (HAKKINEN, KARENLAMPI, HEINONEN, MYKKANEN & TÖRRÖNEN, 1999 apud PINELI, 2009).

Não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) em relação à concentração deste composto nos morangos avaliados (Tabelas 01 e 03). Quando cultivados em sistema orgânico os morangos continham  $16,49 \pm 3,35$  mg e quando cultivados em sistema de cultivo convencional  $16,39 \pm 1,46$  mg/kg de morango fresco. Quando avaliados quanto a períodos de colheita as médias variaram entre  $10,91 \pm 3,36$ - $21,46 \pm 3,36$  mg/kg de morango fresco e  $14,61 \pm 10,14$ - $18,13 \pm 7,81$  mg/kg de massa fresca nos morangos cultivados em sistema convencional.

Pineli 2009 avaliou morangos 'Oso Grande' e verificou que as quantidades de ácido elágico variaram de  $454,16 \pm 31,33$  a  $194,03 \pm 21,27$   $\mu\text{g/g}$  de fruta fresca dependendo do estágio de maturação. Hernanz (2007) avaliou a concentração de compostos fenólicos de diferentes variedades de morangos (Aromas, Camarosa, Diamante, Medina, e Ventana) cultivados em dois diferentes sistemas de cultivo (com e sem reciclagem de solução nutritiva), as médias foram comparadas em função da variedade e do sistema de cultivo. Vários compostos foram quantificados em CLAE incluindo ácido elágico e houve variação na concentração de  $80,38 \pm 2,63$  à  $43,08 \pm 289$   $\mu\text{g/g}$  da fruta fresca.

### 2.2.3 Antocianinas Totais

As antocianinas podem apresentar diferentes formas estruturais, assim, podem assumir diferentes colorações. A concentração deste flavonóide pode sofrer interferências de diversos fatores, destacando-se entre estes a temperatura, o valor do pH e possíveis ligações com outras substâncias químicas (LEE et al., 2005; ANDERSEN; JORDHEIM, 2006).

No presente estudo o teor de antocianinas totais dos morangos cultivados em sistema orgânico foi de  $140,87 \pm 13,39$  mg de pelagornidina 3-glicosídeo/kg de massa fresca, já aqueles que foram cultivados no sistema convencional foi de  $159,78 \pm 29,10$  mg/kg de morango fresco. Em relação a este cromóforo, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as médias quando comparadas entre sistemas de cultivo ou período de colheita (Tabela 03).

Bordignon et al. (2009) quantificaram os teores de antocianinas de morangos ‘Oso Grande’ utilizando diferentes métodos, o teor de antocianos encontrado foi de  $76,60 \pm 0,55$  mg de pelagornidina 3-glicosídeo /100 g de massa fresca, enquanto em pH 4,5 foi de  $7,48 \pm 0,03$  mg de pelagornidina 3-glicosídeo /100 g de fruta fresca. Já Calvete et al. (2008) avaliaram morangos ‘Oso Grande’ entre outras cultivares e encontrou 30 mg de pelagornidina 3-glicosídeo / 100 g de fruta fresca.

### 2.2.4 Vitamina C Total

O morango é fonte de vitamina C, a literatura refere teores que oscilam de 39 a 89 mg/ 100 g de fruta fresca, sendo o valor médio 60 mg/ 100 g de fruta fresca (Domingues, 2000). Os teores de ácido ascórbico podem variar, dependendo do estágio de maturação, sistema de cultivo empregado, época de colheita ou período da safra e de condições de armazenamento (CHITARRA, 1999b).

Não houve diferença significativa entre médias ( $p > 0,05$ ) quanto aos teores de vitamina C quando comparados entre morangos orgânicos e convencionais, bem como, entre as colheitas (Tabela 01 e 03). O teor de vitamina C em morangos cultivados em sistema de cultivo orgânico foi de  $553,71 \pm 98,12$  mg/kg e dos frutos cultivados em sistema convencional de  $488,73 \pm 125,06$  mg/kg de massa.

Silva (2007) avaliou morangos ‘Oso Grande’ quanto a processamentos e período de armazenamentos distintos e os teores de vitamina C variaram durante o experimento, porém, o teor na fruta fresca foi de 46,88 mg/100 g. Em experimento com morangos ‘Oso Grande’ em atmosfera modificada durante 12 dias, Vieites (2006) encontrou teores de vitamina C de 44,6 µg/ 100 g de polpa no dia da colheita. Já Malgarim (2006), quantificou 54,47 µg de ácido

ascórbico em 100 g de polpa em seu estudo que avaliou a qualidade de morangos ‘Camarosa’ em relação a sistemas de cultivo, condições de colheita e de armazenamento diferentes.

**TABELA 01.** Caracterização físico-química e compostos bioativos de morangos ‘Oso Grande’ em relação ao sistema de cultivo.

| <i>Sistema de Cultivo</i> | <i>L*</i>       | <i>a*</i>       | <i>b*</i>       | <i>F (N)</i>    | <i>MM (g)</i>   | <i>SST (°Brix)</i> | <i>AT (meq/kg MF)*</i> | <i>pH</i>      | <i>FT (mg/kgMF)**</i> | <i>AET (mg/kgMF)</i> | <i>Ant.T (mg/kgMF)***</i> | <i>Vit C T (mg/kg MF)</i> |
|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|------------------------|----------------|-----------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|
| Orgânico                  | 33,28a<br>±2,03 | 34,24a<br>±2,48 | 21,14a<br>±4,02 | 11,03a<br>±2,32 | 14,70a<br>±2,53 | 7,50a<br>±1,05     | 125,28a<br>±17,27      | 3,48a<br>±0,13 | 2756,248a<br>±107,81  | 16,49a<br>±3,35      | 140,87a<br>±13,39         | 553,71a<br>±98,12         |
| Convencional              | 30,89a<br>±2,07 | 34,6a<br>±0,53  | 22,76a<br>±1,69 | 14a<br>±4,19    | 13,09a<br>±0,9  | 7,88a<br>±1,18     | 138,77a<br>±17,01      | 3,60a<br>±1,18 | 2530,45b<br>±133,84   | 16,39a<br>±1,46      | 159,78a ±29,10            | 488,73a<br>±125,06        |

\*expresso em equivalentes de ácido cítrico. \*\* expresso em equivalentes de ácido gálico. \*\*\*expresso em equivalentes de pelagornidina 3- glicosídeo. (legenda: F-firmeza; MM-massa média; SST- sólidos solúveis; FT- fenólicos totais; AET- ácido elágico total; Ant.T-antocianinas totais; Vit C T-vitamina C total). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey (p<0,05). FT = fenólicos totais, AET = ácido elágico total, Ant.T = antocianinas totais e Vit C T = vitamina C total.

**TABELA 02.** Caracterização físico-química de morangos ‘Oso Grande’ cultivados em sistema orgânico e convencional em relação ao período de colheita.

| <i>Sistema de cultivo</i> | <i>Colheita</i> | <i>L*</i>   | <i>a*</i>   | <i>b*</i>  | <i>Firmeza (N)</i> | <i>MM (g)</i> | <i>SST (°Brix)</i> | <i>AT (meq.kg-MF)*</i> | <i>pH</i> |
|---------------------------|-----------------|-------------|-------------|------------|--------------------|---------------|--------------------|------------------------|-----------|
| <i>Orgânico</i>           | 0 1             | 30,29a±1,09 | 30,96a±2,01 | 15,4a±1,73 | 10,22a±1,40        | 11,21b±1,00   | 8,4a±0,68          | 138,03a±13,93          | 3,5a±0,09 |
|                           | 0 2             | 33,84a±0,62 | 33,75a±2,21 | 22,2a±1,14 | 13,65a±2,15        | 17,33a±1,38   | 8,3a±0,55          | 135,07a±13,07          | 3,6a±0,06 |
|                           | 0 3             | 34,15a±0,36 | 36,59a±1,22 | 24,9a±1,35 | 12,01a±2,96        | 14,48b±1,42   | 7,1ab±0,84         | 123,58a±4,53           | 3,3a±0,40 |
|                           | 0 4             | 34,84a±1,27 | 35,66a±0,75 | 22,1a±2,22 | 8,25a±1,70         | 16,30b±2,91   | 6,2b±0,19          | 101,47a±6,50           | 3,5a±0,07 |
| <i>Convencional</i>       | 0 1             | 30,29a±1,09 | 30,96a±2,01 | 15,4a±1,73 | 10,22a±1,40        | 11,21b±1,00   | 8,4a±0,68          | 138,03a±13,93          | 3,5a±0,09 |
|                           | 0 2             | 33,84a±0,62 | 33,75a±2,21 | 22,2a±1,14 | 13,65a±2,15        | 17,33a±1,38   | 8,3a±0,55          | 135,07a±13,07          | 3,6a±0,06 |
|                           | 0 3             | 34,15a±0,36 | 36,59a±1,22 | 24,9a±1,35 | 12,01a±2,96        | 14,48b±1,42   | 7,1ab±0,84         | 123,58a±4,53           | 3,3a±0,40 |
|                           | 0 4             | 34,84a±1,27 | 35,66a±0,75 | 22,1a±2,22 | 8,25a±1,70         | 16,30b±2,91   | 6,2b±0,19          | 101,47a±6,50           | 3,5a±0,07 |

\*expresso em equivalentes de ácido cítrico. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey (p<0,05).

**TABELA 03.** Compostos Bioativos de morangos ‘Oso Grande’ cultivado em sistema Orgânico em relação ao período de colheita.

| <i>Sistema de cultivo</i> | <i>Colheita</i> | <i>Fenolicos totais<br/>(mg/kgMF)*</i> | <i>Ácido elágico total<br/>(mg/kgMF)</i> | <i>Antocianinas totais<br/>(mg/kgMF)**</i> | <i>Vitamina C total<br/>(mg/kg MF)</i> |
|---------------------------|-----------------|--|--|--|--|
| <i>Orgânico</i>           | <i>0 1</i>      | 2775,83a±58,67                         | 10,91a±3,36                              | 150,16a±24,00                              | 529,20a±40,22                          |
|                           | <i>0 2</i>      | 2901,06a±98,52                         | 17,44a±3,56                              | 129,39a±16,52                              | 687,97a±102,62                         |
|                           | <i>0 3</i>      | 2673,45a±16,85                         | 16,15a±2,38                              | 129,39a±29,27                              | 544,83a±97,30                          |
|                           | <i>0 4</i>      | 2674,64a±25,19                         | 21,46a±3,36                              | 154,56a±22,47                              | 452,83a±39,66                          |
| <i>Convencional</i>       | <i>0 1</i>      | 2628,81a±35,76                         | 14,61a±10,14                             | 174,28a±14,13                              | 525,01a±66,16                          |
|                           | <i>0 2</i>      | 2359,17a±35,76                         | 16,10a±2,82                              | 189,11a±31,08                              | 614,97 b±102,85                        |
|                           | <i>0 3</i>      | 2644,58a±39,52                         | 18,13a±7,81                              | 153,82a±29,81                              | 498,17a±44,99                          |
|                           | <i>0 4</i>      | 2489,23a±44,83                         | 16,74a±3,40                              | 121,91a±33,75                              | 316,75b±44,14                          |

\* expresso em equivalentes de ácido gálico. \*\*expresso em equivalentes de pelagornidina 3- glicosídeo. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

### 3. CONCLUSÕES

Com base neste estudo, morangos ‘Oso Grande’ cultivados no DF são fontes de vitamina C, antocianinas, fenólicos totais, e de ácido elágico independente do sistema de cultivo ou período de colheita. Os mesmos apresentam atributos físico-químicos compatíveis com os de outros morangos cultivados em regiões diferentes. O período da colheita interferiu em algumas das características físicas dos morangos. Nas amostras avaliadas os teores de açúcares e o tamanho dos frutos variaram entre as colheitas, sendo o melhor período entre os meses de junho e julho, considerados período oficial de safra na região.

AGRADECIMENTOS: A Embrapa Hortaliças, ao Cnpq e à CAPES pelo fomento, a Universidade Católica de Brasília e a Andréia Viana Brasileiro, Giselle Gleicy Jorge de Souza e a Márcia Alves Santana.

### 4. REFERÊNCIAS

AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. **Nutrition**. New York: v. 18, n. 1, p. 75-81, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15<sup>th</sup> ed., 2:1058<sup>th</sup>1059, Arlington: A.O.A.C.(method 967.21),1990.

BERBARI, S. A. G.; NOGUEIRA, J. N.; CAMPOS, S. D. S. Efeito de diferentes tratamentos pré-congelamento sobre a qualidade do morango var. Chandler congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 18, 1, 1998.

BORDIGNON, C. L. Jr., FRANCESCATTO V., NIENOW, A. A., CALVETE, E., REGINATTO, F. H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. [online]. 2009, vol.29, n.1, pp. 183-188. ISSN 0101-2061.

BORSATTI, Fabiana C.; GODOY, Wilson I.; FARINÁCIO, Dione; FUNGUETTO, Renan F.; SIMONETTI, Daniele,. Avaliações químicas de dez cultivares de morangueiro produzidos em sistema orgânico na região sudoeste do Paraná. **Revista Brasileira de Agroecologia**. nov. 2009 Vol. 4 No. 2

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº12 de 2 janeiro 2001.** Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://e-egis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>. Acesso em 10 de março de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA. **Nota Técnica para divulgação dos resultados do PARA de 2008.** Brasília, 15 de abril de 2009. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/resultados\\_PARA\\_2008.pdf](http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/resultados_PARA_2008.pdf). Acesso em 2 de março de 2010.

BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLALOBOS, F. J.; PEÑA, G.; NUÑEZ-VALDEZ, M. E.; SOBERÓN, M.; QUINTERO, R. Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v.64, p.4965-4972, 1998.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G. G.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49, 5797\*5808, 2001.

CALVETE, E. O.; MARIANI, F.; WESP, C. de L.; NIENOW, A. A.; CECCHETTI, T. C. D.. Fenologia, produção e teor de antocianinas de cultivares de morangueiro em ambiente protegido. **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal** - SP, v. 30, n. 2, p. 396-401, Junho 2008.

CAMARGO, L. K. P; RESENDE, J. T. V.; GALVÃO, A. G.; BAIER, J. E.; FARIA, M. V.; CAMARGO, C. K. Chemical characterization of strawberry fruits in the organic and conventional cropping systems in pots. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, suplemento 1, p. 993-998, 2009.

CAYUELA, J. A.; VIDUEIRA, J. M.; ALBI, M. A. ; GUTIERREZ, F. Influence of the ecological cultivation of strawberries (*Fragaria x Ananassa* Cv. Chandler) on the quality of the fruit and on their capacity for conservation. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.45, p.1736-40, 1997.

CHEN, H.; ZUO, Y.; DENG, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**. Volume 913, Issues 1-2, 13 April 2001, Pages 387-395

CHITARRA, A. B. **Armazenamento de frutos e hortaliças por refrigeração**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 20 p. Texto acadêmico manutenção e qualidade.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL-FAEPE, 1990. 320 p. Computers in Education. Bento Gonçalves, RS. WCCE 2009.

CONTI, J. H.; MINAMI, K. and TAVARES, F. C. A.. Produção e qualidade de frutos de diferentes cultivares de morangueiro em ensaios conduzidos em Atibaia e Piracicaba. **Horticultura Brasileira** [online]. 2002, vol.20, n.1, pp. 10-17. ISSN 0102-0536.

CONTI, J.H.; MINAMI, K.; TAVARES, F.C.A. Produção e qualidade de frutos de morango em ensaios conduzidos em Atibaia e Piracicaba. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20,n.1, p. 10-17, março 2002.

DAROLT, M. R. Comparação da qualidade do alimento orgânico com o convencional. In: STRIGHETA, P. C.; MUNIZ, J. N. (Ed.). **Alimentos Orgânicos: produção, tecnologia e certificação**. Viçosa: UFV, 2003. p. 289-312.

DIAS M. S. C. Caracterização físico-química de morangos cultivados na região Norte de Minas Gerais. In: Simpósio de pesquisa em ciências agrárias no semi árido mineiro, 1., 2007, Janaúba. **Anais... Janaúna**: UNIMONTES/UFMG, 2007.

FILGUEIRA, F. A. R., **Novo Manual de Olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças, Viçosa: UFV, 2000.

GROPPO, G. A., TESSARIOLI Neto, J. **A cultura do Morangueiro**, Campinas. CATI, 1991.

HANCOCK, J. F. **Strawberries**. Crop Production Science in Horticulture; University Press: Cambridge, p 237,1999.

HANNUM, S. M. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 44 (1), 1\*17, 2004.

HASLAM, E. Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1998. **Journal of Chromatography**. A,913, 387–395, 2001.

LAJOLO, F. M. ; HORST, M. A. . Biodisponibilidade de compostos bioativos em alimentos. In: Silvia Maria Franciscato Cozzolino. (Org.). **Biodisponibilidade de nutrientes**. 3 ed. São Paulo: Ed. Manole, 2009, v. 1, p. 772-807.

RESENDE, L. M. de A.; MASCARENHAS, M. H. T.; PAIVA, B. M. de. Panorama da produção e comercialização do morango. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.20, n.198, p.5-19, maio/jun. 1999.

SIMÕES, J. C.; DIAS, J. P. T.; PÁDUA, J. G. de. Produtividade do Morangueiro em Sistema de Produção Integrado, Orgânico e Convencional no Sul e Centro-Oeste de Minas Gerais. **Rev. Bras. de Agroecologia**/nov. 2009.Vol. 4 No. 2

VERONA, L. A. F.; CRISTIANO N. N.; ELOI E. S. C. Avaliação de Cultivares de Morango em Sistema Orgânico, em um Estabelecimento Rural do Oeste Catarinense. **Rev. Bras. Agroecologia**, v. 2, n.1, fev. 2007.

WILLIAMS. C. M. Nutritional quality of organic food: shades of grey or shades of green? **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 61, n. 1, p. 19-24, 2002.

## CAPITULO II

### QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE MORANGOS ‘OSO GRANDE’ CULTIVADOS EM SISTEMA ORGÂNICO E CONVENCIONAL COMERCIALIZADOS NO DISTRITO FEDERAL.

ROCHA, Talita Orrico<sup>1</sup>; MORETTI, Celso Luiz<sup>2</sup>; SANTOS, Marcos Sodré dos<sup>3</sup>; PINELI, Livia de Lacerda de Oliveira<sup>4</sup>; CHIARELLO, Marileusa Dosolina<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70919-900, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Pós-Colheita, Embrapa Hortaliças, Brasília, DF, 70359-970.

<sup>3</sup> Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, 71966-700.

<sup>4</sup> Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70919-900.

---

Telefone: Fone: (61) 3385-9000 Fax: (61) 3556-5744 talitaorrico@gmail.com

#### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica do morango (*Fragaria ananassa*) produzido em sistema de cultivo orgânico e convencional no Distrito Federal. Para o experimento foi utilizado o plano de amostragem representativa descrito na Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA. A presença de *Salmonella* sp. foi detectada em três marcas das seis marcas analisadas (04 cultivadas em sistema orgânico e 02 em sistema convencional), sendo que no cultivo orgânico foi detectado nas duas marcas. Não foram observadas contagens significativas para Coliformes a (45°C). O lote de morango da marca B, E e F foram considerados como impróprio para o consumo humano por apresentar microrganismo patogênico que representa perigo severo à saúde do consumidor. Medidas que visem o controle da inocuidade dos alimentos devem ser implementadas do campo até o ponto de comercialização, principalmente com a adoção do programa de Boas Práticas Agrícolas em toda cadeia produtiva e Boas Práticas de Fabricação.

PALAVRAS-CHAVE: qualidade microbiológica, morango, orgânico, convencional.

#### ABSTRACT

The objective was to evaluate the microbiological quality of strawberry (*Fragaria ananassa*) system produced in organic and conventional crops in Brasilia. For the experiment we used representative sampling plan described in Resolution No. 12, January 2, 2001 ANVISA. The presence of *Salmonella* was detected in three brands, whereas in organic farming was detected in two brands. There were no significant scores for the coliforms (45 ° C). The batch of

strawberry mark B, E and F were considered unfit for human consumption by pathogenic microorganisms that are present severe danger to consumer health. The implementation of measures to control food safety should be deployed in the field to the table of the consumer particularly with the adoption of Good Agricultural Practices program throughout the production chain and Good Manufacturing Practices.

**KEYWORDS:** microbiological quality, strawberry, organic, conventional.

## 1. INTRODUÇÃO

O morango é a única hortaliça da família das rosáceas (FILGUEIRA, 2003), sendo largamente consumido em todo o mundo, em sua forma *in natura* ou como ingrediente de produtos industrializados ou preparações alimentares (SEERAM et al., 2006).

No Brasil, a cultura encontra-se difundida em regiões de clima temperado, onde se produz morango para consumo *in natura* e também para industrialização. Trata-se de uma importante atividade econômica, principalmente em pequenas propriedades rurais que utilizam mão-de-obra familiar (RADMANN et al. 2006).

No Distrito Federal (DF) a produção agrícola do morango é maior na região administrativa de Brazlândia que é responsável por quase um terço do total do plantio de frutos do Distrito Federal. Os dados são da safra de 2004, de acordo com a Empresa de Assistência Técnica e Produção Rural (Emater-DF, 2009), sendo o principal motor econômico local. A região é responsável pela produção de 99% dos morangos produzidos no DF.

A mesma fonte reportou ainda que em 2008 Brazlândia foi o maior centro produtor de morangos da região Centro-Oeste. A área produtiva é de 100 hectares onde são gerados, no pico da safra em agosto e setembro, mais de 1000 empregos diretos, produzidos por 120 produtores. No período da safra de maio a outubro, a produção chega a mais de 3.000 toneladas. As principais variedades do morango são ‘Oso Grande’, ‘Camarosa’, ‘Camino Real’, ‘Festival’ e ‘Aromas’, entre outras cultivadas em menor escala. A produção da hortaliça em Brazlândia abastece o mercado de Brasília e Entorno e é exportada para Salvador, Goiânia, Belém e Manaus.

No Distrito Federal a cultura do morango é predominantemente em sistema convencional havendo alguns produtores que praticam o cultivo orgânico com selo de agência certificadora. Agricultura Orgânica que, segundo Ormond (2002), é o conjunto de processos de produção agrícola que é baseado na fertilidade, função direta da matéria orgânica contida no solo por meio da ação de microorganismos presentes nos compostos biodegradáveis existentes ou colocados no solo viabilizando o suprimento de elementos minerais e químicos necessários ao desenvolvimento dos vegetais cultivados. Complementarmente, consiste na

existência de uma abundante fauna microbiana que diminui os desequilíbrios resultantes da intervenção humana na natureza.

Em seu estudo Verona et al. (2007) verificaram que morangos cultivados no sistema orgânico de cultivo apresentaram produtividade satisfatória comparados a mesma planta cultivada em sistema convencional. Simões et al. (2009) avaliaram a produtividade do morangueiro em sistema de produção integrado, orgânico e convencional no Sul e Centro-Oeste de Minas Gerais e verificou que a produção orgânica teve produtividade superior a todos os sistemas de produção avaliados.

A preservação da qualidade dos frutos e das hortaliças tem como principal fator a temperatura, não só pela influência que exerce na atividade respiratória, como também pela sua influência sobre a velocidade de crescimento microbiano e determinação da biota deteriorante. Em geral, baixas temperaturas reduzem a velocidade de crescimento da maioria das bactérias e fungos (ROSA et al., 2000).

A cultura do morango exige cuidados especiais, já que o morangueiro é suscetível às doenças e pragas, ácaros, formigas e pulgões são exemplos. Também a flor-preta (*Colletotrichum acutatum*) é uma das principais pragas, juntamente com insetos, como a lagarta, que trazem grandes prejuízos aos produtos (CAMARGO et al. 2000). Isso tudo torna o cultivo do morango oneroso, pois o controle de pragas e doenças requerer um rigoroso controle químico desde a implantação até a comercialização dos frutos.

O Instituto de Tecnologia dos Alimentos (ITAL) considera o morango como uma das hortaliças mais sensíveis ao apodrecimento e refere ainda que os responsáveis por essa rápida deterioração são os fungos dos gêneros *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Phomopsis* e *Rhizopus*.

Sommer et al (1973) e Beackmann et al (2002) referem que a podridão pós-colheita, causada por *Botrytis cinéria* e outros fungos, é preocupante devido as perdas que geram custos de armazenamento, embalagens, resfriamento e transporte, tornando o produto pouco satisfatório. Os frutos podem ser afetados em qualquer estágio de desenvolvimento e tanto em condição de campo como pós-colheita (Cabrini, 1985).

Em estudo realizado pela Embrapa Clima Temperado, no Rio Grande do Sul (2004), que avaliou a qualidade microbiológica de morangos *in natura* produzidos em uma propriedade particular antes da implementação do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), não se verificou crescimento de *Escherichia coli*, indicativo de contaminação fecal. No entanto, detectou-se a presença de coliformes totais (105 NMP g<sup>-1</sup> amostra) e outras Enterobactérias (*Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*,

*Yersinia*) (104 NMP. g<sup>-1</sup> amostra) em todas as amostras analisadas de morangos. Os valores encontrados estavam acima dos padrões microbiológicos sanitários para morangos permitidos pela Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da ANVISA (MATTOS & CANTILLANO, 2004).

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar quanto a presença e a ausência de Coliformes a 45 °C e *Salmonella* sp., em morangos cultivados em sistema orgânico e convencional comercializado no Distrito Federal.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Para o experimento em tela foi utilizado o plano de amostragem representativa descrito na Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA. Para tal, em outubro de 2008 seis estabelecimentos comerciais de Brasília/DF foram visitados, sendo destes, dois que comercializavam produtos orgânicos e quatro hipermercados. Foram adquiridas em cada estabelecimento, cinco bandejas de 300g de morango ‘Oso Grande’ de uma das marcas comercializadas no local (número de unidades colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente). No total foram 30 bandejas, sendo identificadas como A, B, C e D (sistema convencional de cultivo) e E e F (morangos cultivados em sistema orgânico).

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia e Higiene dos Alimentos da Universidade Católica de Brasília e analisadas quanto aos níveis de contaminação de coliformes fecais (45 °C) e presença de *Salmonella* sp., segundo métodos descritos pela APHA (2001) e por Silva, Junqueira e Silveira (1997).

### **2.1 Preparo das amostras e diluições**

As análises foram realizadas em amostras de 25 g de morangos de cada bandeja que foi pesada assepticamente sem o cálice e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1%, em homogeinizador (MARCONI MA 440/cf) por 1 minuto a 60 BPM (batidas por minuto). Diluições decimais apropriadas foram preparadas e alíquotas dessas diluições foram transferidas para meios específicos, para a determinação de cada grupo de microrganismos.

### **2.2 Determinação de Coliformes a 45 °C**

A determinação de coliformes a 45 °C foi feita pela técnica do número mais provável (NMP/g). Inoculou-se uma alçada de cada um dos tubos com caldo LST com resultados positivos, em tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC), seguindo-se incubação a 45 ± 0,2

°C por 24 a 48 horas. O cálculo do número mais provável (NMP) de coliformes fecais foi realizado com o auxílio da tabela de Hoskins.

Os resultados foram expressos como NMP de coliformes presentes por grama do produto.

### **2.3 Determinação *Salmonella* sp**

Após pré-enriquecimento com 225 mL de água peptonada 0,1%, e incubação a 35 °C por 24 horas, 01 mL dessa suspensão foi transferida para 10 mL de caldo selenito-cistina, e caldo tetrionato (TT), incubado a 35 °C. Depois de 24 horas, foram realizadas semeaduras por esgotamento em placas de petri contendo ágar bismuto sulfito (BS) e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD). As colônias suspeitas foram submetidas a testes bioquímicos.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na Tabela 1 foram descritas os resultados das análises microbiológicas dos morangos produzidos no sistema convencional das marcas A, B, C e D e dos produzidos no sistema orgânico das marcas E e F.

**TABELA 01.** Resultados das análises microbiológicas dos morangos produzidos no sistema orgânico e convencional.

| Marca | Coliformes a 45°C<br>(NMP/g) | <i>Salmonella</i> sp.<br>(em 25g) |
|-------|------------------------------|-----------------------------------|
| A     | <3                           | Ausência                          |
| B     | <3                           | <b>Presença</b>                   |
| B     | <3                           | <b>Presença</b>                   |
| B     | <3                           | Ausência                          |
| B     | <3                           | <b>Presença</b>                   |
| B     | <3                           | Ausência                          |
| C     | <3                           | Ausência                          |
| D     | <3                           | Ausência                          |
| E     | <3                           | <b>Presença</b>                   |
| E     | <3                           | Ausência                          |
| E     | <3                           | Ausência                          |
| E     | <3                           | <b>Presença</b>                   |
| E     | <3                           | <b>Presença</b>                   |
| F     | <3                           | Ausência                          |
| F     | <3                           | <b>Presença</b>                   |

**A,B,C,D - Cultivo Convencional - E,F- Cultivo Orgânico**

Para contagem de coliformes a 45°C, a RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001, da ANVISA estabelece como limite  $2 \times 10^3$  NMP/g para morangos frescos e similares, "*in natura*", inteiras, selecionadas ou não. A mesma legislação exige ausência de *Salmonella* sp./25 g. Nas análises realizadas verificou-se que, 100% das amostras deram negativas para

coliformes fecais (45°C), entretanto 30% das amostras foram positivas quanto a presença de *Salmonella* sp. Nas amostras positivas para *Salmonella* sp. 70% foram nas amostras cultivadas em sistema orgânico e 30% naquelas cultivadas em sistema convencional. O microorganismo foi detectado em 50% das marcas analisadas.

A mesma resolução determina que aqueles produtos que possuem resultados analíticos que demonstram a presença de microrganismos patogênicos, neste caso, *Salmonella* sp. representam risco à saúde do consumidor e portanto, estão em condições sanitárias insatisfatórias.

O morango é consumido *in natura* e como ingrediente de várias preparações, a presença de *Salmonella* sp. e ausência de boas práticas de fabricação no âmbito das unidades de alimentação e nutrição ou de técnica de higienização adequada no âmbito doméstico podem acarretar, segundo informativo da ANVISA, em dores abdominais, diarreia, calafrios, náusea e vômito. A *Salmonella* sp. encontrada principalmente em alimentos de origem animal, como ovos, leite e carnes pode contaminar também os frutos, que no caso do morango a contaminação ocorre por se tratar de uma planta rasteira em constante contato com o solo adubado com material fecal; prática essa muito comum em canteiros de cultivo orgânico.

#### 4. CONCLUSÕES

Em relação à coliformes fecais (45 °C) as seis marcas analisadas apresentaram resultado considerado abaixo do estabelecido para amostra representativa, conforme especificado na RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001.

Para o presente estudo o lote de morango da marca B (marca de morango cultivado em sistema convencional), E e F (marcas de morangos cultivados em sistema orgânico) são considerados segundo a legislação vigente, como impróprio para o consumo humano por apresentar microrganismo patogênico que representa risco à saúde do consumidor.

Medidas que visem o controle da inocuidade dos alimentos devem ser implantadas do campo até a mesa do consumidor, principalmente com a adoção do programa de Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas Agrícolas em toda cadeia produtiva.

AGRADECIMENTOS: A Embrapa Hortaliças, ao Cnpq e à CAPES pelo fomento, a Universidade Católica .

## 5. REFERÊNCIAS

BRACKMANN, A.; FREITAS, S. T.; MELLO, A.M.; NUWALD, O. A. Efeito da temperatura de armazenamento sobre a qualidade do morango cultivas 'Oso Grande'. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 8, n.1, p.77-78, jn./abr. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº12 de 2 janeiro 2001.** Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://e-egis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>. Acesso em 10 de março de 2010.

CABRINI, H. M. **Ocorrência de isolados de *Botrytis Cinerea* prs. X. Fr. Resistentes a benomyl em morangos (*Fragaria ssp*) no estado de São Paulo.** 1985. 66p. Dissertação: (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz, Piracicaba.

CAMARGO, Y. R.; LIMA, L. C. de O.; SCALON, S. de P. Q.; SIQUEIRA, A. C. Efeito do cálcio sobre o amadurecimento de morangos (*Fragaria ananassa* Duch) cv. Campineiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 968-972, out./dez. 2000.

Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal EMATER-DF). [http://www.emater.df.gov.br/003/00301009.asp?ttCD\\_CHAVE=65232](http://www.emater.df.gov.br/003/00301009.asp?ttCD_CHAVE=65232) acesso em 26 de março de 2009. Extraído de M. da Silva Pinto et al. / **Food Chemistry** 107 (2008) 1629–1635;

FILGUEIRA, F. A. R., **Novo Manual de Olericultura:** Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças, Viçosa: UFV, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3.ed., São Paulo, 1985. v.1, 533p.

ORMOND, J. G. P.; DE PAULA, S. R. L.; FILHO, P. F.; ROCHA, L.; THIBAU M. da. **Agricultura Orgânica: Quando o Passado é Futuro.** BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 15, p. 3-34, mar. 2002.

RADMANN, E. B.; BIANCHI, V. J.; OLIVEIRA, R. P.; de, FACHINELLO, J. C. Caracterização e diversidade genética de cultivares de morangueiro. **Hortic. bras.**, v. 24, n. 1, jan.-mar. 2006.

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P.; DIONIZIO, F.; DIONIZIO, F.; RIBEIRO, A. C. Presença de *Staphylococcus aureus* em vegetais minimamente processados. In: **Anais do II**

**Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças.** Viçosa, p.50, 2000.

SEERAM, N. P.; LEE, R.; SCHEULLER, H. S.; HEBER, D. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatographic analysis of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. **Food Chemistry**, v.97, p. 1-11, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 1997.

SIMÕES, J. C.; DIAS, J. P. T.; PELEGRINI, D. F. Produtividade do morangueiro em unidades demonstrativas de diferentes sistemas de produção. In: XILVII Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia, 2009, Porto Alegre. **Anais do XILVII da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia**, 2009.

VERONA, L. A. F.; Cristiano N. N.; Eloi E. S. C. Avaliação de Cultivares de Morango em Sistema Orgânico, em um Estabelecimento Rural do Oeste Catarinense. **Rev. Bras. Agroecologia**, v. 2, n.1, fev. 2007.