

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
DEPARTAMENTO DE INORGÂNICA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANÁLISE DE VOLÁTEIS POR CG E DE COMPOSTOS BIOATIVOS POR CLAE (DAD,
UV E EM/EM) EM MORANGOS EM FUNÇÃO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO E DO
ARMAZENAMENTO A FRIO.

Júlia Maria Machado de Ávila

Porto Alegre
2012.

ANÁLISE DE VOLÁTEIS POR CG E DE COMPOSTOS BIOATIVOS POR CLAE (DAD,
UV E EM/EM) EM MORANGOS EM FUNÇÃO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO E DO
ARMAZENAMENTO A FRIO.

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química,
Departamento de Inorgânica,
Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como requisito
parcial para a obtenção do grau de
doutora em Química

Orientador: Prof.^a Dr.^a Maria do Carmo Ruaro Peralba

Co-orientador: Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano

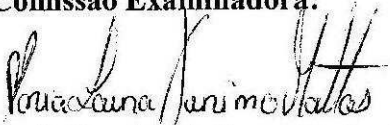
Júlia Maria Machado de Ávila

Porto Alegre

2012.

A presente Tese foi realizada inteiramente pela autora, exceto as colaborações citadas nos agradecimentos, no período de maio de 2007 a julho de 2012, no Instituto de Química da Universidade do Rio Grande do Sul, sob a orientação da Profa. Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba e co-orientação do Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano. A tese foi julgada adequada para obtenção do título de doutor em Química pela seguinte banca examinadora:


Comissão Examinadora:


Profa. Dra. Maria Laura Turino Mattos


Prof. Dr. Ricardo Peraça Toralles


Prof. Dr. Celso Camilo Moro


Profa. Dra. Sandra Maria Maia


Profa. Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba
(Orientadora)


Prof. Dr. Rufino Fernando Flores Cantillano
(Co-orientador)

Ao meu pai Júlio, minha irmã
Lúcia e minha sobrinha Luciana e
em especial à minha mãe Maria
Ruth e ao meu filho Júlio César
pela colaboração, carinho,
compreensão e paciência.

AGRADECIMENTOS

As forças superiores, aos familiares, aos amigos e em especial ao Americo Montoya Rios pelo apoio, colaboração e incentivo.

Ao Instituto Federal do Rio Grande do Sul (IFSUL - Campus Pelotas), a Embrapa Clima Temperado e a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) por disponibilizarem de instalações, equipamentos, recursos técnicos e financeiros, tornando desse modo viável a realização desse trabalho

À professora Doutora Maria do Carmo Ruaro Peralba pelo seu comprometimento profissional, amizade, apoio e orientação desta tese.

Ao Dr Rufino Fernando Flores Cantillano e a Professora Dra. Ana Maria Geller pelo incentivo, apoio e colaboração na realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Ricardo Peraça Toralles por sua atenção, dedicação, amizade, profissionalismo, apoio e colaboração na realização deste trabalho

A Professora Dra Tânia Mara Pizzolato por seu comprometimento profissional, sua atenção, amizade, apoio, incentivo e colaboração na realização deste trabalho

Ao Prof. Dr. Marco Flores Ferrão por ter realizado a Análise Multivariada nos dados das análises dos fenólicos e das antocianinas.

À Louíse Jank por ter implementado o método e realizado todas as análises dos fenólicos no LC-EM/EM no laboratório de RPM (Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas e Medicamentos) do LANAGRO-RS.

Ao LANAGRO-RS por ter disponibilizado o equipamento para a realização das análises.

Aos colegas dos laboratórios D-110, D-107, D-112, K-102, E-202 da UFRGS, RPM do LANAGRO e dos laboratórios de pós-colheita e de Tecnologia de Alimentos da Embrapa Clima Temperado pelo apoio, colaboração e amizade. Meus agradecimentos em especial aos funcionários Nubia Ferri, Fernando Volcan e Jussara dos Santos pela colaboração na realização das análises físicas e químicas nos laboratórios da Embrapa Clima Temperado.

A minha colega da UFRGS, Janaína Berne da Costa, que nesses anos se tornou uma grande amiga, meus agradecimentos especiais por seu apoio e colaboração.

Aos professores e funcionários da UFRGS pela sua boa vontade, profissionalismo e competência.

Aos colegas do IFSUL (Campus Pelotas) em especial a professora Nara Muller e as professoras Luiza Placidina da Luz e Maritana Farias, que também desenvolveram suas atividades no curso de pós-graduação em Química pelo apoio, incentivo, colaboração e amizade.

A CAPES pela concessão da bolsa e a todos que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho os meus mais sinceros agradecimentos.

“Eu sou um canal aberto para o poder Divino e a criatividade do Universo fluam e se expressem através de mim. Tudo o que eu preciso saber me é revelado e tudo de que eu preciso chega até mim. Eu tenho uma proteção Divina. Deus me guia e torna o meu caminho fácil e suave”.

Louise Hay

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Apresentação em Congressos:

TORALLES, R. P.; NEUJHR, M. C.; ÁVILA, J. M. M., PERALBA, M. C. R., *Fenóis totais e capacidade antioxidante em cultivar de morango Camarosa: calibração e determinação*. II Jornada de Produção Científica da Educação Profissional e Tecnológica da Região Sul 2008, Pelotas/RS Anais: CEFET/RS. 2008.

ÁVILA, J. M. M.; PERALBA, M. C. R.; CANTILLANO, R. F. F.; TORALLES, R. P.; PIZZOLATO, T. M. *Comportamento da vitamina C em cultivares de morango, em função do tempo de armazenamento e sistema de plantio*. In: 15º Encontro Nacional de Química Analítica ENQA - 3º Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009, Salvador - BA. Anais do 15º Encontro Nacional de Química Analítica - 3º Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009.

ÁVILA, J.M.M.; TORALLES, R.P.; NEUJHR, M.C., CANTILLANO, R.F.F.; PERALBA, M.C.R., *Identificação por CCD e quantificação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em cultivares de morango do RS*. In: 8º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2009, Campinas. Anais do 8º SLACA, 2009.

AVILA, J. M. M.; TORALLES, R.P ; PERALBA, M. C. R. ; PIZZOLATO, T. M. ; CANTILLANO, Rufino Fernando Flores . *Identificação de antocianinas presentes em morango cv. Camarosa*. In: V Simpósio Nacional do Morango e IV Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul, Pelotas-RS. Anais do V Simposio Nacional do Morango e IV Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. Pelotas-RS, Embrapa Clima Temperado, 2010.

ÁVILA, J. M. M.; TORALLES, R. P.; FLORES CANTILLANO, R. F.; PERALBA, M. do C. R.; PIZZOLATO, T. M. *Influência do tempo de armazenamento e do sistema de plantio nos compostos voláteis presentes em cultivares de morango*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21., 2010, Natal. Frutas: saúde, inovação e responsabilidade: anais. Natal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010. 1 CD-ROM. Resumo expandido.

AVILA, J. M. M.; TORALLES, R.P.; CANTILLANO, R.F.F.; PERALBA, M. C. R.; PIZZOLATO, T. M. *Comportamento das antocianinas em cultivares de morango, em função do tempo de armazenamento e sistema de plantio*. In: 9º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2011, Campinas. Anais do 9º SLACA, 2011.

Artigos aceitos para publicação em revistas nacionais:

Ciência Rural:

Influência do sistema de produção e do armazenamento refrigerado nas características físico-químicas e no desenvolvimento de compostos voláteis em morangos.

Horticultura Brasileira:

Atividade antioxidante, compostos fenólicos e ácido ascórbico em morangos de dois sistemas de produção.

RESUMO

Morango é um fruto mundialmente conhecido possuindo uma expressiva produção e consumo no Brasil. O fruto tem alto valor nutritivo, é uma boa fonte de vitamina C e flavonóides, mas muito perecível. O armazenamento pós-colheita é de alto interesse de modo a preservar todas as propriedades que esta fruta apresenta até o seu consumo. O objetivo deste trabalho foi determinar, em morangos, a influência do sistema de produção e do período de armazenamento nas características físicas e químicas, na atividade antioxidante, nos compostos bioativos e voláteis (CV), bem como as suas correlações. Neste estudo foram utilizados morangos das cultivares 'Camarosa' e 'Camino Real' com maturação comercial, procedentes de lavouras em sistemas de produção orgânica e convencional, localizadas no município de Pelotas-RS. com planejamento experimental inteiramente casualizado, em triplicata de 15 frutos. Os morangos foram armazenados por 0, 2, 5 e 8 dias a temperatura de 1 °C, com 90-95% de umidade relativa (UR). Foram avaliadas a perda de massa, a coloração instrumental [L^* , a^* , b^* e ângulo hue (H)], a firmeza, os sólidos solúveis (SS), a acidez titulável (AT), a relação SS/AT, o pH e os teores de voláteis por CG-FID e os compostos bioativos por CLAE (DAD, UV e EM/EM). Os resultados revelaram que para a maioria dos experimentos os teores de fenóis totais e individuais, de antocianinas totais, atividade antioxidante, pH, sólidos solúveis, relação sólidos solúveis / acidez titulável e podridões apresentaram aumento durante o armazenamento refrigerado. Os teores de CV aumentaram com exceção do acetato de metila (AM). A firmeza oscilou e, ângulo Hue, teores de ácido ascórbico, cianidina-3-glucosídeo, perlagonidina-3-glucosídeo e de massa fresca diminuíram significativamente. Os teores de fenóis totais e antocianinas totais apresentaram correlação positiva com a atividade antioxidante, enquanto a correlação com o teor de ácido ascórbico foi negativa. O etanol (Et), o acetaldeído (Ac) e o acetato de etila (AE) correlacionaram-se positivamente com o teor de podridões para a cultivar Camino Real do cultivo orgânico. Após oito dias de armazenamento a 1 °C, os resultados indicaram que os frutos do sistema de produção orgânica tiveram a menor degradação de antocianinas e de ácido ascórbico. Os resultados mostraram que morangos de ambas as cultivares podem ser armazenados por cinco dias com qualidade, independente do sistema de produção.

ABSTRACT:

The strawberry is a fruit known worldwide which has a large production and consumption in Brazil. The fruit is highly nutritive, a good source of vitamin C and flavonoids but is very perishable. The post-harvesting storage is of great interest in order to preserve all the fruit properties until its consumption. The aim of this study was to determine the influence of the crop production system and storage period on physical and chemical characteristics, bioactives and volatiles compounds (VC) and antioxidant activity in strawberries, as well as their correlations. For this experiment, strawberries fruits cultivars 'Camarosa' and 'Camino Real' at commercial maturity from both organic and conventional crop production systems located in Pelotas-RS were used, with experimental planning randomized, in triplicate of fifteen fruits. The strawberries were stored at 1°C and 90-95% of relative humidity (RH). The mass loss, the instrumental color [L*, a*, b* and hue angle (H)], the firmness, the soluble solids (SS), the titratable acidity (TA), the SS/TA ratio, the pH and volatiles by GC-FID and bioactives compounds by LC (DAD-UV-MS/MS) content were determined. The results showed that, in most of the experiments, the total and individual phenolic, total anthocyanin levels, the antioxidant activity, the pH, the soluble solids, the soluble solids/titratable acidity ratio decay increased during cold storage. The values of VC increased with the exception of methyl acetate (MA). The firmness oscillated and titratable acidity, Hue angle, fresh weight, ascorbic acid levels, cyanidin-3-glucoside and perlagonidina-3-glucoside decreased significantly. Total phenol and anthocyanin levels showed positive correlations with total antioxidant activity, while the ascorbic acid content showed a negative correlation. Ethanol (Et), acetaldehyde (Ac) and ethyl acetate (EA) correlated positively with decay for Camino Real strawberry production organic system. After storage at 1°C for eight days, strawberry fruits from the organic production system presented lesser anthocyanin and ascorbic acid degradation. The results showed that for the strawberries produced by both system can be stored for five days without losing quality regardless the production system.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Ambiente protegido utilizando “mulching” e túnel baixo na produção do morango	5
Figura 2 – Reação de oxidação de ácido ascórbico a ácido deidroascórbico e de hidrólise deste último ao ácido 2,3 diceto-L-gulônico.	6
Figura 3 – Estrutura geral dos flavonóides (extraído de Volp <i>et al.</i> , 2008). ⁷⁶	9
Figura 4 – Representação esquemática da biossíntese dos flavonóides (Fonte Taffarello, 2008) ⁷⁸	10
Figura 5 – Estruturas dos compostos flavonóides.	12
Figura 6 – Estruturas dos compostos não flavonóides.	13
Figura 7 – Esquema de análise em espectrômetro de massas tipo triploquadrupolo.	16
Figura 8 – Cultivares de morangos no pomar comercial de Pelotas - safra 2008, (A) Camino Real Convencional; (B) Camino Real Orgânico; (C) Camarosa convencional e (D) Camarosa Orgânico.	23
Figura 9 – Amostras das cultivares de morango Camarosa e Camino Real no sistema orgânico e convencional: (A) e (B) antes do armazenamento no zero dia de colheita; (C) e (D) armazenadas por dois dias; (E) e (F) armazenadas por cinco dias; (G) e (H) armazenadas por oito dias. Todas as cultivares foram armazenadas em câmara fria a $1\pm 0,5$ °C, UR de 90 a 95%, seguida de comercialização simulada de 12h a 20 °C.	25
Figura 10 – Representação tridimensional pelo sistema C.I.E. $L^*a^*b^*$.	26
Figura 11 – (A) Triplo quadrupolo, fonte ^{136, 94} , (B) Esquema de seleção do íon precursor e sua fragmentação (íons produtos).	36
Figura 12 – Valores de L^* , a^* e b^* obtidos em colorímetro Minolta para as cultivares Camino Real e Camarosa, nos sistemas de plantio convencional e orgânico. Os números 0, 2, 5 e 8 inseridos ao lado de cada símbolo indica o tempo de armazenamento daquela cultivar.	41
Figura 13 – Variação percentual dos teores de: Fenóis totais- ΔFT versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.	48

Figura 14 – Variação percentual dos teores de Antocianinas totais- Δ ANT versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.	49
Figura 15 – Variação percentual na Atividade antioxidante- Δ TEAC-DPPH versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.	50
Figura 16 – Variação percentual nos teores de Ácido ascórbico- Δ AA versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.	52
Figura 17 – Curva de calibração do ácido L-ascórbico (AA) para a faixa de concentração de 1,04 a 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.	53
Figura 18 – Cromatograma do padrão L-ascórbico (AA).	53
Figura 19 – Variação percentual versus período de armazenamento Ácido ascórbico- Δ AA CLAE, em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.	55
Figura 20 – Cromatoplaça das antocianinas para cultivar Camarosa sistema de plantio convencional.	57
Figura 21 – Curvas de calibração dos padrões: (A) perlagonidina-3-glucosídeo (pg-3-gluc) para a faixa de concentração de 5 a 80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; (B) cianidina-3-glucosídeo (cy-3-gluc) para a faixa de concentração de 0,5 a 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.	58
Figura 22 – Cromatograma típico da amostra de extrato de morango na análise de antocianinas por CLAE /UV e CLAE/DAD, 1 (cy-3-gluc) e 2 (pg-3-gluc).	59
Figura 23 – Curvas de calibração dos padrões: (A) kaempferol (B) quercetina (C) ácido elágico para a faixa de concentração de 0 a 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.	60
Figura 24 – Cromatograma do extrato de morango na análise de fenólicos por CLAE-EM/EM (1) ácido elágico (2) quercetina (3) kaempferol	61
Figura 25 – Fragmentos característicos do ácido elágico no modo MS^3 .	63
Figura 26 – Fragmentos característicos da quercetina no modo MS^3 .	64
Figura 27 – Fragmentos característicos do Kaempferol no modo MS^3 .	65

- Figura 28 – Relação entre as duas componentes principais e as triplicatas das duas cultivares de morango em períodos de armazenamento de 0, 2, 5 e 8 dias. 66
- Figura 29 – Relação entre as duas componentes principais e os flavonóides quantificados por cromatografia a líquido em cultivares de morango nos períodos de armazenamento de 0, 2, 5 e 8 dias. 67
- Figura 30 – Dendograma obtido na análise hierárquica de agrupamento das triplicatas das duas cultivares de morango em períodos de armazenamento de 0, 2, 5 e 8 dias. 68
- Figura 31 – Curva de calibração dos padrões: etanol (▲), acetaldeído (■), acetato de metila (◆) e acetato de etila (●). 69
- Figura 32 – Cromatograma dos padrões dos voláteis acetaldeído (1), etanol (2), acetato de metila (3) e acetato de etila, (4) presentes nas amostras dos morangos dos sistemas convencional e orgânico 70
- Figura 33 – Correlação entre DPPH e os teores de Fenóis totais (A) e de Antocianinas totais (B) para as cultivares CC = Camarosa convencional e CRO = Camino Real orgânico, respectivamente. Pelotas – RS, - safra 2008 74

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I. Parâmetros otimizados para cada transição de m/z monitorada.	34
Tabela II. Parâmetros para a ionização por eletronebulização no modo negativo.	35
Tabela III. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – safra 2008.	43
Tabela IV. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – safra 2008.	44
Tabela V. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – safra 2008.	45
Tabela VI. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – safra 2008.	46
Tabela VII. Teor de ácido ascórbico dos frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – RS, safra 2008.	54
Tabela VIII. Fatores de retenção de padrões e amostra de antocianinas.	56
Tabela IX. Efeito do período de armazenamento e do sistema de plantio nos compostos voláteis das cultivares de morango Camino Real e Camarosa. Pelotas – RS, safra 2008.	71

Tabela X. Coeficientes de correlação entre atividade antioxidante (TEAC-DPPH) e teores de fenóis totais, de antocianinas totais e de ácido ascórbico para as cultivares Camino Real e Camarosa produzidas nos sistemas de produção convencional e orgânico. Pelotas - safra 2008. 73

Tabela XI. Coeficientes de correlação entre podridões e os compostos voláteis para as cultivares de morangos produzidas nos sistemas de produção convencional e orgânico, armazenados durante 8 dias. Pelotas – RS, safra 2008. 75

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido ascórbico
Ac	Acetaldeído
Acetil CoA	Acetilcoenzima A
ACP	Análise de Componentes Principais
AE	Acetato de etila
AHA	Análise Hierárquica de Agrupamentos
AM	Acetato de metila
ANT	Antocianinas totais
AT	Acidez titulável
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
µg	micrograma
µL	microlitros
µmol	micromoles
µm	micrometros
CC	Camarosa Convencional
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG	Cromatografia a Gás
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CL	Cromatografia Líquida
cm	centímetros
CO	Camarosa Orgânico
CPs	Componentes Principais
CRC	Camino Real Convencional
CRO	Camino Real Orgânico
Cy-3-gluc	Cianidina-3-glucosideo
DAD	Detector com Arranjo de Diodos
DIA	Ácido deidroascórbico
DIC	Dissociação Induzida por Colisão
DNA	Deoxyribonucleic acid

DPPH	2,2- difenil-1-picrilhidrasila
EM	Espectrometria de Massa
EFS	Extração em Fase Sólida
Et	Etanol
FD	Fator de Diluição
FID	Detector de Ionização em Chama
FT	Fenóis Totais
GAE	Equivalente a Ácido Gálico
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IEN	Ionização por Eletronebulização
L	Litros
mg	Miligramas
mL	mililitros
mm	milimitros
MM	Massa Molecular
MRM	Monitoramento de Reações Múltiplas
nm	Nanômetros
m/z	Razão massa/carga
°C	Graus Celsius
ORAC	Capacidade de Absorver o Radical Oxigênio
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
Pg-3-gluc	Perlagonidina-3-glucosideo
PM	Perda de Massa
PTFE	Politetrafluoretileno
PVDF	Polifluoreto de Vinilideno
RFs	Fatores de Retenção
SS	Sólidos Solúveis
TEAC	Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox
TE	Trolox Equivalente
TFA	Ácido Trifluoracético
t	Tonelada
TROLOX	Ácido 6 hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico
UR	Umidade Relativa

1.	Introdução.....	1
2.	Revisão bibliográfica.....	3
2.1.	Morango	3
2.2.	Composição Química	6
2.2.1.	Vitamina C	6
2.2.2.	Compostos voláteis	8
2.2.3.	Compostos fenólicos	9
2.3.....	Métodos de extração e quantificação dos flavonóides em frutas e no morango.....	13
2.4.	Atividade Antioxidante	18
2.5.	Fatores Pós-colheita que influenciam na qualidade do morango.....	19
3.	Objetivo geral	21
3.1.	Objetivos específicos.....	21
4.	Parte experimental.....	22
4.1.	Material vegetal.....	22
4.2.	Reagentes	23
4.3.	Análises	24
4.3.1.	Massa dos frutos	26
4.3.2.	Coloração e firmeza dos frutos	26
4.3.3.	Acidez e sólidos solúveis	27
4.3.4.	Fenóis Totais pela técnica de absorciometria molecular UV.....	27
4.3.5.	Antocianinas Totais pela técnica de absorciometria molecular UV	28
4.3.6.	Atividade antioxidante	28
4.3.7.	Vitamina C pela técnica titulométrica.....	29
4.3.8.	Vitamina C pela técnica cromatográfica.....	29
4.3.9.	Análise de voláteis por <i>headspace</i> e Cromatografia aGás (CG).....	30
4.3.10.	Antocianinas por Cromatografia de Camada Delgada (CCD).....	30
4.3.11.	Antocianinas e fenólicos por análise cromatográfica de alta eficiência	31
4.3.11.1.	Preparação da amostra	31
4.3.11.2.	Instrumental e condições cromatográficas	32
4.4.	Análise Estatística	37
4.4.1.	Análise multivariada	37
4.4.2.	Análise estatística ANOVA	39
5.	Resultados e discussão	40

5.1.	Análises	40
5.1.1.	Massa dos frutos	40
5.1.2.	Coloração e firmeza dos frutos	41
5.1.3.	Acidez e sólidos solúveis	47
5.1.4.	Fenóis Totais pela técnica de absorciometria molecular UV	47
5.1.5.	Antocianinas Totais pela técnica de absorciometria molecular UV	48
5.1.6.	Atividade antioxidante	50
5.1.7.	Vitamina C pela técnica titulométrica.....	51
5.1.8.	Vitamina C pela técnica cromatográfica.....	53
5.1.9.	Antocianinas por Cromatografia de Camada Delgada (CCD).....	56
5.1.10.	Antocianinas e fenólicos por análise cromatográfica de alta eficiência	57
5.1.11.	Análise dos voláteis por <i>headspace</i> e Cromatografia a Gás (CG).....	69
5.2.	Correlação entre as variáveis estudadas	73
6.	Conclusões	76
7.	Referências bibliográficas	78
Anexos		94

1. INTRODUÇÃO

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) é mundialmente conhecido e no Brasil possui uma expressiva produção e consumo. Os estados de maior produção de morango são Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul, produção que se destina a atender ao mercado *in natura* e à industrialização na forma de sucos, geléias e sorvetes.^{1, 2} O mercado de morango *in natura* possui grande potencial de crescimento, tanto aqueles de cultivo convencional quanto o de cultivo ou sistema orgânico. Mas, informações recentes de contaminação de frutas com agrotóxicos deixam o consumidor inseguro na compra dessa fruta. Nesse contexto experiências com produções no cultivo orgânico vem sendo gradativamente adotadas.³

O morango é um fruto muito perecível, com alta taxa respiratória e curta vida pós-colheita. Os danos mecânicos, feridas e batidas durante a colheita, transporte e comercialização, deixam o fruto susceptível ao ataque de microrganismos, causando perdas nutritivas, qualitativas e econômicas. Para evitar tais perdas o armazenamento refrigerado é o método mais utilizado para preservar a qualidade das frutas *in natura*, após a colheita.

A qualidade dos morangos está condicionada a fatores de pré e pós-colheita. Assim, as práticas culturais, adubação, tratamentos fitossanitários, qualidade da muda, condições climáticas e disponibilidade de água, são fatores de pré-colheita importantes para obter um produto com uma qualidade aceitável. Entre os fatores de pós-colheita importantes pode ser destacado o ponto adequado de colheita, manejo cuidadoso da fruta, temperatura e umidade relativa correta e sem flutuações durante o armazenamento refrigerado. Nesse contexto, é viável presumir que o sistema de produção pode afetar a composição nutricional e a qualidade da fruta.

Dentre os fatores de qualidade que podem ser alterados estão a perda de massa fresca, aparência da cor da epiderme, a firmeza do fruto, o sabor, o aroma e os teores de compostos voláteis, de sólidos solúveis, de compostos fenólicos, de ácido ascórbico, bem como as características físico-químicas e sensoriais mais importantes.^{4 - 7} Além disso, o aroma e o sabor da fruta são resultados de uma complexa interação entre um grande número de compostos voláteis e não-voláteis.^{8, 9}

Um grande número de compostos voláteis tem sido citado em morangos, incluindo: ésteres, aldeídos, cetonas, terpenos, álcoois, lactonas e derivados do furano.^{9, 10} Os voláteis de cadeia-curta, tais como acetaldeído, acetato de metila, acetato de etila, etanol e ácido acético são comuns em muitas frutas.^{8, 11, 12} Durante o armazenamento pode ocorrer perda dos

compostos responsáveis pelo aroma e também o acúmulo de produtos indesejáveis que acarretam o desenvolvimento do *off-flavor* (odor e gosto indesejável). O acetaldeído e o etanol são alguns dos indicadores de formação de *off-flavor* em frutas.¹³ As perdas no decorrer no armazenamento ou acúmulo de produtos indesejáveis ocasionam a perda da qualidade em morangos, redução da vida de prateleira e levam à rejeição do produto pelos consumidores. Por outro lado, o morango tem inúmeros compostos bioativos e elevada atividade antioxidante, que conferem inúmeros benefícios à saúde humana.^{14 - 16} Compostos bioativos são aqueles que exercem uma potente atividade biológica, já comprovada por vários pesquisadores.¹⁷ São chamados também de fitoquímicos e podem desempenhar diversos papéis em benefício da saúde humana.¹⁸ Estudos mostram que o alto consumo de frutas e vegetais previnem inúmeras doenças.^{19, 20} No caso do morango que é rico em compostos fenólicos e vitamina C, o seu consumo *in natura* ou na forma de suco inibe bactérias patogênicas tais como a *Salmonella* e *Staphylococcus*.²¹ Também apresentam ação anticarcinogênica^{1, 22, 23} e anticoagulante,²⁴ reduzem doenças cardiovasculares,²⁵ melhoram a função cognitiva através da proteção do cérebro²⁶ e ajudam na prevenção do diabetes e no mal de Alzheimer.^{27 - 29} Além disso, vários trabalhos sugerem que a atividade antioxidante estaria relacionada não só com os conteúdos totais desses compostos, mas com a composição dos mesmos.^{30 - 32}

Desta forma o presente trabalho visa o estudo da influência do período de armazenamento a frio, nos compostos voláteis e bioativos em morangos das cultivares Camarosa e Camino Real, cultivados em sistema de produção convencional e orgânico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Morango

O morango é mundialmente conhecido e apreciado é um pseudofruto não-climatérico da família *Rosaceae*, subfamília *Rosoidea*, tribo *Potentilla* e gênero *Fragaria*, a espécie (*Fragaria x ananassa* Duch.) é originária da América do Norte e do Chile. A produção de morango no Brasil está estimada em torno de 100 mil t por ano, ocupando uma área de 3.500 ha, destacando os estados de Minas Gerais (33%), São Paulo (31%) e Rio Grande do Sul (16%) como os maiores produtores.^{33, 34}

A cultura do morango é um segmento da produção agrícola de extrema importância para a economia gaúcha, pois gera empregos diretos e indiretos, utilizando mão-de-obra familiar, sendo principalmente cultivada em pequenas propriedades e em reduzidas extensões, gerando renda ao pequeno agricultor.³⁵ Atualmente o interesse pelo cultivo do morango é devido à elevada rentabilidade da cultura, a aceitação da fruta pelo consumidor e pela diversidade de opções de comercialização e de processamento. Além disso, o morango pode ser consumido durante todo ano, graças à introdução de novas variedades e novas tecnologias de produção.³⁶

As principais cultivares utilizadas no país provêm dos programas de melhoramento genético das Universidades da Califórnia e da Flórida, e de programas de melhoramento genético da Embrapa Clima Temperado de Pelotas e do Instituto Agrônomo - IAC (Campinas). Entre elas, estão as cultivares Camarosa e Camino Real provenientes dos programas de melhoramento genético da Universidade da Califórnia, sendo que as principais diferenças entre essas cultivares são que a cultivar Camino Real apresenta as plantas menores e menos vigorosas com relação a cultivar Camarosa.³⁷

No ano de 2005, os produtores do Rio Grande Sul receberam mudas de origem chilena e argentina para os primeiros testes. Em 2007, Oliveira e colaboradores avaliaram o desempenho produtivo da cultivar Camino Real, comparando-o com as cultivares Aromas e Camarosa, nas condições climáticas da região e recomendaram a cultivar Camino Real para o cultivo em produções comerciais no Rio Grande do Sul.³⁸

Atualmente no Brasil existem vários sistemas de produção, entre eles, destacam-se dois sistemas o convencional e o orgânico.

O sistema convencional é caracterizado pelo uso de insumos químicos como fertilizantes e agrotóxicos tais como herbicidas, inseticidas e fungicidas, esse último muito empregado no cultivo de morangos. A falta de rastreabilidade dos produtos comercializados, bem como, muitas vezes, de os insumos utilizados não serem os recomendados para a cultura, acarretando problemas de saúde à sociedade. Segundo o levantamento realizado pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), através dos dados apresentados no relatório de 2010, que foram divulgados em 2011 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), mais de 60% das amostras de morango apresentaram os valores de resíduos acima do permitido pela legislação brasileira e também resíduos de agrotóxicos não autorizados para esta cultura. Os resíduos não autorizados para a cultura do morango detectados como o acefato, endossulfan e metamidofos, foram proibidos em vários países e estão sendo reavaliados pela Anvisa ou estão em fase de descontinuidade programada.³⁹ Os agrotóxicos utilizados em grande escala podem ocasionar problemas para saúde e para o meio ambiente fazendo com que alguns agricultores busquem outras alternativas de produção. Uma dessas alternativas de produção é o sistema orgânico. Nesse sistema os produtos são cultivados sem agrotóxicos, adubos químicos, substâncias tóxicas e de origem sintética, evitando a contaminação do meio ambiente, do agricultor e da sociedade.⁴⁰ O sistema de produção orgânico não é somente um sistema livre de agrotóxicos, pois envolve um manejo equilibrado dos recursos naturais (solo, água, animais, insetos, etc). O crescimento acelerado da demanda por esse tipo de produto reflete uma mudança nas preferências dos consumidores, para alimentos gerados com técnicas não agressivas ao meio ambiente, inócuos e nutritivos.⁴¹ O sucesso da produção no sistema orgânico depende da rigorosa seleção de cultivares com aceitação comercial e adaptadas as condições locais de plantio, além da seleção de mudas de boa qualidade oriundas de plantas matrizes isentas de doenças e pragas. O cultivo orgânico deve contar com programas de melhoramento genético que forneçam clones adaptados a esse cultivo.^{42, 43}

Na produção de mudas de morango no sistema convencional ou no sistema orgânico, uma das práticas culturais mais utilizadas pelos agricultores é a cobertura do solo com um filme de plástico preto “mulching”, sobre o qual o morango é cultivado e a colocação e manejo do túnel plástico, Figura 1. O agricultor utiliza arcos para formar esse túnel baixo com filme de plástico transparente para cobrir toda a plantação, visando uma garantia de maior produção.



Figura 1 – Ambiente protegido utilizando “mulching” e túnel baixo na produção do morango.

Couto e colaboradores⁴⁴ analisando a organização da cadeia produtiva de morangos orgânicos no Estado de São Paulo evidenciaram que os pontos fracos são os preços elevados dos produtos orgânicos quando comparados aos produtos convencionais e o elevado custo com a certificação desses produtos.

Os morangos cultivados no sistema convencional ou orgânico são muito apreciados e possuem em sua composição química inúmeras vitaminas, entre elas a vitamina C e muitos minerais, tais como, potássio, cálcio, ferro, manganês, zinco e cobre.^{45, 46} O morango é também fonte de compostos voláteis e de compostos bioativos como os compostos fenólicos, flavonóides e a vitamina C, os quais são responsáveis pela ação antioxidante, antiarteroesclerose,^{17, 47, 48} anti-inflamatória, antimicrobiana,^{21, 49} anticancerígena^{50, 51}. Essas substâncias também atuam na prevenção do envelhecimento do cérebro,¹⁴ da artrite reumatóide⁵² e de doenças cardiovasculares.

2.2. Composição Química

2.2.1. Vitamina C

Entre as vitaminas presentes no morango a vitamina C é uma das mais importantes, porque além de ser essencial para seres humanos, age como antioxidante varredor de radicais livres e nutre as células, protegendo-as de danos causados pelos oxidantes.⁵³ A vitamina C é uma substância cristalina de sabor ácido, insolúvel na maioria dos solventes orgânicos e solúvel em água.⁵⁴ O meio alcalino, a exposição ao ar, a umidade e o calor aceleram a oxidação desta vitamina, e também o contato do alimento com metais, como o cobre, o ferro ou enzimas oxidativas.⁵⁵ A principal causa da degradação da vitamina C é a oxidação aeróbia ou anaeróbia, ambas levando à formação de furaldeídos, compostos que polimerizam facilmente e formam pigmentos escuros.⁵⁶

A vitamina C também conhecida como ácido ascórbico ocorre naturalmente em alimentos sob duas formas: a forma reduzida geralmente designada como ácido ascórbico (AA) e a forma oxidada ácido deidroascórbico (DIA), conforme ilustrado na Figura 2. Ambos são fisiologicamente ativos e são encontrados nos tecidos orgânicos. Uma nova oxidação do ácido deidroascórbico para o ácido 2,3 diceto-L-gulônico produz uma inativação irreversível da vitamina.^{57, 58}

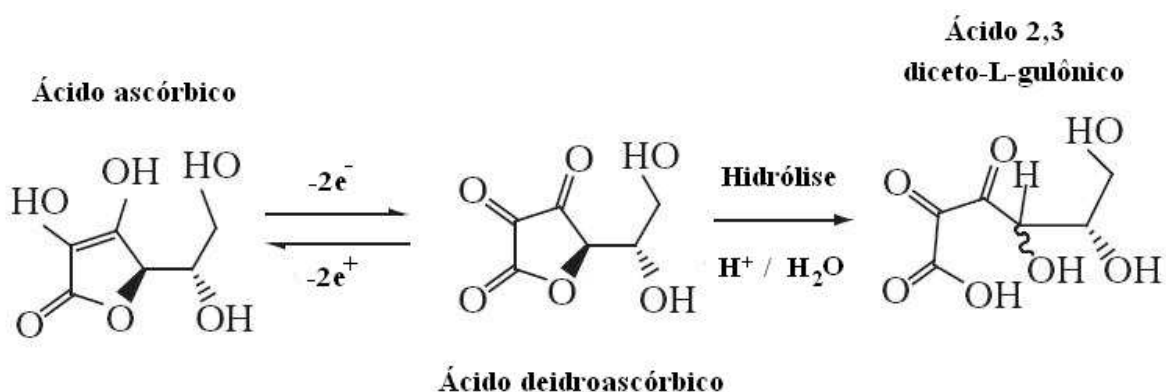


Figura 2 – Reação de oxidação de ácido ascórbico a ácido deidroascórbico e de hidrólise deste último ao ácido 2,3 diceto-L-gulônico.

Na literatura existem inúmeros métodos utilizados para a determinação da vitamina C: colorimétrico,⁵⁹ titulométrico,^{60, 61} e cromatografia a líquido.^{46, 58, 62, 63} Alguns trabalhos avaliaram o teor de ácido ascórbico em cultivares de morango, por método titulométrico com o reagente 2,6-diclorofenol indofenol. Entre eles destaca-se o trabalho de Sahari e colaboradores⁶¹ que determinaram o teor de vitamina C nas seguintes temperaturas de armazenamento (-12, -18 e -24 °C), por período de 1 a 90 dias, em uma cultivar de morango iraniano, cv. Kordestan. Eles concluíram que a perda de vitamina foi menor para as temperaturas mais baixas (-18 e -24 °C) e no decorrer de armazenamento houve perdas crescentes de vitamina C, para temperatura de (-12°C) de 1 dia a 90 dias de armazenamento, cujos valores oscilaram de 52 a 18 mg/100 g de fruta. Yurdugul,⁶⁴ comparou a vitamina C em amostras de morango fresco e liofilizado e encontrou valores de 50,7 e 51 mg/100 g de fruto, respectivamente.

Existem inúmeros trabalhos envolvendo a quantificação do ácido ascórbico (vitamina C) em cultivares de morangos por cromatografia a líquido. Entre eles destaca-se o trabalho de Asami e colaboradores,⁶⁵ que determinaram o teor de ácido ascórbico em amostras de morangos congelados da cultivar Northwest Totem, de sistemas de produção convencional, encontrando valor de 27,1 mg/100g de fruto fresco. Kafkas *et al.*,⁶⁶ investigando duas variedades de morango, Osmanli e Camarosa e vários híbridos em diferentes condições de maturação, encontraram para a fase madura valores oscilando entre 0,37 mg.kg⁻¹ a 1,04 mg.kg⁻¹ (de fruto congelado). Em outros trabalhos os autores quantificaram a vitamina por cromatografia a líquido durante o armazenamento. Koyuncu e colaboradores⁶³ analisando as cultivares Dorit e Selva armazenadas por 10 dias a 0 °C, encontraram valores menores após o armazenamento, comparando com os do dia da colheita. A cultivar Dorit reduziu de 24,70 para 16,35 e a cultivar Selva de 15,25 para 12,95 (valores expressos em mg.(100 g)⁻¹ de fruto fresco).

Terrazzan *et al.*⁶⁷, trabalhando com a cultivar Oso Grande em sistemas de produção convencional e orgânico e estocadas por 15 dias na temperatura de 1 e 11 °C, relataram que o tempo máximo para o consumo da fruta sem a perda da qualidade é de seis dias. Nesse período o teor de ácido ascórbico variou de 60 mg/100g de fruto fresco para o sistema convencional a 11 °C e entre 70 a 80 mg/100g de fruto fresco para os demais sistemas de produção x temperatura estudados (orgânico e convencional a 1 °C e orgânico a 11 °C). Além dos fatores estudados, a quantidade desse antioxidante depende das condições de crescimento, do tipo de solo, das condições climáticas, procedimentos agrícolas para cultura, grau de maturidade da fruta e armazenagem.⁶⁸

2.2.2. Compostos voláteis

O aroma atraente do morango é devido aos seus compostos voláteis, cuja concentração aumenta com a maturidade do fruto. Os frutos não-climatéricos sintetizam compostos voláteis em menor quantidade do que os climatéricos. Existem vários fatores que podem influenciar o sabor e o aroma de um produto agrícola, tais como a variedade utilizada, o tipo de solo e clima e o sistema de produção, orgânico ou convencional.⁶⁹ Foram encontrados no morango em torno 360 componentes responsáveis pelo aroma.⁷⁰

O aroma e o sabor da fruta são resultados de uma complexa interação entre um grande número de composto voláteis e não-voláteis.^{8,9}

Um grande número de compostos voláteis tem sido citado em morangos, incluindo: ésteres, aldeídos, cetonas, terpenos, álcoois, lactonas e derivados do furano.^{9, 10} Os voláteis de cadeia-curta, tais como acetaldeído (Ac), acetato de metila (AM), acetato de etila (AE), etanol (Et) e ácido acético são comuns em muitas frutas,^{8, 11, 12} sendo que alguns deles apresentam propriedades de inibição de fungos e bactérias.^{71, 72}

O acetaldeído (Ac) é um volátil acumulado durante o amadurecimento. É precursor do éster etílico produzido durante a maturação de morangos.⁷³ O acetaldeído pode também ser metabolizado para etanol (Et) pela enzima álcool desidrogenase e para (acetil CoA) pela enzima aldeído desidrogenase. O etanol e a acetil CoA são substratos para a síntese do acetato de etila. Os voláteis acetaldeído, etanol e acetato de etila são produzidos por morangos quando estocados sob condições aeróbicas.⁷⁴

O acetaldeído e etanol são alguns dos indicadores de formação de *off-flavor* (odor e gosto indesejável) em frutas. Estes compostos estão relacionados com os processos fermentativos.^{13, 74} O acetato de metila é um dos compostos importantes que contribuem para o aroma do morango.^{8, 75}

2.2.3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são classificados em flavonóides e não flavonóides. O primeiro grupo (flavonóides) possui estrutura geral, conforme ilustrado na Figura 3, e são amplamente encontrados no reino vegetal.

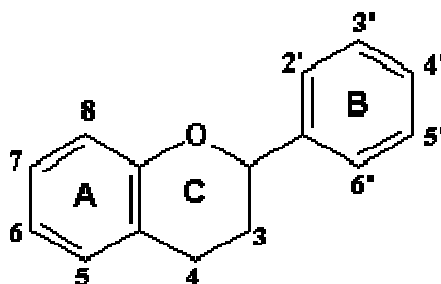


Figura 3 – Estrutura geral dos flavonóides (extraído de Volp *et al.*, 2008).⁷⁶

Os compostos fenólicos são oriundos do metabolismo secundário das plantas, sendo essencial para o seu crescimento e reprodução. Todos os fenólicos são sintetizados por via biossintética comum, incorporando precursores das vias do ácido chiquímico e do acetato-malonato.⁷⁷ O anel (B) é formado pela via da fenilalanina e o anel (A) pela via acetato-malonato. A fenilalanina é obtida pela via do ácido chiquímico, Figura 4.

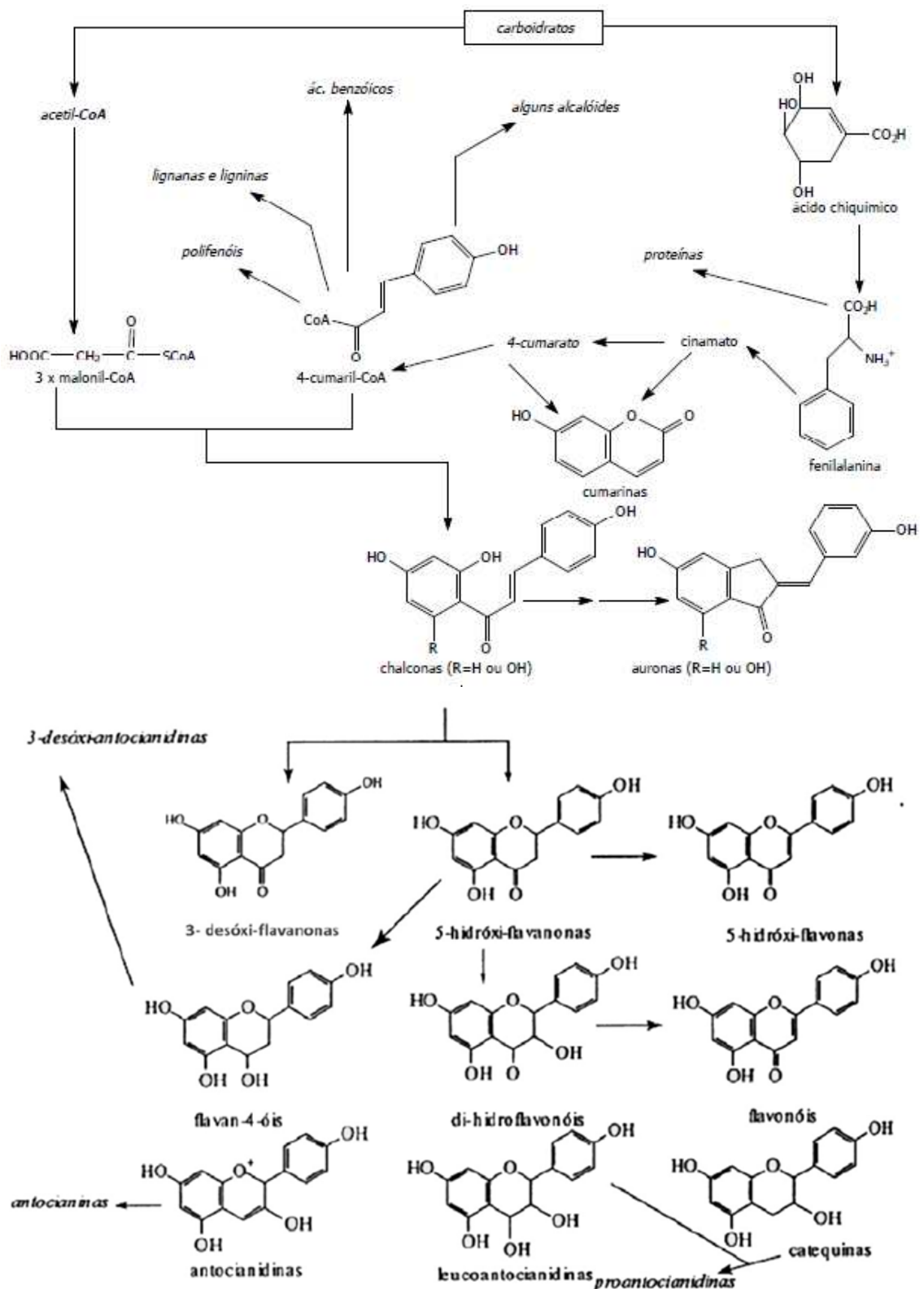
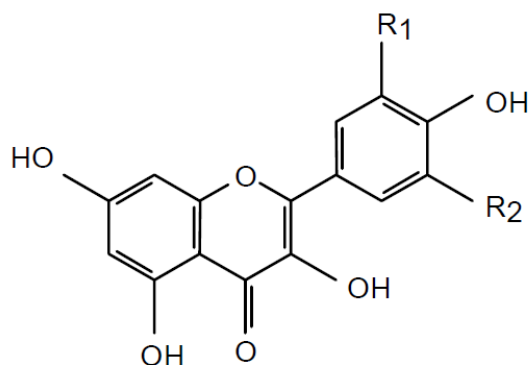


Figura 4 – Representação esquemática da biossíntese dos flavonóides (Fonte Taffarelo, 2008)⁷⁸

A fenilalanina origina o ácido cinâmico pela ação da enzima fenilalanina amonialiase (FAL) e com a perda de amônia. A (FAL) é a principal enzima da via do ácido chiquímico, sendo a mesma afetada pela ação de hormônios, níveis de nutrientes, luz, estresse, infecções por fungos e lesões. No caso de infecções por fungos haverá uma estimulação de FAL, resultando no aumento da síntese de compostos fenólicos.⁷⁷ Pela ação da chalcona sintase, nos compostos aromáticos derivados do aminoácido fenilalanina e do malonil-CoA, formam o precursor comum dos flavonóides, a chalcona. A partir da chalcona formam-se os seis maiores subgrupos de flavonóides encontrados na maioria das plantas superiores: chalconas, flavonas, flavononas, flavonóis, antocianinas, flavanóis (catequinas).⁷⁹ Desse subgrupo de flavonóides que estão presentes no morango são os flavanóis (catequina, epicatequina e epigalocatequina), flavonóis (kampferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, Figura 5. Os flavonóis diferem dos flavanóis por apresentarem o grupo carbonila na posição C4 do anel.

Um outro grupo de fenólicos importante é o dos não flavonóides, que é constituído pelos seguintes compostos: ácidos fenólicos, ácido benzóico e derivados (hidroxibenzóicos, ácido gálico e elágico); ácido cinâmicos e derivados (cumárico, caféico, ferúlico e cloragênico) e os taninos que são polifenóis onde os de natureza hidrolisável são polímeros de ácido gálico e elágico, Figura 6.

Flavonóis

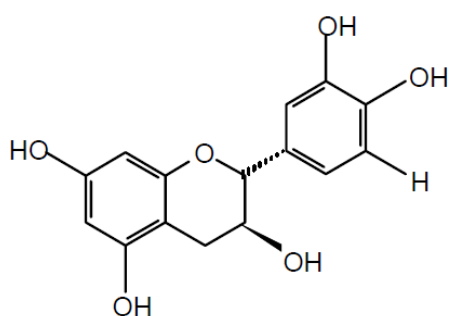


R₁=H R₂=H Kampferol

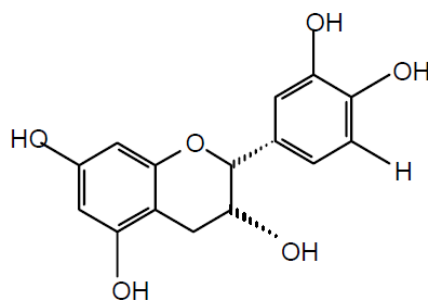
R₁=OH R₂=H Quercetina

R₁=OH R₂=OH Miricetina

Flavanóis

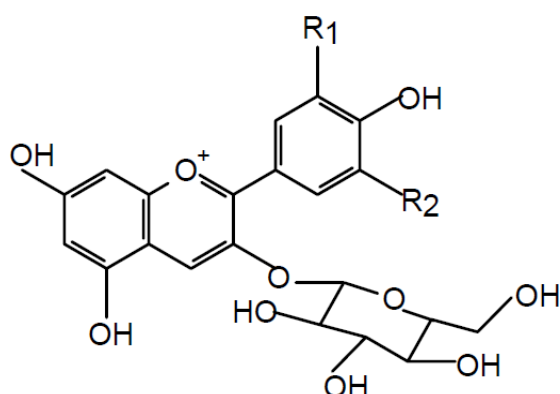


(+)- Catequina



(-)- Epicatequina

Antocianinas



R₁=OH R₂=H 3-G-Cianidina

R₁=H R₂=H 3-G-Perlagonidina

R₁=OCH₃ R₂=OCH₃ 3-G-Malvidina

Figura 5 – Estruturas dos compostos flavonóides.

Ácidos Fenólicos

Ácidos Benzóicos e derivados

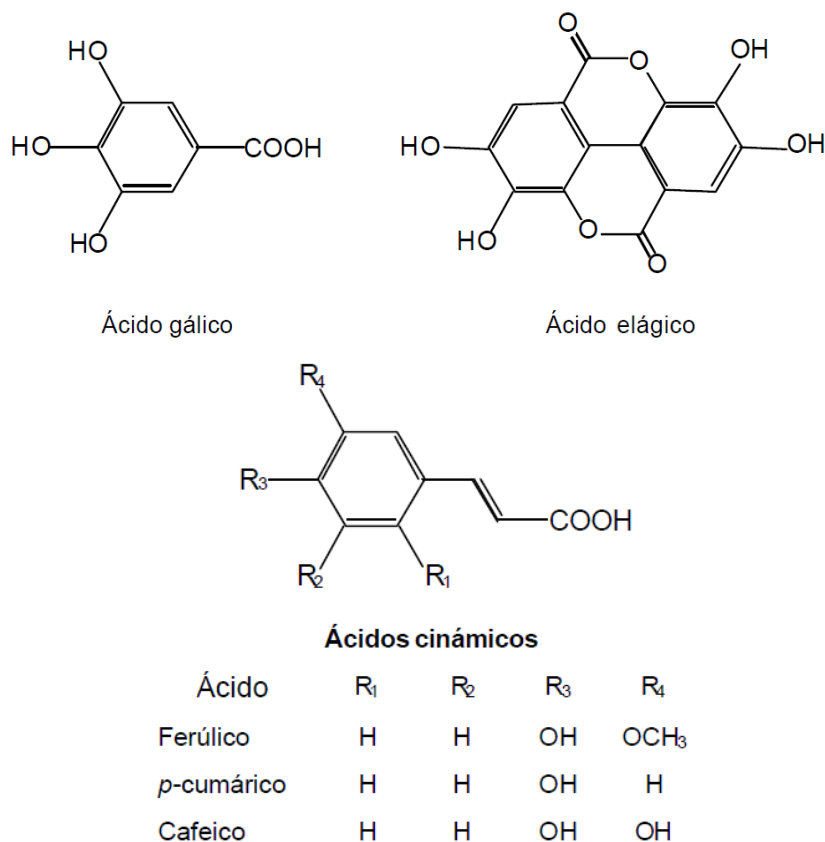


Figura 6 – Estruturas dos compostos não flavonóides.

2.3. Métodos de extração e quantificação dos flavonóides em frutas e no morango

Antes da realização da análise, uma etapa de grande importância é a extração dos analitos.

A extração dos fenólicos ou de antocianinas em amostras frescas ou liofilizadas de frutas vermelhas geralmente é realizada com metanol, etanol ou acetona acidificados com ácido clorídrico.^{16, 80-83} Na análise de kampferol, quercetina e miricetina em 19 frutas vermelhas da Finlândia, entre elas groselha, fambroesa e morango, utilizaram na extração desses analitos metanol acidificado com HCl. A extração também pode ser feita com sonificação.⁸⁴

No caso das antocianinas em morangos as amostras são dissolvidas na presença de metanol (concentrado) acidificado (0,1 a 0,5% de HCl).⁸⁵ Em alguns casos utiliza-se mistura de acetona:água (7:3 v/v) com a mesma concentração de HCl.¹ A diminuição do pH em

decorrência da adição do ácido confere maior estabilidade química à molécula da antocianina,^{86,87} uma vez que elas são instáveis em pH neutro ou alcalino.⁸⁸

Outro procedimento que pode ser realizado é a hidrólise ácida onde a aglicona é liberada e pode ser quantificada por comparação com os padrões de agliconas. Geralmente é utilizado ácido clorídrico (2 M) com aquecimento a 90 °C e refluxo por 2 h.

Vários métodos têm sido utilizados com sucesso para a purificação (*clean-up*) dos extratos brutos de flavonóides, contudo, o método mais utilizado atualmente é a extração em fase sólida (EFS).⁸⁹ A EFS é baseada na adsorção dos analitos, inicialmente presentes na matriz líquida, em cartuchos contendo um adsorvente sólido. Os analitos são, posteriormente, eluídos do cartucho com um solvente apropriado. Os mecanismos de retenção da EFS são semelhantes aos da cromatografia em coluna e os adsorventes utilizados são os mesmos empregados na cromatografia líquida, sendo o mais popular o grupo octadecil ligado à sílica (C₁₈).

A técnica de extração em fase sólida (EFS) por ser uma técnica relativamente simples é muito empregada no *clean-up*, isto é na purificação de matrizes de frutas. O cartucho de fase reversa com adsorvente C₁₈ é o mais utilizado, e os solventes para eluição dos flavonóides mais utilizados são o metanol ou o etanol contendo algum ácido, como o ácido trifluoracético (TFA), ácido clorídrico ou ácido acético. Os extratos resultantes são livres de açúcares, alcoóis e proteínas.^{1, 85, 90}

Há vários métodos de quantificação dos flavonóides. Um método prático muito utilizado para a determinação dos compostos fenólicos totais em frutas é o método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu* descrito por Singleton *et al.*⁹¹ A análise é feita no suco obtido da fruta. O reativo Folin-Ciocalteu é composto de uma mistura dos ácidos fosfowolfrâmico e fosfomolibdico em meio básico que sofrem redução e oxidam os compostos fenólicos, originando óxidos azuis de tungstênio (W₈O₂₃) e molibdênio (Mo₈O₂₃). Asami e colaboradores⁶⁵ concluíram, utilizando este método, que as amostras de morango da cultivar Northwest Totem, apresentaram total de fenólicos superior no sistema de produção orgânico, quando comparado ao sistema de produção convencional. Já Pinto e colaboradores⁴⁶ avaliando o teor de fenólicos totais de sete cultivares verificaram que a cultivar Dover apresentou os maiores valores 318 mg.(100 g)⁻¹ de fruto fresco seguida da cultivar Camarosa 262 mg.(100 g)⁻¹ de fruto fresco. Em outro trabalho foram estudadas treze cultivares em ambiente protegido e em diferentes épocas de colheita. A cultivar Camarosa apresentou os menores valores de compostos fenólicos totais, sendo o valor máximo de 193,78 mg equivalente de ácido gálico por 100 g de fruto fresco.⁹²

Um outro método muito utilizado é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A determinação dos compostos fenólicos em frutas por (CLAE), no geral, realizada em uma coluna de fase reversa, geralmente coluna C18, de comprimento variando de 150 a 250 mm, diâmetro interno de 4,6 mm e diâmetro de partículas de 5 μm , normalmente utilizando o método gradiente com dois solventes: água ultra pura acidificada (solvente A) e solvente orgânico polar (solvente B). Os ácidos utilizados na acidificação são ácido acético, ácido trifluoracético, ácido fórmico ou ácido perclórico e o solvente orgânico polar metanol ou acetonitrila.⁹³ A temperatura da coluna, na maioria dos trabalhos, varia de 25 a 35 $^{\circ}\text{C}$, o volume das injeções entre 20 μL a 50 μL e o fluxo da fase móvel entre 0,5 a 1,0 mL/min. A detecção é geralmente feita por detectores de ultravioleta (UV) ou conjunto de diodos (DAD), com seleção do comprimento de onda de interesse, geralmente de 280 nm ou 360 nm para os flavanóis (catequina e epicatequina) e os flavonóis (kaempferol, quercetina e miricetina) e de 520 nm para as antocianinas. A análise também pode ser realizada por Cromatografia Líquida (CL) acoplada à espectrometria de massas (EM) ou ainda no modo “Tandem” (em sequência), denominado de EM/EM, sendo essa uma ferramenta importante para separação dos compostos fenólicos e sua identificação estrutural. Na CL-EM/EM a fonte de ionização geralmente utilizada é de ionização por eletronebulização (eletrospray ionization) (IEN), que é uma ionização mais branda e, portanto, mais adequada para compostos mais lábeis.

A CL-EM/EM quando utiliza o modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) torna-se uma técnica de alta especificidade analítica. Nesse modo de monitoramento, os analisadores de massa Q1 e Q3 selecionam os íons precursores e produto, respectivamente, definindo uma transição massa/carga (m/z) específica, conforme esquematizado na Figura 7. No Q2 os íons precursores de Q1 sofrem colisão com um gás inerte e são fragmentados, dissociação induzida por colisão (DIC), gerando uma ou mais transições para o mesmo íon precursor.⁹⁴ O íon-produto específico é selecionado em Q3 e chega no sistema de detecção. No MRM o composto está sendo monitorado e quantificado na mesma análise. Esse íon produto específico gerado em Q3 é característico da molécula. Essa técnica é de grande interesse quando as moléculas do analito se encontram presentes com outras moléculas de mesma massa molar e também quando os analitos coeluem. Neste modo de aquisição são selecionados um íon precursor e dois íons produtos onde o mais intenso é o quantificador e outro é utilizado para confirmação do composto, chamado de qualificador.⁹⁵



Fonte: Mazuqueli, 2008.⁹⁶

Figura 7 – Esquema de análise em espectrômetro de massas tipo triploquadrupolo.

A literatura apresenta vários trabalhos utilizando as técnicas de CL-EM/EM^{1,85,97} e CLAE-DAD UV ou CLAE-DAD/EM⁹⁸⁻¹⁰² nas análises de flavonóides em amostras de morango.

Sultana *et al.*¹⁰³ analisaram quantitativamente kampferol, quercetina e miricetina em frutas do mercado do Paquistão, entre elas amora, maçã e morango, por CLAE-UV. A espécie de morango analisada foi *Fragaria x ananassa* e encontraram teores de 3382,9 mg.kg⁻¹ de massa seca para miricetina e 192,6 mg.kg⁻¹ de massa seca para o kampferol. A quercetina não foi detectada por esta técnica.

Kajdzanoska *et al.*¹⁰⁴ identificaram fenólicos em morangos da Macedônia pela técnica de CLAE-DAD-IEN-EM. Os íons monitorados foram m/z 285 para a Kampferol-3-glucosídeo, e m/z 301 para a quercetina-3-glucosídeo, ambos no modo negativo ($M - H^+$).

Existem inúmeros trabalhos relatando a identificação e quantificação de antocianinas em morangos utilizando CLAE com detectores UV ou DAD e em alguns casos CL-EM/EM.^{1, 97, 105-108}

Tullipani e colaboradores¹⁰⁷ estudando nove genótipos diferentes de morango, confirmaram por CLAE-DAD altas concentrações de pelargonidinas, cujos teores de Pg 3-gluc variaram em média de 95 a 282 mg. kg⁻¹. Outros trabalhos confirmam que no morango a pelargonidina-3-glucosídeo (Pg 3-gluc) é majoritária e que em teores menores são encontradas a cinidina-3-glucosídeo (Cy 3-gluc) e a pelargonidina-3-rutinosídeo (Pg 3-rut).^{105 - 107}

Seeram e colaboradores¹ identificaram e quantificaram antocianinas em pequenas frutas, entre elas o morango, pela técnica de CL com detector de massas no modo de EM/EM. Os íons monitorados foram m/z 287 para a cianidina (Cy 3-gluc) e para as pelargonidinas m/z 271 (Pg 3-gluc) e m/z 433 e 271 (Pg 3-rut).

Buendia *et al.*⁹⁷ estudando 15 cultivares de morango e utilizando CL-EM/EM determinaram para a perlagonidina Pg 3-gluc valores oscilando entre 162 a 363 mg. kg⁻¹.

Silva *et al.*¹⁰⁹ ao estudarem por CLAE-DAD-IEN-EM a concentração de antocianinas em cinco espécies de morango plantadas num período de 2 anos, verificaram que as proporções de cianidina (Cy 3-gluc) variaram em média de 10 a 41 mg. kg⁻¹. A relação *m/z* utilizada foi 287 (Cy 3-gluc).

Atualmente os químicos desejam realizar análise simultânea de compostos, isto é identificar ou quantificar vários compostos com estruturas químicas diferentes e ainda sem a necessidade de pré-tratamento da amostra. As vantagens no uso da análise simultânea é a rapidez da análise, redução do uso de reagentes, menor custo da análise e simplificação no preparo da amostra. No caso dos flavonóides entre eles, os flavanóis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), os flavonóis (kämpferol, quercetina e miricetina) e as antocianinas (cianidina-3-glucosideo, perlagonidina-3-glucosideo e perlagonidina-3-rutinosideo), eles podem ser analisados simultaneamente em pequenas frutas.^{46,110, 111} Dentre os trabalhos na literatura pode-se citar Pinto e colaboradores⁴⁶, que quantificaram por CLAE-DAD o conteúdo de flavonóides e de ácido elágico livre de sete cultivares de morango da espécie *Fragaria x ananassa Duch.*. Os valores encontrados (expressos em mg por 100g de amostra fresca) para cultivar Camarosa foram: perlagonidina e derivados, 43; cianidina e derivados, 1,2; quercetina, 2,7 e Kämpferol, 0,79. Segundo os autores, os compostos catequina e a epicatequina não foram possíveis de serem detectados por esta técnica. Simirgiotis *et al.*¹¹⁰ analisaram os compostos fenólicos de morangos maduros *Fragaria Chiloensis* da Patagônia e compararam com morangos da *Fragaria x ananassa* cultivar comercial Chandler. A análise qualitativa e quantitativa utilizando CLAE-DAD e CL-IEN-EM foram realizadas de forma simultânea, utilizado comprimento de onda de 520 nm para detecção das antocianinas e 254 nm para os demais compostos analisados. Os resultados encontrados, expressos em mg por 100 g de fruto fresco, foram: Cy3-glu, 3,03; Pg-3gluc, 20,40; Pg-3rut, 4,55; ácido elágico livre, 0,54. Os resultados após hidrólise foram: ácido elágico, 36,91; quercetina, 0,90 e kämpferol 0,86.¹¹⁰ As variações nas concentrações dos flavonóides encontradas nesses trabalhos são atribuídos ao clima, região, composição do solo, estágio de maturação e estocagem.¹¹²

2.4. Atividade Antioxidante

Radicais livres derivados do oxigênio como o radical ânion superóxido (O_2^{*-}) e o radical hidroxila (OH^*), podem atacar biomoléculas tais como, os lipídeos, as proteínas ou DNA. Os radicais livres estão vinculados a uma série de patologias dentre elas doenças coronárias, artrites reumatóides e neoplasias. O estresse oxidativo é o dano causado pelos radicais livres devido ao desequilíbrio no organismo entre oxidantes e antioxidantes. O consumo de frutas e vegetais com atividade antioxidante é um forte aliado na prevenção das doenças. O morango comparado a outras frutas (abacaxi, banana, pêsego, limão, laranja, pêra, e toranja) possui maior atividade antioxidante devido aos seus constituintes compostos fenólicos, carotenóides, vitamina C, etc.¹¹³ Os métodos mais empregados na determinação da atividade antioxidante em frutas são:

- a) ORAC,¹¹⁴ método que estabelece uma correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos e sua capacidade de absorver o radical oxigênio;
- b) DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), método de seqüestro de radicais livres. O radical livre DPPH é estável e é capaz de sofrer redução na presença de um antioxidante doador de hidrogênio e/ou elétron;
- c) ABTS, método que utiliza 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) que sofre redução na presença do antioxidante. Nestes últimos dois métodos a capacidade antioxidante pode ser expressa como atividade antioxidante equivalente ao Trolox. (TEAC).

Silva³⁴ avaliou a capacidade de quatro frutas utilizando o método TEAC-DPPH. A ordem decrescente de atividade antioxidante encontrada foi amora > morango > mirtilo > pêsego, e no caso do morango houve correlação ($r = 0,89$, $p < 0,005$) entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais, em todas as cultivares estudadas.³⁴

A identificação e quantificação dos compostos que apresentam atividade antioxidante e que contribuem para a saúde humana é de extrema importância, no entanto é necessário o controle de todo o processo para que não haja perda desses compostos. Desse modo o estudo e aplicação das técnicas de colheita e pós-colheita se tornam imprescindíveis para garantir a qualidade da fruta até o consumo final.

2.5. Fatores Pós-colheita que influenciam na qualidade do morango

As frutas são divididas em climatéricas e não climatéricas de acordo com o padrão respiratório. O morango é um fruto não climatérico de curta vida pós-colheita. Esse fruto, em sua condição de tecido vivo, sofrendo mudanças constantes após a colheita, na maioria de caráter irreversível, devido as reações degradativas sob a ação da respiração, mudanças metabólicas (mudanças bioquímicas associadas com o metabolismo respiratório, biossíntese e mudanças composicionais), machucados, perda de água, desordens fisiológicas e microbiológicas.¹¹⁵ Um dos maiores problemas enfrentados pelos produtores são as perdas, por ser um produto muito perecível, havendo uma maior necessidade de utilização da refrigeração, não somente para a melhoria da qualidade como também para a redução das perdas.¹¹⁶

No armazenamento em ar refrigerado a temperatura e a umidade recomendada são de 0 – 1,5 °C e de 90 a 95%, respectivamente, por um período de armazenamento de no máximo sete dias. Essa técnica pode ser associada à técnica da atmosfera modificada com CO₂, caracterizada pelo uso de embalagens lacradas com filmes impermeáveis que retém o CO₂ injetado, sendo as perdas compensadas pelo CO₂ liberado da própria fruta.^{115, 117}

A refrigeração retarda, mas não exclui totalmente as alterações ocorridas nas frutas durante o armazenamento. Essas alterações físicas e químicas influenciam o pH, a acidez, os sólidos solúveis e os constituintes fitoquímicos. Exemplificando algumas dessas alterações, a acidez titulável da fruta está relacionada aos ácidos orgânicos presentes e o valor do pH (potencial hidrogeniônico) que é inversamente proporcional ao logaritmo da concentração de íons H₃O⁺. O estudo do pH das frutas é um parâmetro importante para determinar a utilização da fruta para a indústria ou *in natura*. Os consumidores preferem para o consumo *in natura* um morango pouco ácido, enquanto que para indústria são utilizados morangos com valores de pH baixos. No geral o pH do morango é inferior a 4,5, o que é desejável pois evita o crescimento de microrganismos.

A firmeza de polpa e a resistência da epiderme são atributos importantes para o morango que será consumido *in natura*, uma vez que esses atributos impedirão que a fruta não se danifique no transporte.¹¹⁸ A cultivar Camarosa, na colheita, segundo Malgarim *et al.*,¹¹⁹ apresentou valor médio de 4,52 N, enquanto que a cultivar Camino Real, segundo Cantillano *et al.*,¹¹⁶ 3,13 N. Já para as cultivares Dover e Oso Grande, Alves¹²⁰ encontrou valor médio de 5,98 N.

A perda de água durante o armazenamento ocasiona o ressecamento e amolecimento da fruta. As perdas superiores a 10% comprometem a qualidade do morango, causando a rejeição do produto pelos consumidores.^{67, 121, 122}

A cor é determinada por colorimetria, além de auxiliar na caracterização da cor de diferentes pigmentos, tais como antocianinas, clorofilas e carotenóides, é muito utilizada para avaliar a cor de alimentos e sua aceitabilidade comercial.¹²³

Os sólidos solúveis (SS) é útil para estimar a quantidade de açúcares presentes na fruta. De acordo com Mitcham *et al.*,¹²⁴ os SS devem ser de no mínimo 7% para morangos.

A relação SS/AT é uma relação entre sólidos solúveis (SS) e acidez titulável (AT), denominada também por “ratio”, é um dos mais importantes parâmetros avaliados no morango, sendo responsável pela palatabilidade da fruta. Essa relação representa equilíbrio entre os valores de SS (no mínimo 7%) e da acidez titulável (AT) valor de no máximo 0,8%, o índice considerado ideal para essa fruta é de $SS/AT \geq 8,75$.¹²⁵

Os compostos voláteis responsáveis pelo aroma podem sofrer perda durante o armazenamento e também pode ocorrer o acúmulo de produtos indesejáveis que acarretam o desenvolvimento do *off-flavor*. O acetaldeído e etanol são alguns dos indicadores de formação de *off-flavor* em frutas.¹³ As perdas no decorrer no armazenamento ou acúmulo de produtos indesejáveis ocasionam a perda da qualidade em morangos, redução da vida de prateleira e levam a rejeição do produto pelos consumidores.

A concentração dos bioativos nos morangos é influenciada por fatores como clima, temperatura, grau de maturação, tipo de variedade, época de plantio. A perda da vitamina C (ácido ascórbico) fato associado a perda da água, que ocasiona a oxidação da vitamina.^{116, 119, 126} O aumento de fenóis e antocianinas aumenta consequentemente a atividade antioxidante. Durante a estocagem de 0°C da cultivar Chandler as antocianinas decresceram no período de 6 dias, os fenóis totais tiveram um leve incremento e a atividade antioxidante (método ORAC) sofreu pouca alteração.¹²⁷ A estocagem acima de 0°C para a cultivar Kent mostrou que a atividade antioxidante (método ORAC) aumentou com o aumento das antocianinas.¹²⁸

Cheel *et al.*,⁸⁰ encontraram uma correlação positiva entre fenóis totais e atividade antioxidante, trabalhando com frutos da cultivar Chandler, usando o método DPPH.

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi estudar a influência do período de armazenamento e do sistema de produção nas características de qualidade e nos compostos voláteis e bioativos de cultivares de morango Camarosa e Camino Real, produzidos no município de Pelotas, RS.

3.1. Objetivos específicos

- [1] Determinar o teor de fenóis totais, de ácido ascórbico, de antocianinas totais e a atividade antioxidante, para as cultivares de morango Camarosa e Camino Real, cultivados em sistemas de produção: orgânico e convencional.
- [2] Estudar a correlação dos compostos e da atividade antioxidante.
- [3] Identificar e quantificar os compostos fenólicos, que apresentem propriedades antioxidantes, por meio da CCD, CLAE-DAD -UV e CL-EM/EM.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Material vegetal

Foram estudados morangos (*Fragaria anassa* Duch.), da safra 2008, Figura 8, de duas diferentes cultivares, **Camarosa** e **Camino Real** e dois sistemas de produção, **convencional** e **orgânico**. Foram colhidos, aleatoriamente, 7 kg de frutos de cada cultivar dos dois sistemas de produção, sem defeito e de aspecto maduro, superfície de cor vermelho-brilhante entre 50% a 75%,¹²⁹ em 28/10/2008 por pessoal treinado, utilizando luvas e cestos plásticos lavados e desinfetados. Os morangos foram coletados em dois pomares comerciais, situados na estrada da Gama - Monte Bonito, 9º distrito do município de Pelotas, na latitude 32°52'S, longitude 52°21'W e altitude 220 m. O solo é classificado como argissolo vermelho-amarelo distrófico.¹³⁰ A amostragem foi realizada com planejamento experimental inteiramente casualizado. Foram selecionados 15 frutos em triplicata, que foram armazenados por 0, 2, 5 e 8 dias, em câmara fria a 1±0,5 °C e umidade relativa (UR) de 90 a 95%, seguidos de uma simulação da comercialização de 12 h a 20 °C. Na colheita e após os períodos de armazenamento foram realizadas análises nos laboratórios de Pós-colheita e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Clima Temperado e de Alimentos do IFSUL (Campus Pelotas). Os frutos que não foram analisados imediatamente foram congelados por submersão em nitrogênio líquido, embalados, identificados e armazenados em freezer a -18 °C até o momento das análises nos laboratórios de Química Analítica e Ambiental (LQAA) do IQ/UFRGS e no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas e Medicamentos (RPM) do LANAGRO-RS (Laboratório Nacional Agropecuário no Rio Grande do Sul).



(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 8 – Cultivares de morangos no pomar comercial de Pelotas - safra 2008, (A) Camino Real Convencional; (B) Camino Real Orgânico; (C) Camarosa convencional e (D) Camarosa Orgânico.

4.2. Reagentes

Todos os reagentes foram de grau analítico ou grau HPLC. A água utilizada foi água purificada (tipo Milli-Q em membrana Millipore) com resistividade controlada em 18,2 Ω .

4.3. Análises

As análises foram realizadas no dia da colheita e nos períodos de 2, 5 e 8 dias de armazenamento, em triplicata de 15 morangos de cada cultivar, Figura 9. Foram realizadas análises tanto no fruto como no suco do mesmo.

No fruto foi determinada a massa, a firmeza e a coloração. No suco da fruta, obtido por trituração da polpa em triturador centrífugo (Wallita), foram realizadas as análises de pH, acidez titulável total (AT), sólidos solúveis (SS), fenóis totais (FT), antocianinas totais (ANT), atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) e vitamina C (pelo método titulométrico).

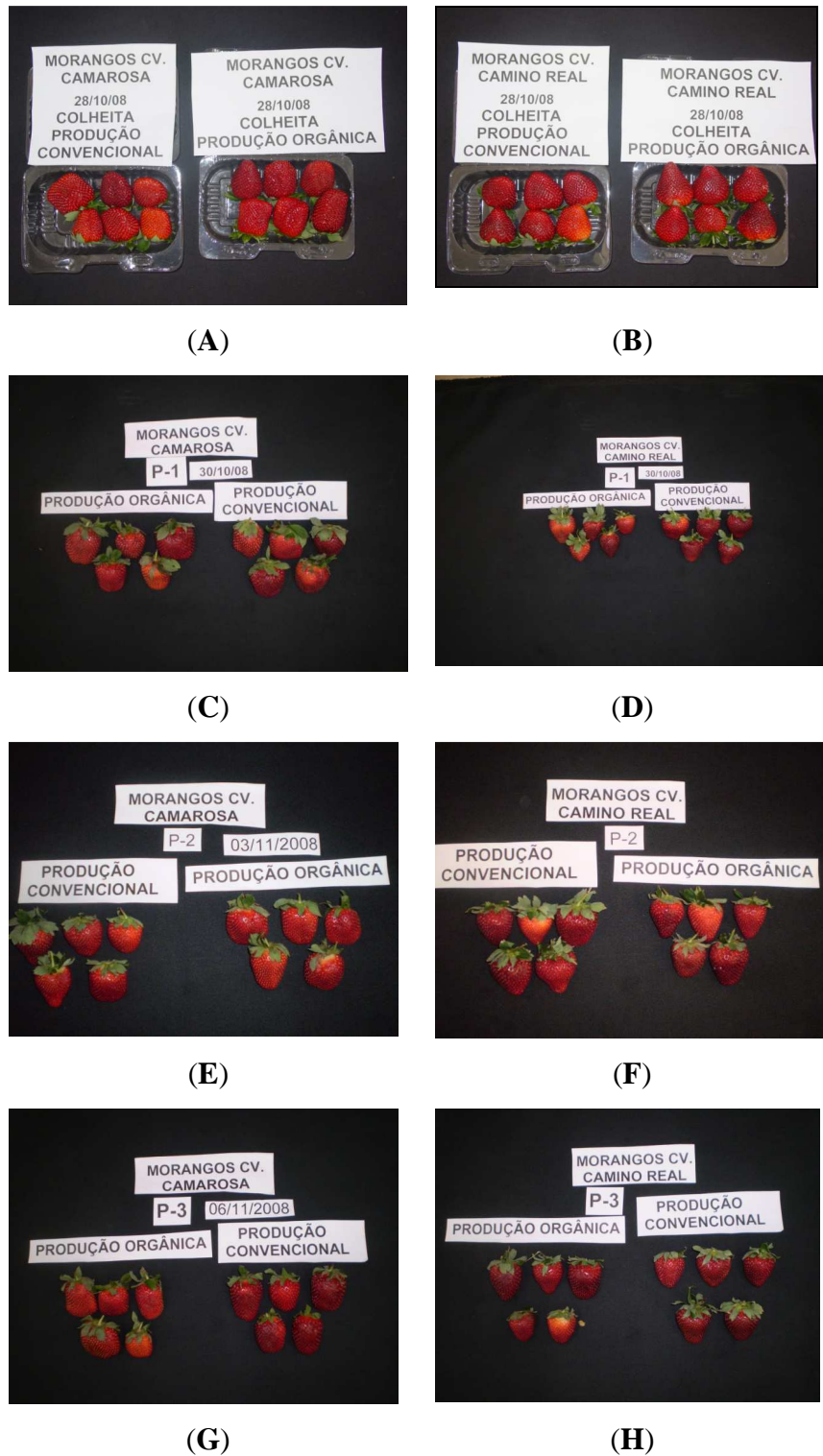


Figura 9 – Amostras das cultivares de morango Camarosa e Camino Real no sistema orgânico e convencional: (A) e (B) antes do armazenamento no zero dia de colheita; (C) e (D) armazenadas por dois dias; (E) e (F) armazenadas por cinco dias; (G) e (H) armazenadas por oito dias. Todas as cultivares foram armazenadas em câmara fria a $1\pm 0,5$ °C, UR de 90 a 95%, seguida de comercialização simulada de 12h a 20 °C.

4.3.1. Massa dos frutos

A massa do fruto foi determinada usando uma balança semi-analítica Marte AS5500 de precisão de $\pm 0,01\text{g}$. A variável relativa à perda de massa foi calculada através da diferença entre a massa inicial dos 15 frutos e da massa obtida em cada período de armazenamento, e expressa em percentual. A medida de massa dos frutos foi realizada antes das análises físico-químicas.

4.3.2. Coloração e firmeza dos frutos

A coloração dos frutos foi determinada através de colorímetro Minolta CR-300, com fonte de luz D 65 e 8mm de abertura. No padrão C.I.E.(Commission Internationale de l'Eclairage) de coordenadas $L^*a^*b^*$, a coordenada L^* expressa o grau de luminosidade da cor ($L^*=100 = \text{branco}$; $L^*=0 = \text{preto}$), Figura 10. A coordenada a^* expressa o grau de variação entre o vermelho e o verde e a coordenada b^* expressa o grau de variação entre o azul e o amarelo (Figura 10). Os valores a^* , b^* são usados para calcular o ângulo Hue ou matiz ($^{\circ}h^* = \tan^{-1} b^*.a^{*-1}$). O ângulo Hue igual a 0° é $+a^*$ (cor vermelha); 90° é $+b^*$ (cor amarela); 180° é $-a^*$ (verde) e 270° é $-b^*$ (azul).

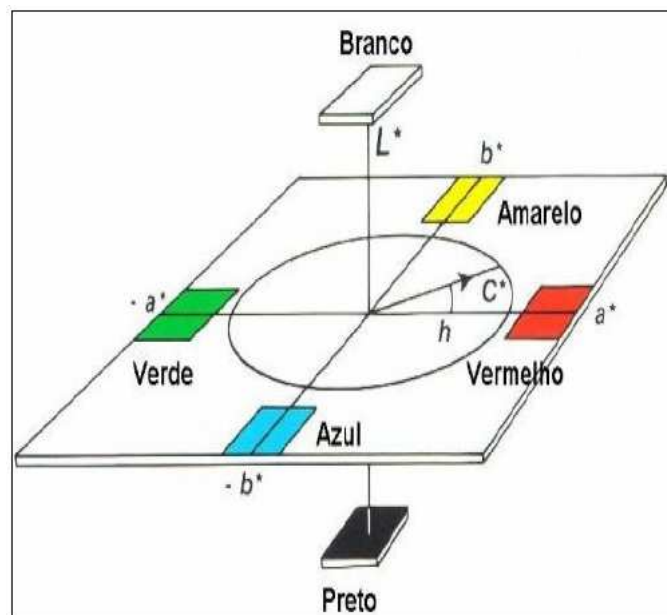


Figura 10 – Representação tridimensional pelo sistema C.I.E. $L^*a^*b^*$.

A firmeza dos frutos foi medida na região equatorial do fruto, com duas leituras em lados opostos na região equatorial, utilizando penetrômetro manual modelo FDP 1000 com ponteira de 5/16 polegadas de diâmetro. A mesma foi expressa em Newtons (N).

4.3.3. Acidez e sólidos solúveis

A acidez titulável total (AT) e os sólidos solúveis (SS) foram determinados segundo metodologia da AOAC.¹³¹ A acidez foi expressa em porcentagem de ácido cítrico. Os sólidos solúveis foram avaliados em um refratômetro digital ATAGO (escala de 0 a 53%) com correção de temperatura para 20 °C, os resultados foram expressos em °Brix.

4.3.4. Fenóis Totais pela técnica de absorciometria molecular UV

O teor de fenóis totais (FT) do suco extraído das frutas foi determinado segundo o método de Singleton e colaboradores.⁹¹ Em uma alíquota de 1,0 mL de suco recolhida em um balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se 60 mL de água deionizada e 5,0 mL de Folin-Ciocalteu. Após homogeneização do meio e repouso de 8 minutos, 20 mL de carbonato de sódio a 20% p/v foram adicionados e o volume do balão avolumado com água deionizada. Após homogeneização do meio e repouso de 2 horas, uma alíquota do meio reacional foi retirada e medida a absorbância em espectrofotômetro (Genesys 10 UV) no comprimento de onda de 725 nm. A concentração de fenóis totais foi expressa através da Equação 1:

$$FT = \frac{A \times MM \times 10^5}{\epsilon} \quad (1)$$

onde A é a absorbância e MM a massa molecular do ácido gálico (188,14 g/mol). Foi usado o valor de absorvidade molar (ϵ) encontrado por Toralles e colaboradores¹³² igual a (24000 L.mol⁻¹.cm⁻¹). Os resultados foram expressos em microgramas de ácido gálico por grama de fruta, $\mu\text{g.g}^{-1}$ GAE.

4.3.5. Antocianinas Totais pela técnica de absorciometria molecular UV

O teor de antocianinas totais (ANT) do suco foi determinado pelo método de Lees & Francis.¹³³ O método consiste em transferir cerca de 1 g de suco para um béquer de 100 mL, e adicionar 25,0 mL de etanol acidificado a pH 1,0 com HCl 1M. Manter a mistura sob agitação por 1 hora e filtrar em papel Whatman nº 26. Transferir para um balão volumétrico de 50,0 mL e avolumar com etanol acidificado a pH 1,0. Após homogeneização do meio, retirar uma alíquota da mistura e determinar a absorbância em espectrofotômetro UV (Cary 1E, Varian) no comprimento de onda de 520 nm. A concentração de antocianinas totais foi determinada através da Equação 2:

$$ANT = \frac{A \times FD}{98,2} \quad (2)$$

onde A é a absorbância e FD o fator de diluição. Foi usado o valor de absorvidade molar (ϵ) encontrado por Lees & Francis¹³³ para o extrato de "cranberry" igual a 98,2 L.mol⁻¹.cm⁻¹. Este valor corresponde a uma mistura de antocianinas purificadas obtidas do suco do cranberry.

4.3.6. Atividade antioxidante

A atividade antioxidante relativa foi determinada segundo o método de Ozgen e colaboradores,¹³⁴ em termos de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Alíquotas de 20 μ L do suco extraído das frutas foram adicionados a 3 mL da solução do radical livre DPPH, a 100 μ M. Após 30 minutos, fez-se a leitura da absorbância no espectrofotômetro UV (Cary 1E, Varian) no comprimento de onda de 515 nm para DPPH. Os valores encontrados foram calculados de acordo com a Equação 3:

$$TEAC = \frac{(A_B - A_A)}{\epsilon} \times \frac{V}{m} \times FD \quad (3)$$

onde A_B = absorbância do branco; A_A = absorbância da amostra; V = volume de centrifugado em mL; m = massa de amostra em g; foi usado o valor de absorvidade molar (ϵ) do Trolox determinado por Toralles e colaboradores¹³² igual a 182 L.mol⁻¹.cm⁻¹ e FD = fator de diluição.

A atividade antioxidante equivalente ao Trolox em DPPH (TEAC-DPPH) foi expressa em micromoles de Trolox por grama de fruta, equivalente ao trolox ($\mu\text{mol.g}^{-1}$ TE).

4.3.7. Vitamina C pela técnica titulométrica

O teor de vitamina C (ácido l-ascórbico) determinado pela técnica titulométrica foi realizado segundo metodologia da AOAC,¹³¹ utilizando solução padrão de 2,6-diclorofenolindofenol 0,01%. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 mL de suco.

4.3.8. Vitamina C pela técnica cromatográfica

O extrato para a análise da vitamina C pela técnica cromatográfica foi preparado de acordo com. Kafka *et al.*⁶⁶ A técnica consiste em: pesar aproximadamente 1g de amostra congelada em nitrogênio líquido; em um tubo de centrífuga de polipropileno adicionar a amostra e 20 mL de solução aquosa de ácido metafosfórico a 3%; misturar em um agitador horizontal (*shaker*) a temperatura ambiente por 30 minutos; filtrar a vácuo utilizando funil de Büchner e papel Watmann nº 1 e transferir para um balão volumétrico de 25 mL, aferindo-o com o mesmo solvente (ácido metafosfórico a 3%); homogeneizar em um vortex; filtrar a mesma com membrana de 0,45 μm , 4mm (PTFE – politetrafluoretileno/Millipore) e injetar 20 μL da solução em cromatógrafo líquido de alta eficiência.

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a líquido de alta eficiência modelo Shimadzu Prominence, equipado com bomba de alta pressão, modelo LC-20AT VP, injetor manual com loop de injeção, detector de arranjos de diodos SPD-M20A, controlador de sistema CBM-20A e coluna C18 ODS (150 cm x 4,6 mm, 5 μm). As condições de análise foram: modo isocrático com fase móvel de ácido metafosfórico 0,5%, fluxo de 0,6 mL/min e comprimento de onda de 243 nm. A fase móvel de ácido metafosfórico 0,5% foi filtrada em membrana PVDF de 45 μm de tamanho de poro e diâmetro de 47 mm (Millipore Corporation, MA, USA).

A identificação da vitamina C foi realizada por comparação dos tempos de retenção e espectros de absorção do padrão - ácido L-ascórbico (Nuclear 99,97% de pureza) com a

amostra. A quantificação foi realizada por meio da técnica de calibração externa na faixa de concentração de 1,04 a 20 µg/mL. Todas as análises foram feitas em triplicatas.

4.3.9. Análise de voláteis por *headspace* e Cromatografia a Gás (CG)

Os voláteis do suco foram analisados por cromatografia a gás com injeção no modo *headspace*, método adaptado de Cantillano.¹³⁵ Para tal, as amostras de suco foram adicionadas em frascos de capacidade de 62 mL. Os mesmos foram lacrados após introdução da amostra, identificados e armazenados a -18 °C até a realização das análises cromatográficas. Os padrões como as amostras, antes da realização da análise cromatográfica, foram colocados em banho-maria por 1 hora a 20 °C, seguido em banho-maria a 60 °C por 1 hora para formação do *headspace*. Após, uma alíquota de 1 mL foi retirada do espaço livre - *headspace* - e injetada em um GC. As análises de compostos voláteis foram realizadas em um GC Varian 3300 equipado com o detector de ionização em chama (FID). A separação foi feita em uma coluna com 6 pés de comprimento por 1/8” de diâmetro em aço inox - Porapak R 80/100 mesh. As condições de análise foram: 175 °C no injetor, 200 °C no detector e 150 °C no forno. Nitrogênio foi usado como gás de arraste com fluxo de 30 ml/min. Os compostos voláteis acetaldeído, álcool etílico, acetato de etila e acetato de metila analisados nas amostras de morango foram identificados pelos tempos de retenção em relação aos padrões e quantificados através da técnica de calibração externa de cada padrão (acetaldeído, álcool etílico, acetato de etila e acetato de metila) nas concentrações de 0 - 10 - 25 - 50 - 100 µg.g⁻¹. Os padrões utilizados foram de grau de pureza de 99% da marca Merck, com exceção do acetato de etila da marca Vetec.

4.3.10. Antocianinas por Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

Para a análise das antocianinas por cromatografia em camada delgada a extração dos pigmentos do morango foi realizada segundo Silva e colaboradores.¹⁰⁹ A identificação das antocianinas por CCD foi feita somente na cultivar Camarosa convencional, usando placas de sílica gel F₂₅₄ Merck de (5 x 20) cm, mistura de n-butanol, ácido acético glacial e água destilada (5:1:2) como eluente e ausência de agentes reveladores.

4.3.11. Antocianinas e fenólicos por análise cromatográfica de alta eficiência

4.3.11.1. Preparação da amostra

As amostras de morango foram preparadas segundo Silva *et al.*¹⁰⁹. 40 a 50g de morangos foram homogenizados em 100 mL de metanol p.a. acidificado a 0,1% de HCl, colocados em um béquer de 250 mL e mantidos a 3-5 °C por 14 h. Após, a mistura foi filtrada a vácuo utilizando funil de Büchner e papel Watmann n° 1. O resíduo sólido foi exaustivamente lavado com metanol, e o filtrado obtido centrifugado a 5300 rpm por 15min a temperatura de 2 °C. A fase hidroalcoólica foi concentrada à vácuo em evaporador rotatório a temperatura menor que 30 °C, para total evaporação do metanol. O extrato aquoso obtido foi lavado com n-hexano em um funil de decantação para remoção das substâncias lipossolúveis.

O isolamento dos flavonóides (fase aquosa) foi realizado por separação em fase sólida, em cartucho C18 Sep Pak da Waters, de 3cc e 0,5g de fase estacionária, com as seguintes etapas:

a- Condicionamento do cartucho

adição de 5,0 mL de metanol seguido de 5,0 mL de HCl 0,1M, sem deixar o cartucho secar;

b- Aplicação da amostra

adição cuidadosa de uma alíquota de 2,0 mL da fase aquosa do extrato de morango;

c- *Clean-up* da amostra

adição de 5,0 mL de água ultra pura (tipo Milli-Q), para retirada de açúcares e substâncias mais polares;

d- Eluição dos analitos

eluição dos flavonóides com 5,0 mL da mistura metanol/ ácido trifluoracético (TFA) a 0,1% (95:5).

O extrato metanólico de flavonóides obtido em (d) é reduzido em todo seu volume com gás N₂ e posteriormente avolumado a 1,0 mL com água ultra pura (tipo Milli-Q).

O extrato de 1,0 mL foi separado em duas alíquotas de 0,5 mL, para as análises de antocianinas por CLAE-UV e fenólicos por CL-EM/EM.

4.3.11.2. Instrumental e condições cromatográficas

Antocianinas

As antocianinas foram analisadas por cromatografia a líquido de alta eficiência com detector de UV (CLAE-UV) em um cromatógrafo a líquido Shimadzu LC-10A, equipado com detector de UV-Vis SPD-10 e coluna analítica AQUA C18 (150 x 4,6 mm x 5 μ m), da Phenomenex, Torrance, CA. A análise foi realizada por gradiente de eluição com fase móvel **A** – TFA (ácido trifluoracético 0,1% aquoso) e fase móvel **B** – Acetonitrila. As seguintes condições foram usadas: 10% B por 5 min; 10-15% até 15min; 15% B por 5 min; 15-18% até 5min e 18-35% até 20min em um fluxo de 0,5 mL.min⁻¹. O volume de injeção foi de 20 μ L e as antocianinas detectadas no comprimento de onda de 520nm. Os extratos aquosos de 0,5 mL das amostras de morango foram secos com fluxo de N₂ e reconstituídos na fase móvel - ácido trifluoracético aquoso a 0,1% / acetonitrila (2:1) e diluídas de 3 a 10 vezes com a fase móvel. As fases móveis foram filtradas com membrana de difluoreto polivinilideno (**PVDF**/ Millipore), 45 mm x 0,45 μ m e desgaseificadas com gás Hélio (99,995%). As análises foram realizadas em duplicata.

A identificação das antocianinas foi realizada por comparação dos tempos de retenção com os padrões de perlagonidina-3-glucosídeo (**pg-3-gluc**) e cianidina-3-glucosídeo (**cy-3-gluc**), fornecidos pela Fluka com graus de pureza de 97 e 95%, respectivamente e a quantificação por calibração externa. A faixa de calibração variou de 5 a 80 μ g.mL⁻¹ para pg-3-gluc e 0,5 a 15 μ g.mL⁻¹ para cy-3-gluc.

Fenólicos

A alíquota de 0,5mL das amostra foi reconstituída na fase móvel 2:1 (ácido fórmico 1% :metanol). As análises de fenólicos foi realizada por CL-EM/EM em um sistema de cromatografia líquida de alto desempenho acoplada a espectrômetro de massas, triplo quadrupolo em modo *tandem*. O equipamento foi um cromatógrafo a líquido da Agilent Technologies - 1100 Series, equipado com um espectrômetro de massas API 5000 - *Applied*

Biosystems/MDS Sciex e computador integrado (*Software Analyst*). As seguintes condições de análise foram aplicadas: fluxo de fase móvel em $0,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, coluna Acqua C18 (150 mm X 4,6 mm X $5\mu\text{m}$ - Phenomenex, Torrance, CA), fonte de ionização por eletronebulização (*electrospray ionization*) em modo negativo (IEN-) e volume de injeção de $20\mu\text{L}$. A composição da fase móvel e o programa gradiente usado para análise foram: solvente **A** – Ácido fórmico aquoso a 1% e solvente **B** – metanol, nas seguintes condições: 10%B; 10-35% até 50min; 35-70% B por 5 min; 70% B por 5 min e 70-10% por 6min, com o tempo total da corrida de 66 minutos. Todas as amostras foram analisadas em triplicada. Os padrões de quercetina (98% de pureza), ácido elágico (95% de pureza) e kaempferol (90% de pureza), da Sigma, foram utilizados para a quantificação por calibração externa nas concentrações de 0,0; 0,125; 0,250; 0,500; 0,750 e $1,000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

A metodologia foi desenvolvida utilizando aquisição de dados por monitoramento de reações múltiplas, MRM, no modo de íons negativos. Inicialmente, foi realizada a otimização dos analitos, através de infusão de solução individual deles, numa concentração de $400 \mu\text{g L}^{-1}$. Foram otimizados os íons precursores $[\text{M} - \text{H}^+]^-$ de cada analito, dois fragmentos provenientes destes (a primeira transição é chamada quantificadora e a segunda confirmatória) e também os parâmetros de fragmentação dos compostos de DP (Potencial de Orifício), CE (Energia de Colisão) e CXP (Potencial de Saída da Cella de Colisão), Tabela I, Figura 7.

Tabela I. Parâmetros otimizados para cada transição de m/z monitorada.

Analito	Íon Molecular [M-H ⁺]	Fragmento	DP(V)	CXP(V)	CE(eV)
Kaempferol	285,1	117,0	-130	-7	-56
		185,0	-130	-9	-40
Ácido Elágico	301,1	145,0	-130	-13	-52
		229,0	-130	-23	-38
Quercetina	301,0	151,0	-130	-15	-24
		179,0	-130	-15	-30

A etapa seguinte é a análise por injeção em fluxo (FIA) que tem por objetivo ajustar as condições de ionização do analito. Foram otimizados os seguintes parâmetros: gás de colisão ("CAD Gas"), gás de dessolvatação ou cortina ("Curtain Gas"), gás nebulizante ("GS1"), gás auxiliar ("GS2"), temperatura da fonte (TEM) e voltagem do spray eletrônico ou *Ion Spray Voltage* (IS), Tabela II, Figura 11.

Após a otimização destes dois sistemas, as condições da separação cromatográfica foram ajustadas.

Tabela II. Parâmetros para a ionização por eletronebulização no modo negativo.

Parâmetro	Valor
Potencial de Entrada (EP)	-10
Gás de Colisão (CAD)	10
Gás de cortina (CUR)	17
Gás de Nebulização (GS1)	50
Gás Auxiliar (GS2)	40
Voltagem do Spray Eletrônico (IS)	-4500
Temperatura, °C (TEM)	400

CL-EM/EM (Triplo quadrupolo)

O espectrômetro de massa triplo quadrupolo, esquema apresentado na Figura 11, é usado para identificação e quantificação do analitos. A fonte de ionização por eletronebulização (IEN) é a interface usada entre a CL e o EM. A ionização ocorre através de: 1- bombeamento da amostra através de uma agulha nebulizadora (capilar) que produz minúsculas gotículas; 2- aplicação de uma voltagem entre a agulha e o cone que a rodeia; 3- formação de uma nuvem de gotículas carregadas; 4- evaporação do solvente devido à presença de um dispositivo aquecido; 5- aumento da densidade de cargas na superfície das gotículas; 6- repulsão entre as cargas até os íons evaporarem das gotículas. Na IEN ocorre a ionização suave, onde as moléculas do analito formam íons moleculares positivos ou negativos. A análise pode se dar tanto na forma dos íons positivos $[M+H]^+$, onde o analito está protonado ou na forma de íons negativos $[M-H]^-$, onde o analito está desprotonado.

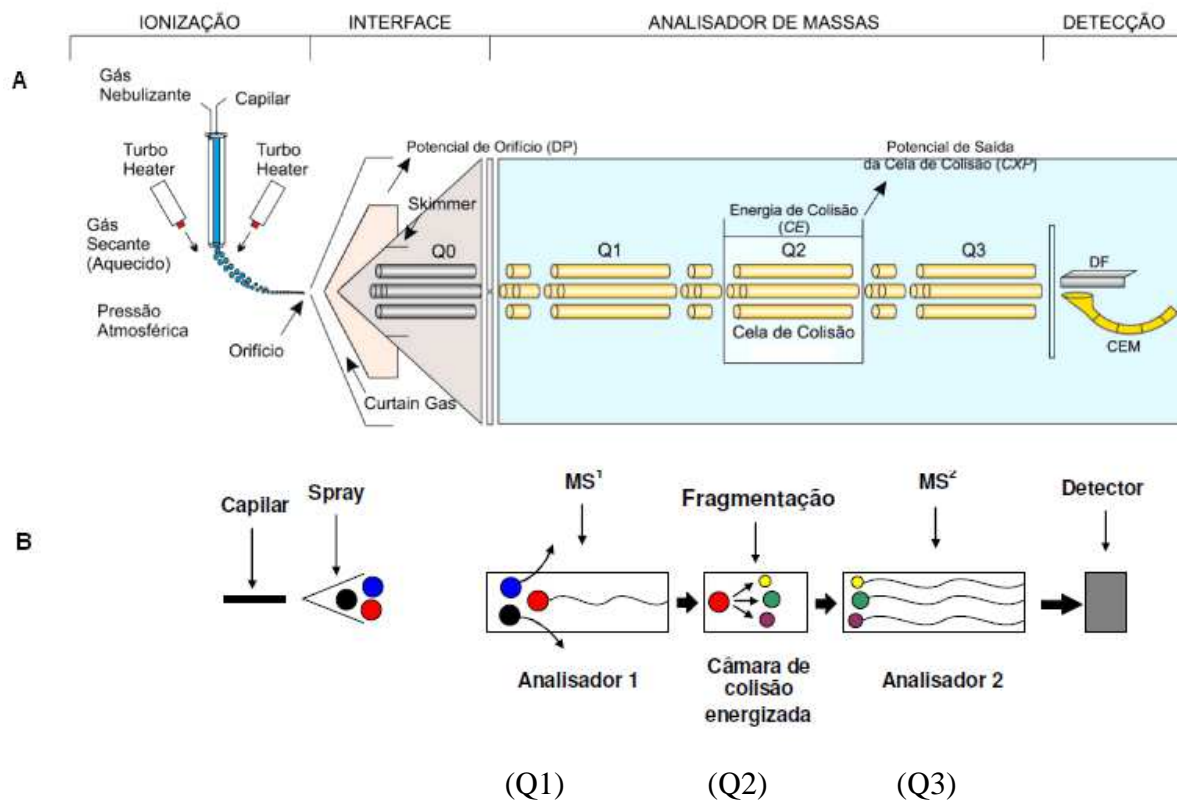


Figura 11 – (A) Triplo quadrupolo, fonte ^{136, 94}, (B) Esquema de seleção do íon precursor e sua fragmentação (íons produtos).

Após a ionização da molécula o próximo passo é selecionar o íon molecular, chamado *íon precursor* no analisador 1 ou primeiro quadrupolo (Q1), depois fragmentá-lo no segundo quadrupolo (Q2) obtendo-se os *íons produtos*, essa fragmentação ocorre com a colisão de um gás inerte e, finalmente separar por suas razões massa/carga (m/z) esses *íons produtos* no terceiro quadrupolo (Q3) ou analisador 2; esses íons obtidos são utilizados para a análise confirmatória e/ou quantitativa por MRM monitoramento de reações múltiplas.

4.4. Análise Estatística

4.4.1. Análise multivariada

A Análise Multivariada é o ramo da estatística que trata da análise de dados em várias dimensões, de vários indivíduos.¹³⁷ Segundo Neto,¹³⁸ a Análise Multivariada corresponde a um grande número de métodos e técnicas que utilizam simultaneamente todas as variáveis na interpretação teórica dos conjunto de dados obtidos. Esta é uma ferramenta estatística que processa as informações de modo a simplificar a estrutura dos dados e a sintetizar as informações quando o número de variáveis envolvidas é muito grande, facilitando o entendimento do relacionamento existente entre as variáveis do processo.¹³⁹

A representação gráfica de um conjunto de dados facilita a interpretação dos resultados, no caso de um experimento apresentar um número elevado de parâmetros analisados (variáveis).¹⁴⁰ Com o objetivo de verificar como as amostras se relacionam podem ser utilizados os métodos de análise hierárquica de agrupamentos (AHA) e a análise de componentes principais (ACP).

O método de AHA busca agrupar em classes por similaridade, utilizando uma representação gráfica chamada dendrograma. A interpretação de um dendrograma de similaridade entre amostras fundamenta-se na seguinte intuição: duas amostras próximas devem ter também valores semelhantes para as variáveis medidas, isto é, devem ser próximas matematicamente no espaço multidimensional. Portanto, quanto maior a proximidade entre as medidas relativas às amostras, maior a similaridade entre elas.¹³⁸ A similaridade entre duas amostras é em função da distância em dois pontos representativos dessas amostras no espaço n-dimensional e é calculada pela equação denominada de distância euclidiana:

$$d_{ab} = \sqrt{\sum_{i=1}^m (x_{ai} - x_{bi})^2}$$

Sendo d_{ab} as distâncias entre as observações a e b , m o número de elementos por observação, e $x_{i, a/b}$ o elemento i da observação a ou b . Essas distâncias são calculadas para cada par de observações.^{141, 142}

O dendograma é muito útil para classificação, discussão e comparação de agrupamentos, e pode ser representado na forma vertical ou horizontal. No dendograma horizontal o eixo y representa os grupos por ordem decrescente de semelhanças e o eixo x a distância entre os grupos.¹⁴³

A Análise de Componentes Principais (ACP) é um método de “compressão” de dados que se baseia na correlação de variáveis. Realizar-se-á o agrupamento de variáveis correlacionadas substituindo o conjunto total de variáveis por um novo conjunto denominado de “Componentes Principais (CP’s)”, nos quais os dados serão projetados.^{144, 145} Em síntese, o método de ACP visa reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados principais, por meio de novas variáveis ortogonais que são representadas graficamente em sistemas cartesianos onde os eixos são os componentes principais CPs. O componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais. Nessas combinações, cada variável terá uma importância ou peso diferente.¹³⁸

A variância total dos dados após a análise matemática pelo software específico é representada em valores percentuais das componentes principais. Podemos com duas componentes principais, que detêm maior parte da informação estatística, visualizar o conjunto de dados das amostras, visto que geralmente 70% da variância está contida nos dois primeiros componentes principais.¹⁴⁶ Na prática um ponto no gráfico cartesiano é representado por valores das coordenadas x e y. Traduzindo isto para o mundo das amostras e das variáveis, o ponto é uma amostra e os valores em cada uma das coordenadas correspondem aos valores das variáveis medidas.¹³⁸

A análise hierárquica de agrupamento (AHA) complementa a análise de componentes principais (ACP) para determinar semelhanças e diferenças em um conjunto de dados complexos.

Os dados obtidos das análises de antocianinas por CLAE-UV e dos compostos fenólicos por CL-EM/EM inicialmente foram submetidos à análise hierárquica de agrupamentos AHA (*clustering*), sendo o método de conexão de Ward utilizado para a obtenção do dendrograma. Na análise de agrupamento se observa os mais similares e os mais discrepantes. Esse procedimento visa classificar as variáveis e os cultivares e seus diferentes períodos em grupos relativamente homogêneos, que são representados por um dendrograma. O dendrograma mostra a distância entre as triplicatas dos cultivares nos períodos correspondentes, quanto menor essa distância, mais homogêneo o grupo de dados. As variáveis discrepantes devem ser excluídas para não afetarem o resultado final da análise. Para realizar avaliação multivariada foi também empregado o método de análise de

componentes ACP. A análise de variância foi realizada utilizando o primeiro e o segundo componente principal. As rotinas ACP e AHA foram realizadas empregando o pacote PLS_Toolbox versão 6.2.1 (Eigenvector Technologies, Manson, USA) e MATLAB versão 7.11 (The Math Works, Natick, USA), respectivamente.

4.4.2. Análise estatística ANOVA

A perda de massa durante o armazenamento foi corrigida por balanceamento de massa para as seguintes variáveis: SS, AT, fenóis, antocianinas, vitamina C, atividade antioxidante e compostos voláteis. Todos os resultados expressos em percentagem foram transformados segundo arco-seno da raiz quadrada dos mesmos. O software STATISTICA¹⁴⁷ foi utilizado para calcular os coeficientes de regressão linear, análise de variância (ANOVA) e comparação das médias por Tukey ($p \leq 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análises

5.1.1. Massa dos frutos

As cultivares Camino Real e Camarosa nos sistemas de produção orgânico e convencional variaram amplamente em suas características físicas e químicas (Tabela III, IV, V e VI).

Com relação à perda de massa, Tabela III, observou-se uma perda significativa ($p < 0,05$) e crescente até o oitavo dia de armazenamento. A perda de massa (PM) foi maior para o sistema orgânico frente ao convencional ao longo do período de armazenamento, sendo que a maior perda foi observada na cultivar Camino Real do sistema orgânico (11,21%) no oitavo dia de armazenamento. Tais resultados podem ser comparados com os resultados obtidos por Nunes *et. al.*,¹²¹ que relataram uma perda de 11% para cultivar Oso Grande, sistema convencional armazenada por oito dias a 1 °C. Segundo Hernandez-Muñoz *et al.*,¹²² a perda de massa fresca superior a 10% é um indicador de perda da qualidade em morangos, ocasionando a rejeição do fruto pelos consumidores. No presente trabalho considerando o coeficiente de variação, as duas cultivares do sistema convencional apresentaram PM fresca inferior a 10% no oitavo dia de armazenamento, proporcionando uma melhor conservação e consequentemente melhor aceitação do fruto. Nunes *et. al.*¹²¹ associaram a perda de massa com a degradação da membrana celular e, por consequência, a liberação da enzima oxidativa polifenoloxidase, que segundo os autores, foi a principal causadora da degradação das antocianinas, contribuindo para o escurecimento dos frutos de morango da cultivar Oso grande durante o armazenamento a 1 °C.

5.1.2. Coloração e firmeza dos frutos

Os valores de a^* e b^* foram usados para calcular o (H), o qual está relacionado com cor da epiderme. De um modo geral observou-se redução do H durante o armazenamento (Figura 12, Tabela III). Quanto à cor da epiderme, de modo geral observou-se uma redução nos valores do ângulo Hue durante o armazenamento (Tabela III). Essa redução foi devido a uma maior redução nos valores de “ b^* ” em relação aos de “ a^* ” indicando mais vermelho do que amarelo (Figura 12). Ao zero dia de armazenamento, a cultivar Camino Real produzida no sistema convencional foi significativamente ($p < 0,05$) menor o valor de H (30,11) e de “ L^* ” (30,53), indicando que esta cultivar teve uma coloração inicial mais escura do que as demais (Tabela III). Tal comportamento também foi observado para os outros períodos de armazenamento. O escurecimento acentuado da epiderme do morango durante o armazenamento é um atributo indesejável, tornando o produto pouco aceitável no mercado.¹¹⁶

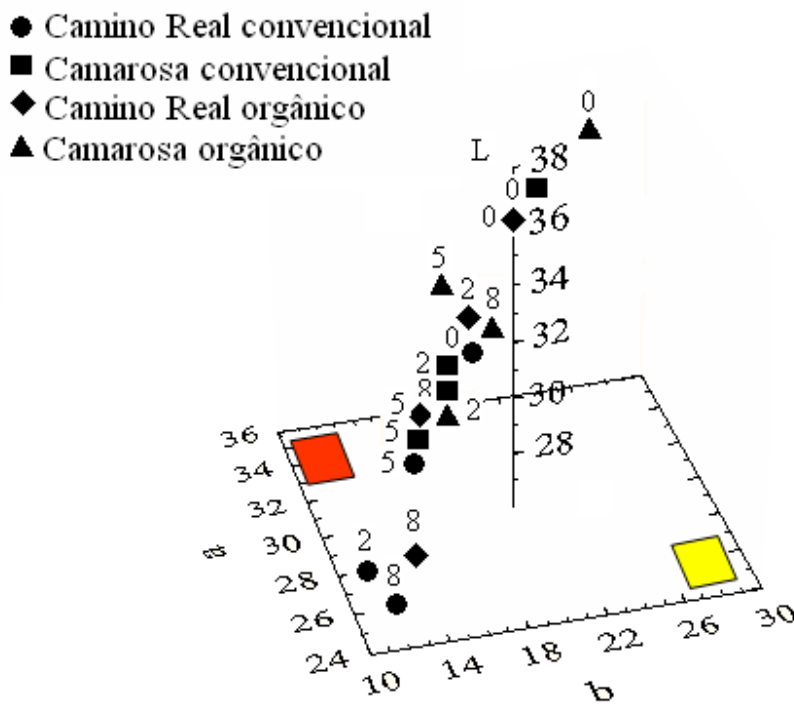


Figura 12 – Valores de L^* , a^* e b^* obtidos em colorímetro Minolta para as cultivares Camino Real e Camarosa, nos sistemas de plantio convencional e orgânico. Os números 0, 2, 5 e 8 inseridos ao lado de cada símbolo indica o tempo de armazenamento daquela cultivar.

Quanto à firmeza, Tabela III, a cultivar Camarosa produzida do sistema orgânico (5,36 N) foi superior as demais no oitavo dia de armazenamento ($p < 0,05$), sendo que esse comportamento também foi observado no zero e quinto dia. Já, no segundo dia, a cultivar Camino Real orgânico (5,43 N) foi superior. Com relação ao aumento de firmeza durante o armazenamento, este só foi significativo para as cultivares Camino Real orgânico e Camarosa convencional até o segundo dia. Já, para as cultivares Camarosa do sistema orgânico e Camino Real do sistema convencional, não se observou diferenças estatísticas entre as médias. Segundo Pineli⁷⁷, o aumento de firmeza durante o armazenamento é devido à desidratação ou ressecamento da fruta. Por outro lado, no oitavo dia de armazenamento, observou-se um decréscimo geral da firmeza, sendo a Camino Real convencional (2,89 N) significativamente inferior às demais. Segundo Sallato *et al.*,¹⁴⁸ o decréscimo de firmeza pode ser devido à proliferação fúngica causada principalmente por *Botrytis cinerea*, fato confirmado pelos resultados de maiores valores de podridões no oitavo dia de armazenamento, para as duas cultivares nos dois sistemas de produção, Tabela IV.

Tabela III. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – RS, safra 2008.

Características	Sistema de Produção	Cultivar	Período de armazenamento (dias)							CV (%)	
			0	2	5	8					
Perda de massa (%)	Convencional	Camino Real	0,00	2,32	cB	2,70	bB	8,93	cA	4,68	
		Camarosa	0,00	2,45	bB	2,60	bB	9,49	cA	3,58	
	Orgânico	Camino Real	0,00	3,94	aB	3,27	aC	11,21	aA	2,26	
		Camarosa	0,00	2,77	bB	3,22	aB	9,70	bA	3,75	
L	Convencional	Camino Real	30,53	dA	28,41	dB	30,40	cA	26,48	dC	1,77
		Camarosa	34,40	bA	31,80	bA	30,16	cA	29,66	bA	4,93
	Orgânico	Camino Real	33,83	cA	33,36	aA	31,06	bA	27,08	cB	2,56
		Camarosa	36,35	aA	31,30	cB	32,83	aAB	31,24	aB	4,43
Ângulo hue	Convencional	Camino Real	30,11	cA	22,16	cC	26,07	cB	24,87	DBC	3,13
		Camarosa	33,51	bA	29,14	bAB	26,08	cB	28,96	bAB	5,58
	Orgânico	Camino Real	33,13	bA	30,71	aAB	27,46	bBC	27,09	cC	3,47
		Camarosa	37,28	aA	29,01	bB	29,00	aB	31,93	aB	4,80
Firmeza da polpa (N)	Convencional	Camino Real	3,45	cA	3,63	dA	3,66	dA	2,89	dA	11,25
		Camarosa	3,04	dC	4,82	cA	4,44	bAB	3,70	bBC	9,61
	Orgânico	Camino Real	3,84	bB	5,43	aA	3,86	cB	3,12	cB	9,40
		Camarosa	4,77	aA	5,20	bA	5,40	aA	5,36	aA	11,65

* Valores médios seguidos da mesma letra minúscula na coluna ou maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \geq 0,05$). Os frutos foram armazenados $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 90 - 95% UR para todos os períodos de armazenamento. CV= coeficiente de variação. Os dados experimentais encontram-se em anexo.

Tabela IV. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – RS, safra 2008.

Características	Sistema de Produção	Cultivar	Período de armazenamento (dias)								CV (%)
			0	2	5	8					
pH	Convencional	Camino Real	4,07	aB	3,61	aD	3,75	bC	4,51	aA	1,06
		Camarosa	3,50	bC	3,58	bC	3,78	aB	4,34	bA	1,20
	Orgânico	Camino Real	3,43	cC	3,52	cC	3,75	bB	4,45	aA	1,52
		Camarosa	3,40	dC	3,48	cC	3,61	cB	4,18	cA	0,78
Podridões (%)	Convencional	Camino Real	0,00		2,08	abA	1,96	abA	5,88	abA	
		Camarosa	0,00		12,50	abA	9,80	abAB	12,50	abA	
	Orgânico	Camino Real	0,00		0,00	bB	2,22	abAB	22,55	aA	
		Camarosa	0,00		10,42	abA	3,93	abA	12,13	abA	

* Valores médios seguidos da mesma letra minúscula na coluna ou maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \geq 0,05$).

Os frutos foram armazenados $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 90 - 95% UR para todos os períodos de armazenamento. CV= coeficiente de variação.

Tabela V. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – RS, safra 2008.

Características	Sistema de Produção	Cultivar	Período de armazenamento (dias)								CV (%)
			0	2	5	8					
Sólidos solúveis SS (%)	Convencional	Camino Real	5,90	aB	5,93	aB	5,94	bB	6,52	aA	2,82
		Camarosa	5,70	bB	5,73	cB	6,21	aA	5,94	bAB	2,04
	Orgânico	Camino Real	4,43	dB	4,68	dAB	5,04	cA	4,98	cA	3,02
		Camarosa	4,83	cB	5,77	bA	5,78	bA	4,83	dB	1,48
Acidez titulável AT (% ácido cítrico)	Convencional	Camino Real	0,70	dA	0,65	dA	0,69	bA	0,50	cB	3,98
		Camarosa	0,79	bAB	0,82	bA	0,68	cBC	0,58	bC	5,00
	Orgânico	Camino Real	0,74	cA	0,76	cA	0,70	bA	0,52	cB	5,25
		Camarosa	0,94	aA	0,99	aA	0,95	aA	0,77	aB	3,23
SS/AT	Convencional	Camino Real	8,43	aB	9,34	aB	8,60	bB	13,18	aA	6,16
		Camarosa	7,96	aA	7,26	bA	9,14	aA	10,27	bA	12,63
	Orgânico	Camino Real	6,30	bB	6,14	cB	7,20	cB	9,72	cA	7,40
		Camarosa	5,38	cA	6,08	cA	6,18	dA	6,35	dA	10,16

* Valores médios seguidos da mesma letra minúscula na coluna ou maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \geq 0,05$).

Os frutos foram armazenados $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 90 - 95% UR para todos os períodos de armazenamento. CV= coeficiente de variação.

Tabela VI. Características físico-químicas de frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – safra 2008.

Características	Sistema de Produção	Cultivar	Período de armazenamento (dias)								CV (%)
			0	2	5	8					
Fenóis totais ($\mu\text{.g}^{-1}$)	Convencional	Camino Real	1182,88	cC	1326,34	aB	1422,94	aA	1401,50	aA	1,24
		Camarosa	1273,48	aB	1351,02	aAB	1368,53	cA	1381,32	bA	2,00
	Orgânico	Camino Real	1130,67	dB	1202,88	cAB	1209,82	dB	1299,94	cA	3,31
		Camarosa	1250,86	bB	1257,40	cB	1391,74	bA	1375,56	bA	3,42
Antocianinas totais ($\text{mg.}100\text{g}^{-1}$)	Convencional	Camino Real	24,15	aA	25,93	aA	26,22	aA	21,09	bB	4,00
		Camarosa	17,78	bB	18,41	bB	22,35	bA	17,02	cB	5,41
	Orgânico	Camino Real	16,57	cB	17,75	cB	21,12	cA	21,70	aA	6,19
		Camarosa	11,93	dB	16,92	cA	17,36	dA	17,65	cA	4,53
Ácido ascórbico ($\text{mg.}100\text{mL}^{-1}$)	Convencional	Camino Real	55,56	a A	41,54	cB	40,01	bBC	36,05	bC	3,77
		Camarosa	53,50	bA	46,22	aB	39,01	cC	34,58	cC	4,75
	Orgânico	Camino Real	52,00	cA	42,65	cB	43,66	aB	34,05	cC	5,63
		Camarosa	47,68	dA	43,46	bA	44,52	aA	36,68	aB	5,29
Atividade antioxidante Relativa (30min) ($\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE)	Convencional	Camino Real	4,62	cB	4,92	dAB	5,36	dA	4,93	aAB	4,49
		Camarosa	4,69	bC	5,52	aAB	5,81	cA	4,90	aBC	4,34
	Orgânico	Camino Real	4,67	bB	5,00	cB	6,14	bA	4,47	bB	6,88
		Camarosa	5,07	aB	5,36	bB	6,24	aA	4,89	aB	2,88

Valores médios seguidos da mesma letra minúscula na coluna ou maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \geq 0,05$). Os frutos foram armazenados $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 90-95% UR para todos os períodos de armazenamento. Todos os dados das características foram corrigidos quanto à perda de massa.

5.1.3. Acidez e sólidos solúveis

O pH e os SS totais, nas Tabela IV e V, aumentaram no decorrer do armazenamento sendo maior para o sistema convencional, acompanhado por um decréscimo na acidez titulável. Esse comportamento explica o aumento da relação SS/AT, durante o armazenamento, sendo que, no oitavo dia de armazenamento, a cultivar Camino Real convencional foi significativamente superior ($p < 0,05$) para relação SS/AT (13,18), seguida da cultivar Camarosa convencional (10,27), Tabela V. Esse índice é considerado um bom indicador para fruta de alta qualidade quando $SS/AT \geq 8,75$.¹²⁵

5.1.4. Fenóis Totais pela técnica de absorciometria molecular UV

Os teores de fenóis totais aumentaram continuamente nos oito dias de armazenamento para as duas cultivares em ambos os sistemas de produção (Tabela VI). A cultivar Camino Real convencional apresentou teores de $1422,94 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, que foi significativamente maior que nas demais ($p < 0,05$). Estes valores são maiores que os relatados por Silva,³⁴ para as mesmas cultivares em frutos produzidos no sistema convencional na safra 2005/2006.

Em ambos os sistemas de produção e após oito dias de armazenamento a 1°C , os teores de fenóis totais nos frutos da cultivar Camino Real tiveram um aumento superior a 14%, em relação ao dia zero de armazenamento, enquanto os frutos da cultivar Camarosa tiveram um aumento pouco superior a 8% (Figura 13). Ayla-Zavala *et al.*,¹²⁷ estudando o efeito da temperatura de armazenamento nos frutos da cultivar Chandler, observaram que o teor de fenóis totais se manteve praticamente constante a 0°C por 13 dias ($650 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruto fresco), mas um incremento substancial foi observado a 10°C ($1050 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruto fresco). Além da temperatura de armazenamento, o aumento no teor desses compostos pode ser devido ao grau de estresse mecânico e biológico, a exposição à luz e a disponibilidade de oxigênio.^{149, 150} O aumento nos teores de fenóis indicam que houve síntese destes compostos durante o período de armazenamento, o resultado da combinação de precursores derivados da via do chiquimato e da via do acetato.^{77, 151}

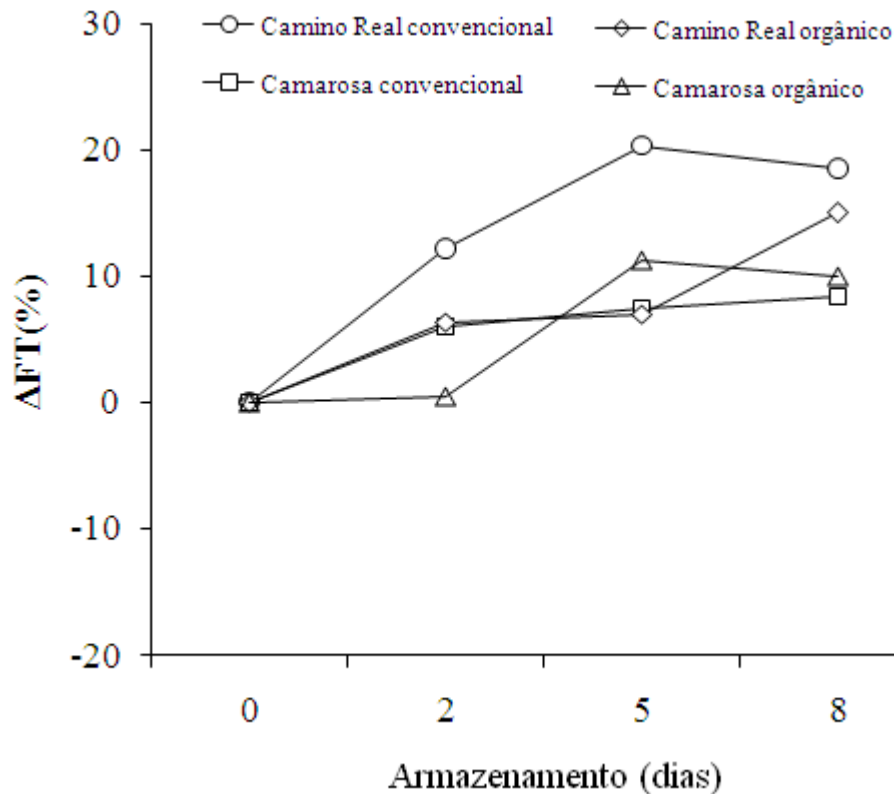


Figura 13 – Variação percentual dos teores de: Fenóis totais- ΔFT versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.

5.1.5. Antocianinas Totais pela técnica de absorciometria molecular UV

O tempo de armazenamento e o sistema de produção afetaram significativamente o teor de antocianinas totais, que aumentaram até o oitavo dia de armazenamento nos frutos cultivados no sistema orgânico, enquanto nos cultivados no sistema convencional, diminuíram no oitavo dia de armazenamento (Tabela VI). A cultivar Camino Real apresentou o maior teor de antocianinas ($26,22 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) no de armazenamento, quando cultivada no sistema convencional e no oitavo dia quando cultivada no sistema orgânico. Ayla-Zavala *et al.*,¹²⁷ relataram um valor de $28 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ em frutos da cv. Chandler armazenados a 0°C por 5 dias, que está próximo do encontrado para a cultivar Camino Real produzida no sistema convencional. Após oito dias de armazenamento, nos frutos cultivados em sistema de produção orgânico, o aumento em antocianinas foi superior a 30%, enquanto no convencional

observou-se perda superior a 4% (Figura 14). Uma análise comparativa entre o quinto e oitavo dia indica que o sistema de produção orgânico preserva melhor as antocianinas que o convencional. Holcroft & Kader,¹⁵² em frutos da cultivar Selva armazenados a 5 °C por 10 dias, também observaram ganho significativo de 35% no teor de antocianinas.

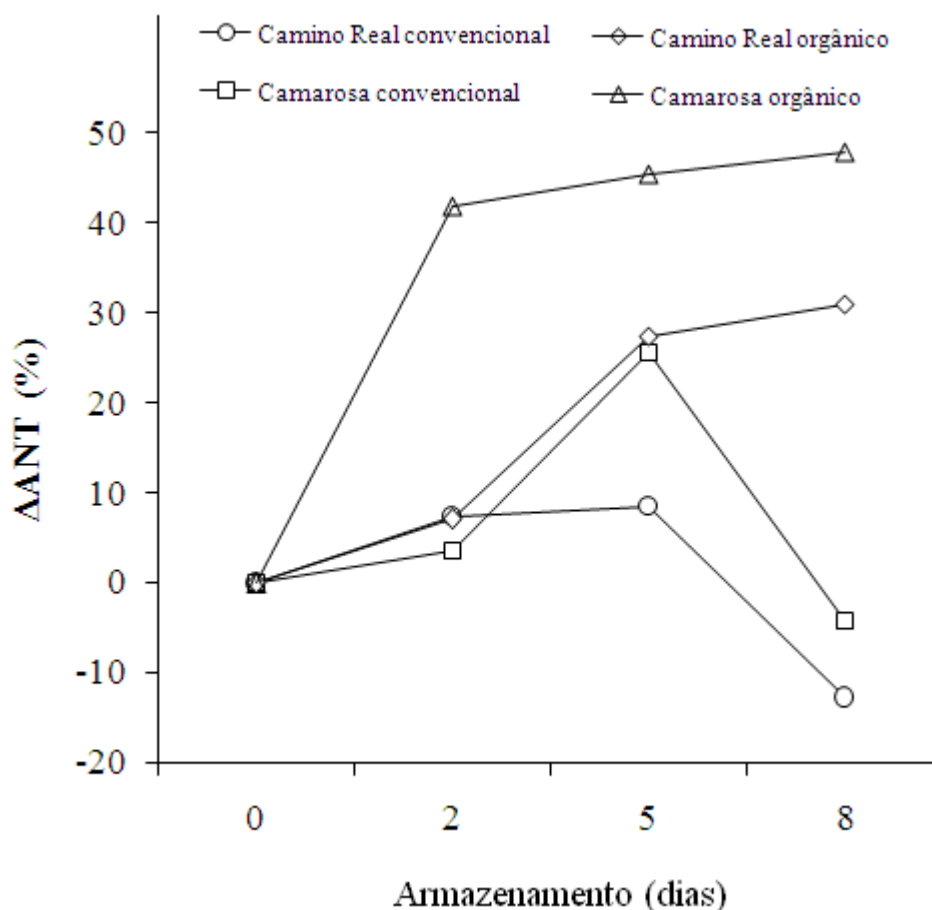


Figura 14 – Variação percentual dos teores de Antocianinas totais- Δ ANT versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.

O aumento das antocianinas indicam que houve síntese destes compostos durante o período de armazenamento, semelhante ao ocorrido para os fenóis, a síntese das antocianinas é o resultado da combinação de precursores derivados da via do chiquimato e da via do acetato.^{77,151}

5.1.6. Atividade antioxidante

Os dados da atividade antioxidante relativa (Tabela VI) revelam um incremento para as cultivares Camino Real e Camarosa cultivados pelo sistema convencional e orgânico até o de armazenamento. Neste período, os frutos da cultivar Camarosa orgânico tiveram o maior índice para TEAC-DPPH ($6,24 \mu\text{mols.g}^{-1} \text{ TE}$), seguido pela Camino Real orgânico ($6,14 \mu\text{mols.g}^{-1} \text{ TE}$). Os resultados deste trabalho no período zero de armazenamento são próximos aos encontrados por Silva,³⁴ trabalhando com os frutos do sistema convencional na safra 2005/06, encontraram $5,49 \mu\text{mols.g}^{-1} \text{ TE}$ para a Camino Real e $5,17 \mu\text{mols.g}^{-1} \text{ TE}$ para a Camarosa. Com relação à variação percentual da atividade antioxidante ao longo do período de armazenamento, observou-se aumento superior a 16% nos frutos das cultivares Camarosa e Camino Real, em ambos os sistemas de produção, até o quinto dia de armazenamento (Figura 15).

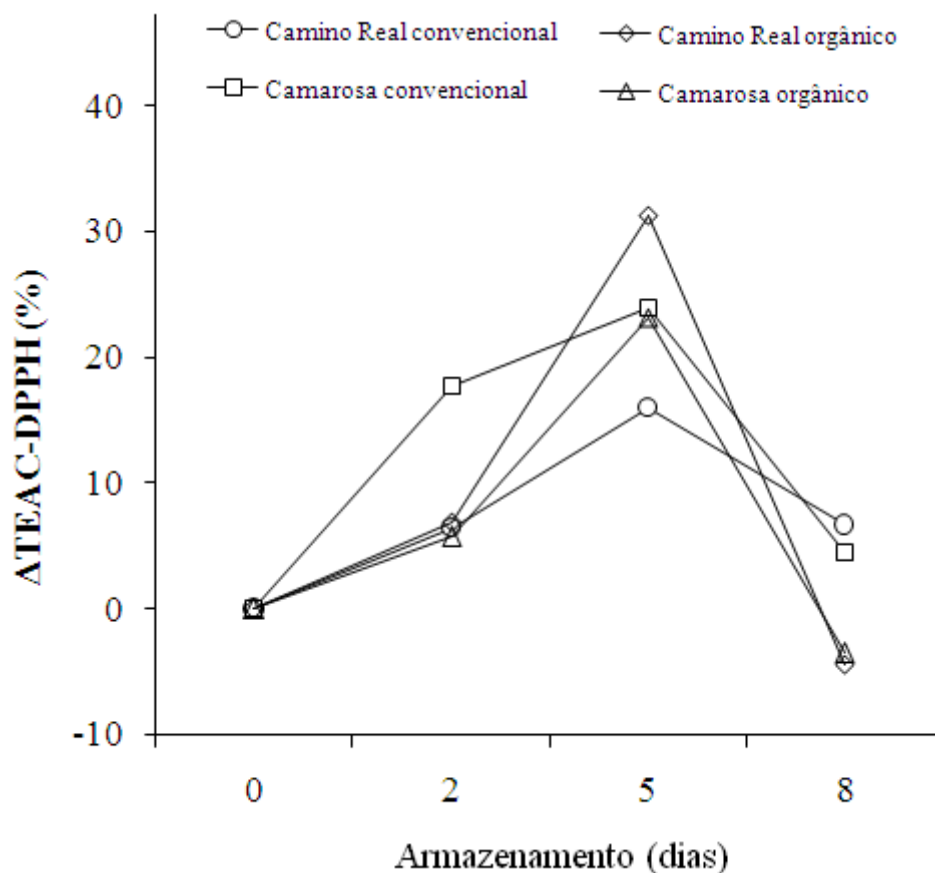


Figura 15 – Variação percentual na Atividade antioxidante- $\Delta\text{TEAC-DPPH}$ versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.

Por outro lado, no oitavo dia de armazenamento, observou-se um decréscimo significativo na atividade antioxidante ($p < 0,05$), principalmente para os do sistema orgânico.

As variações nos teores dos compostos bioativos e na atividade antioxidante, nos sistemas de produção convencional e orgânica, estão relacionadas com as diferenças entre as práticas de cultivo.¹⁵³ O aumento na atividade antioxidante durante o armazenamento está fortemente correlacionado com o aumento de antocianinas. Resultados semelhantes foram obtidos por Zheng *et al.*,¹⁵⁴ trabalhando com morangos cv. Allstar armazenados a 5 °C por 10 dias.

5.1.7. Vitamina C pela técnica titulométrica

Os teores de ácido ascórbico apresentaram redução durante o armazenamento em frutos de morangueiro de ambos os sistemas de produção, sendo que, no oitavo dia, os frutos da cultivar Camarosa convencional ($34,6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) e Camino Real orgânico ($34,0 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) foram significativamente inferiores ($p < 0,05$) as demais para esta vitamina (Tabela VI). Krolow *et al.*⁶⁹ relataram para frutos da cultivar Aromas produzidos em sistema convencional e orgânico, 56,50 e 52,08 $\text{mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, respectivamente. Terrazzan *et al.*⁶⁷ trabalhando com a cultivar Oso Grande, relataram maiores valores de vitamina C nos frutos cultivados com o sistema orgânico do que nos do convencional. A perda desta vitamina foi superior a 35% no sistema convencional para ambas cultivares (Figura 16), enquanto no sistema de produção orgânico, essa perda foi menor para a cultivar Camarosa (23%). De acordo com Chitarra & Chitarra¹⁵⁵ a redução nos teores de ácido ascórbico (vitamina C) é devido a ação da enzima ácido ascórbico oxidase ou das oxidases tal como as peroxidases. Campos & Rodovalho¹⁵⁶ e outros autores^{116, 119} também relataram a perda desta vitamina durante o armazenamento.

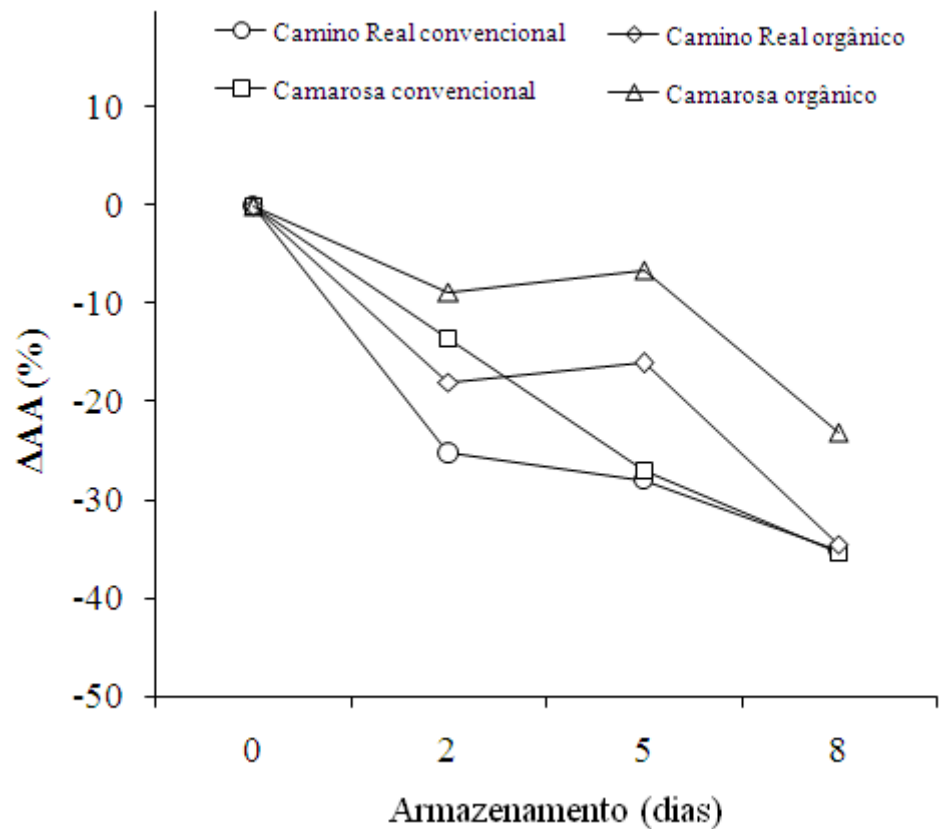


Figura 16 – Variação percentual nos teores de Ácido ascórbico- Δ AA versus período de armazenamento em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.

5.1.8. Vitamina C pela técnica cromatográfica

A Figura 17 apresenta a curva de calibração da solução padrão de ácido ascórbico (AA) obtida por CLAE e a Figura 18 o cromatograma típico da solução padrão de AA.

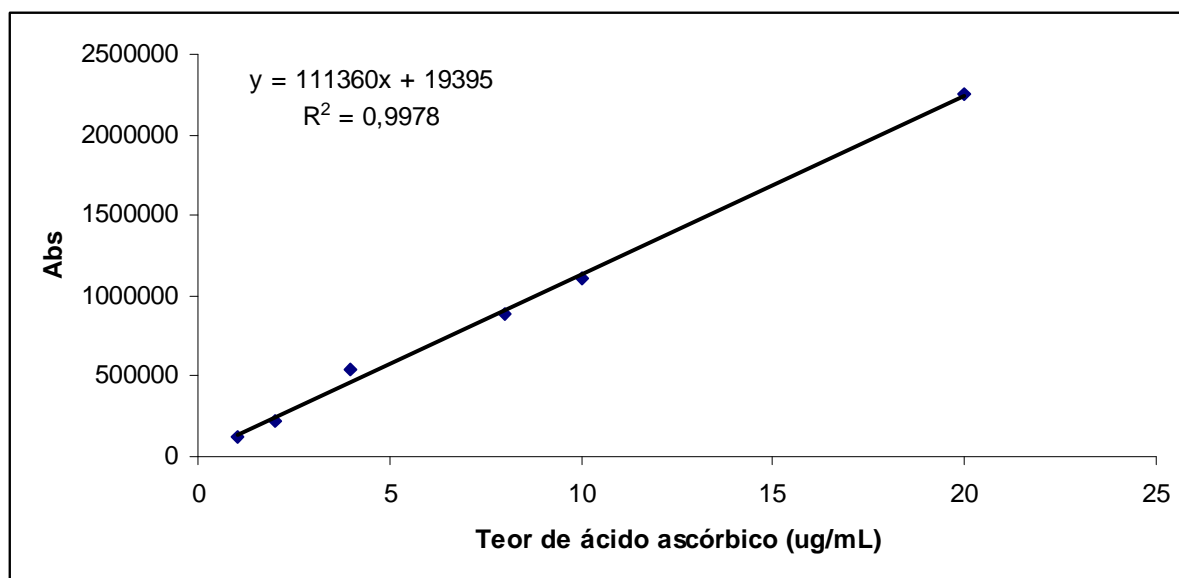


Figura 17 – Curva de calibração do ácido L-ascórbico (AA) para a faixa de concentração de 1,04 a 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

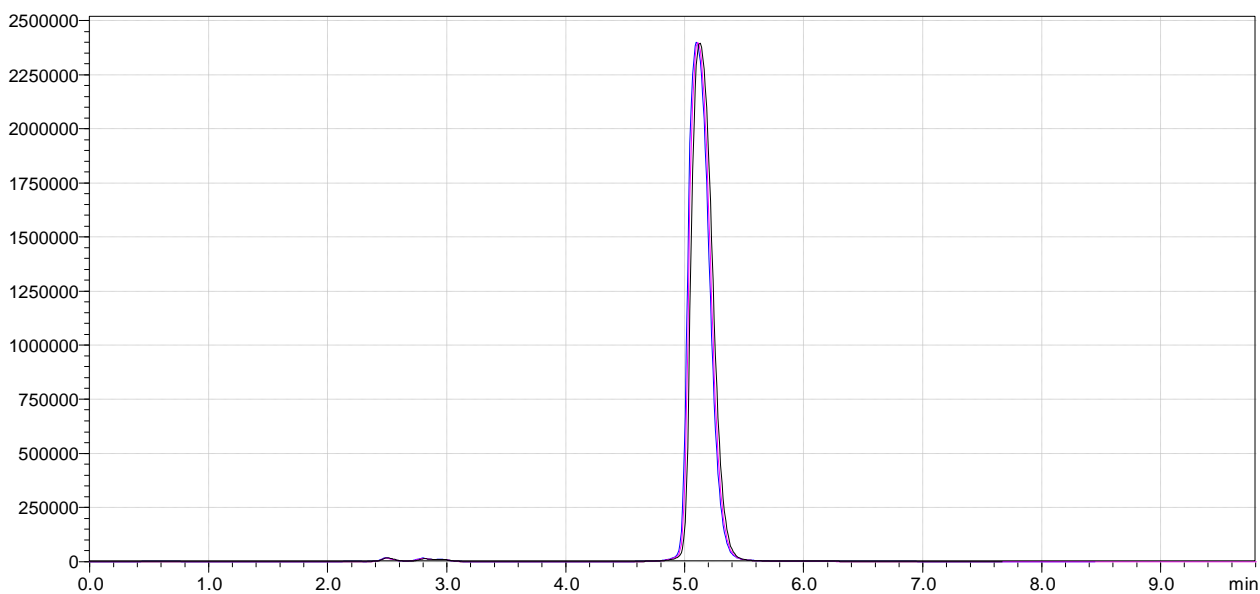


Figura 18 – Cromatograma do padrão L-ascórbico (AA).

Os resultados da quantificação de ácido L-ascórbico (AA) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) encontram-se na Tabela VII.

Tabela VII. Teor de ácido ascórbico por CLAE dos frutos das cultivares de morango Camino Real e Camarosa produzidos no sistema de produção orgânico e convencional e armazenadas durante oito dias a 1 °C. Pelotas – RS, safra 2008.

Variável	Sistema	Cultivar	Períodos de armazenamento (dias)								CV(%) médio
			0	2	5	8	0	2	5	8	
AA (g.kg ⁻¹)	Convencional	Camino Real	0,34	aA	0,35	aA	0,29	aAB	0,24	bB	4,30
		Camarosa	0,35	aA	0,33	bA	0,26	aAB	0,14	cB	11,83
	Orgânico	Camino Real	0,35	aA	0,32	bB	0,30	aBC	0,29	aC	1,22
		Camarosa	0,34	aA	0,32	bAB	0,28	aBC	0,24	bC	4,41

* Valores médios seguidos da mesma letra minúscula na coluna ou maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \geq 0,05$). Os frutos foram armazenados $1 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e 90 - 95% UR para todos os períodos de armazenamento. CV= coeficiente de variação.

A Tabela VII apresenta os teores de ácido ascórbico das cultivares de morango Camino Real e Camarosa, safra 2008 - Pelotas – RS, em dois sistemas de plantio, determinados nos períodos de 0, 2, 5 e 8 dias de armazenamento a 1 °C. Pode-se verificar que no período zero dia, os teores de AA entre as cultivares e os sistemas de plantio não diferiram estatisticamente. No decorrer do período de armazenamento houve um decréscimo nos valores de AA em todas as cultivares e sistemas de plantio estudados, sendo esse decréscimo maior para a cultivar Camarosa - sistema convencional (0,14 g/kg de fruta).

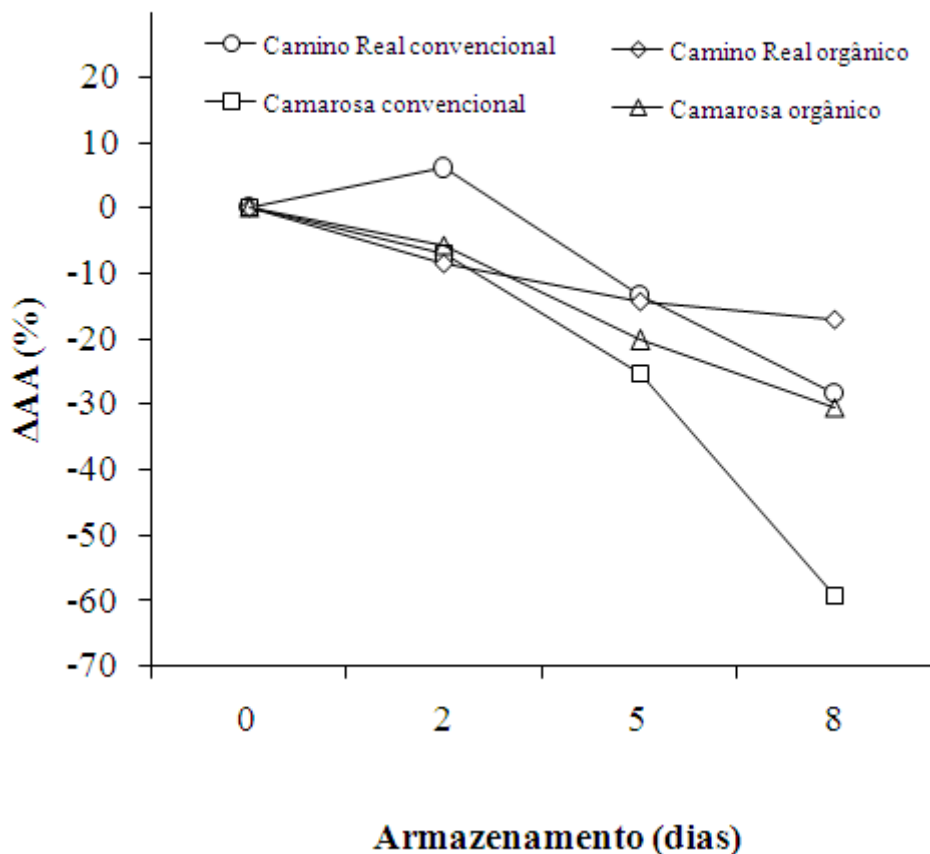


Figura 19 – Variação percentual versus período de armazenamento Ácido ascórbico- Δ AA CLAE, em morangos ‘Camarosa’ e ‘Camino Real’ armazenados a 1°C e 90-95% UR, cada variável foi calculada em relação ao tempo zero de armazenamento. Pelotas – RS - safra 2008.

Com relação à variação percentual nos teores de AA ao longo do período de armazenamento, Figura 19, observou-se que as duas cultivares em ambos os sistemas de produção tiveram perda superior a 20%, com exceção dos frutos da cultivar Camino real orgânico (17%). A cultivar Camarosa - sistema convencional apresentou maior perda, sendo superior a 50% em 8 dias de armazenamento.

Apesar dos métodos utilizados para determinação da vitamina C, método titulométrico e cromatográfico, não serem similares, ambos apresentaram a mesma tendência de comportamento. Isto é, uma perda constante durante o armazenamento, com exceção da cultivar Camino Real do sistema orgânico que apresentou no oitavo dia resultados opostos para os dois métodos utilizados.

5.1.9. Antocianinas por Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

No extrato rico em antocianinas da cultivar Camarosa Convencional foi realizada a identificação por CCD. Uma análise comparativa através dos Rfs (Fatores de retenção) dos padrões (*a* e *b*) e da amostra (*c*), (Tabela VIII, Figura 20) permitiu identificar as antocianinas presentes no extrato. Na amostra (*c*) foram observados três compostos, sendo que o composto 3, com Rf de 0,7, foi identificado como a perlagonidina-3-glucosídeo (pg-3-gluc). O composto 2 não foi identificado e, o composto 1, com Rf de 0,4, foi identificado preliminarmente como a cianidina-3-glucosídeo (cy-3-gluc). Estudos cromatográficos realizados em morango relatam a presença majoritária da (pg-3-gluc) sendo uma das antocianinas que mais contribuem na coloração vermelha do morango.^{1, 109, 127}

Tabela VIII. Fatores de retenção de padrões e amostra de antocianinas.

Amostras	Padrão	Rfs	
		Amostra	Padrão
1) 3,0 cm	2,7 cm	0,43	0,39
2) 4,0 cm	-	0,57	-
3) 5,0 cm	5,0 cm	0,71	0,71
Solvente 7,0 cm			

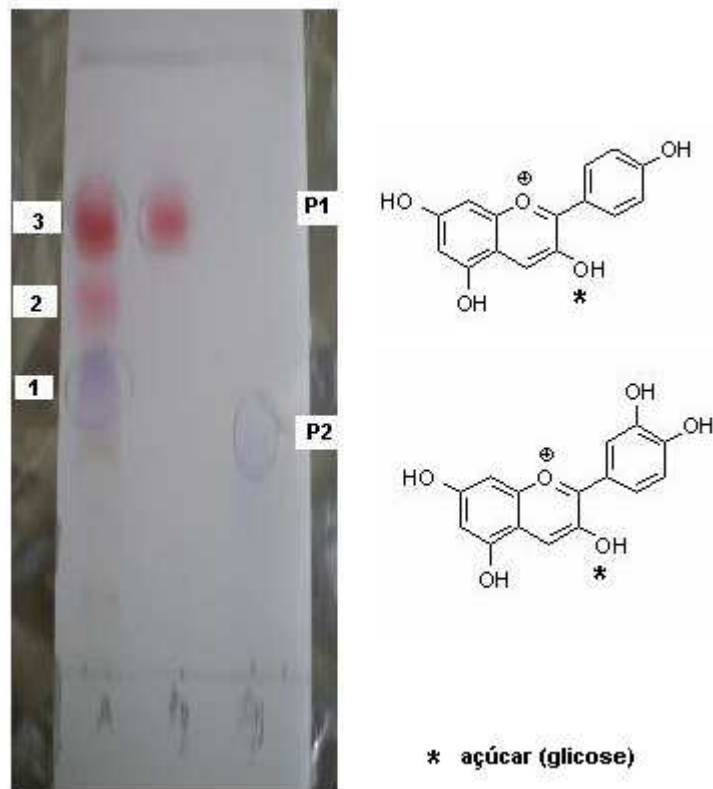
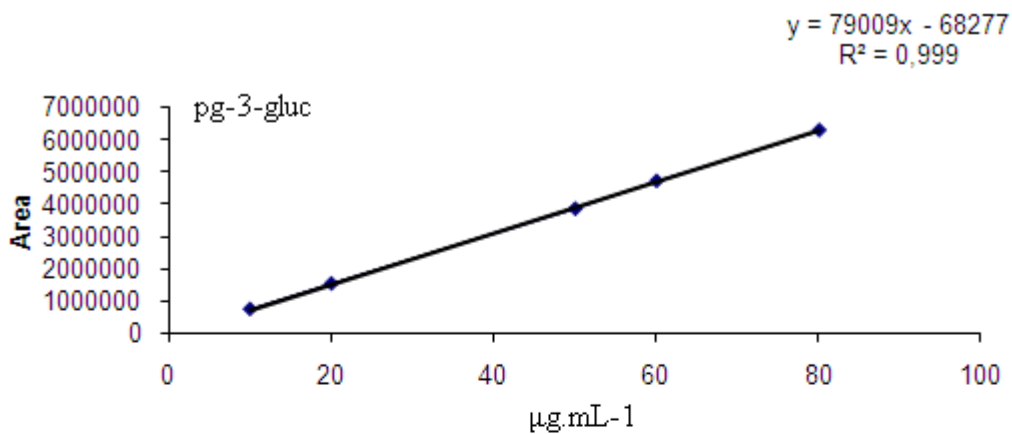


Figura 20 – Cromatoplaça das antocianinas para cultivar Camarosa sistema de plantio convencional.

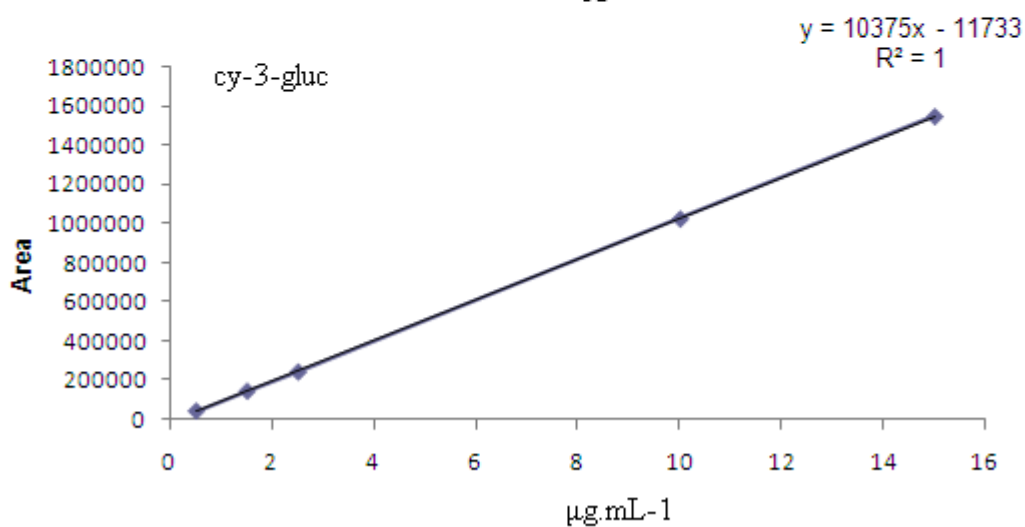
5.1.10. Antocianinas e fenólicos por análise cromatográfica de alta eficiência

A Figura 21 apresenta as curvas de calibração das soluções padrão da cianidina 3-glucosídeo (Cy) (Fig. 21A) e da perlagonidina 3-glucosídeo (Pg) (Fig. 21B) obtida por CLAE.

A Figura 22 mostra um cromatograma típico da análise das antocianinas em extratos das amostras dos morangos estudados.



A



B

Figura 21 – Curvas de calibração dos padrões: (A) perlagonidina-3-glucosideo (pg-3-gluc) para a faixa de concentração de 5 a 80 µg.mL⁻¹; (B) cianidina-3-glucosideo (cy-3-gluc) para a faixa de concentração de 0,5 a 15 µg.mL⁻¹.

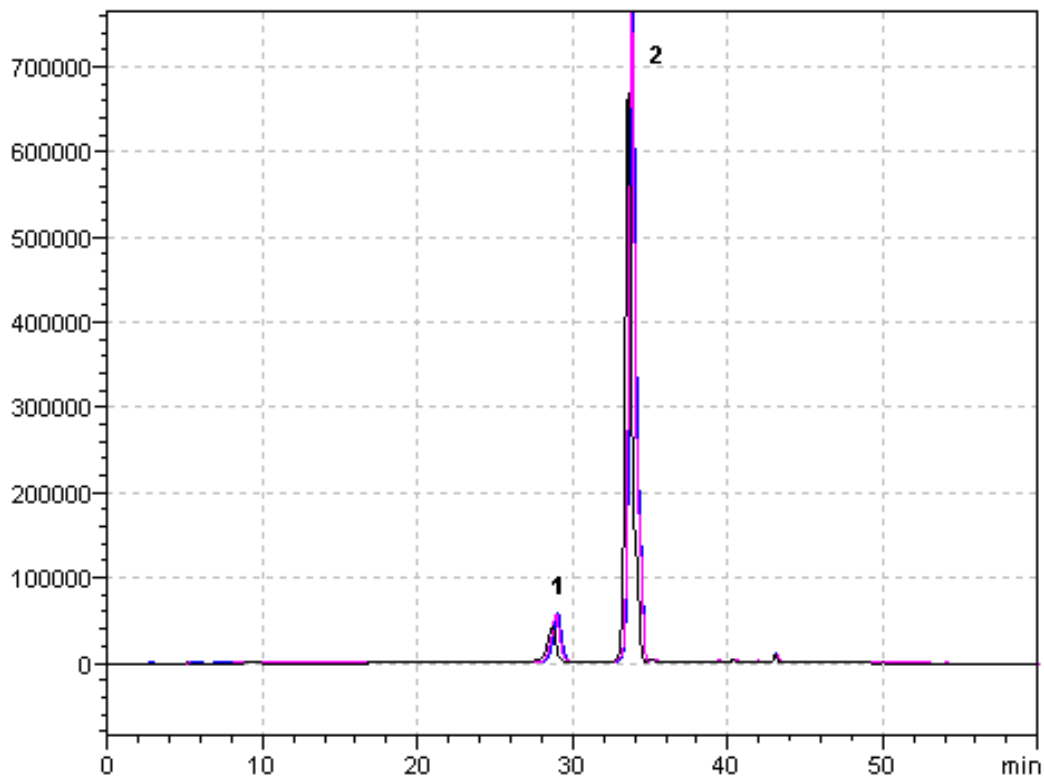
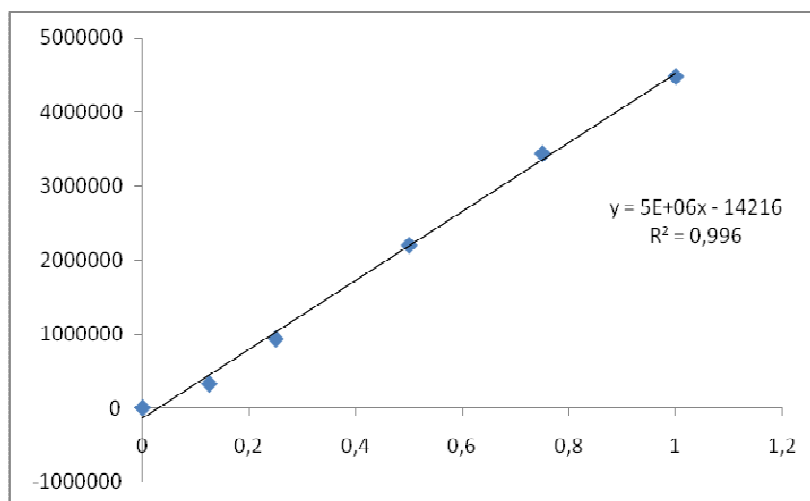


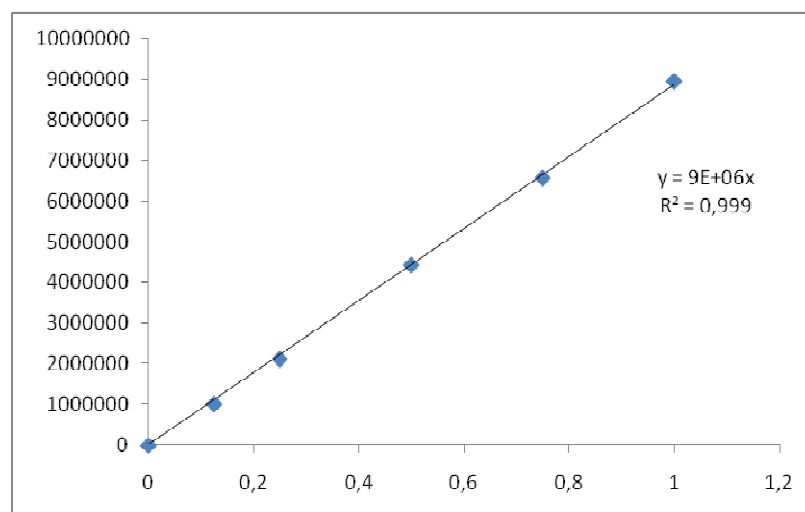
Figura 22 – Cromatograma típico da amostra de extrato de morango na análise de antocianinas por CLAE /UV e CLAE/DAD, **1** (cy-3-gluc) e **2** (pg-3-gluc).

A Figura 23 apresenta as curvas de calibração das soluções padrão Kaempferol (Fig. 23A), quercetina (Fig. 23B) e do ácido elágico (Fig. 23C) obtida por CLAE-EM/EM.

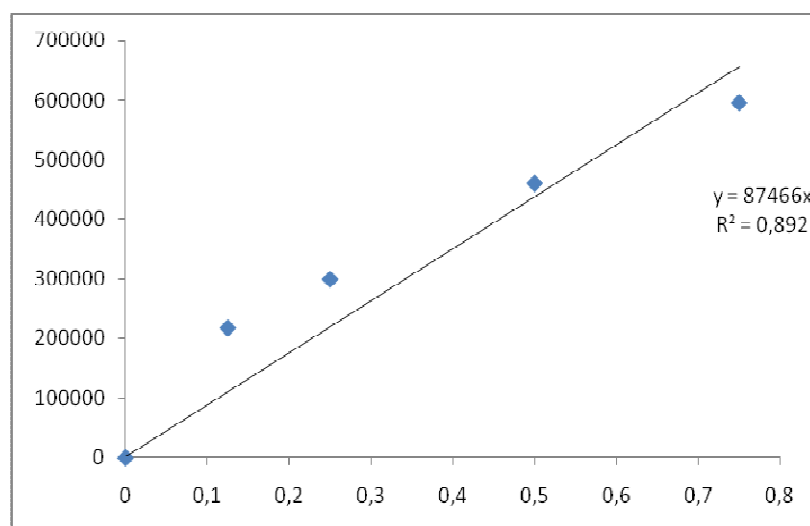
A Figura 24 mostra um cromatograma da análise dos fenólicos em extratos das amostras dos morangos estudados



A



B



C

Figura 23 – Curvas de calibração dos padrões: (A) kaempferol (B) quercetina (C) ácido elágico para a faixa de concentração de 0 a 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

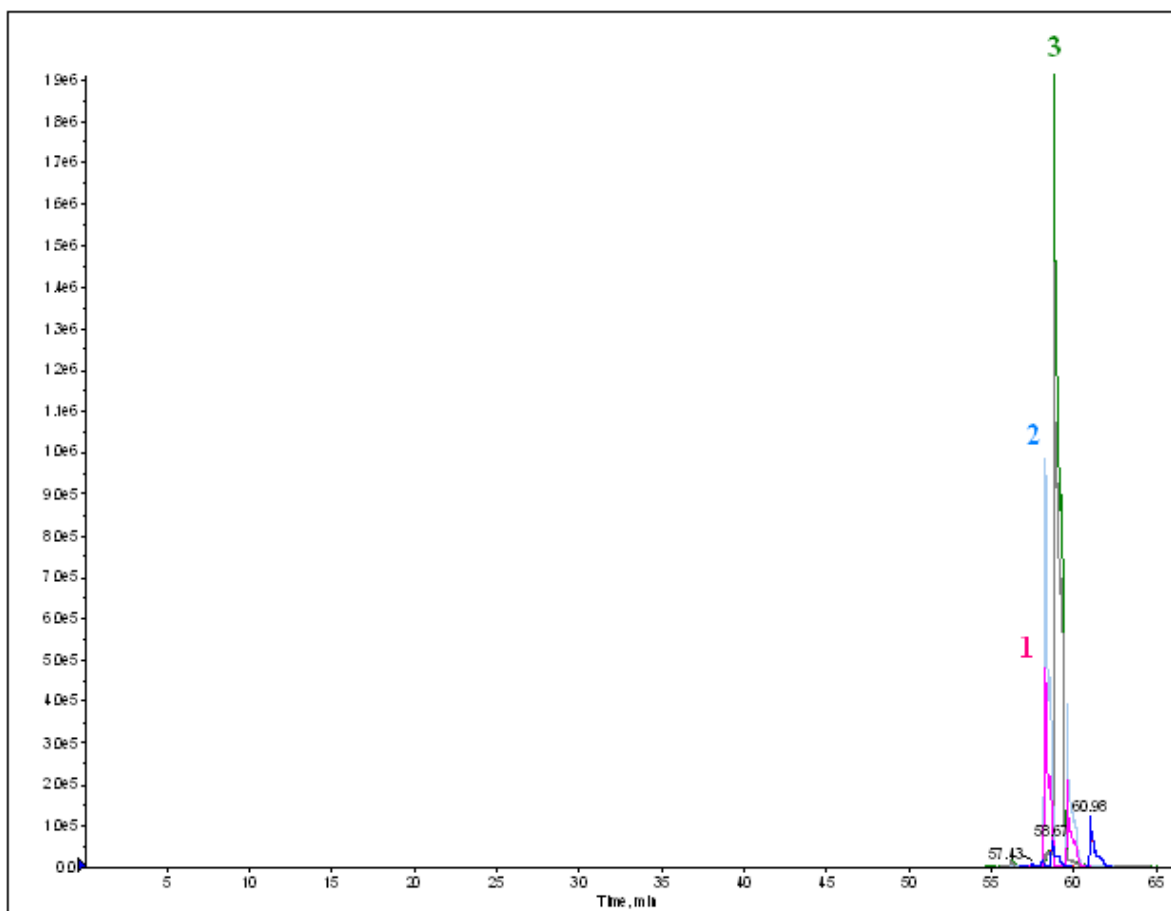


Figura 24 – Cromatograma do extrato de morango na análise de fenólicos por CLAE-EM/EM (1) ácido elágico (2) quercetina (3) kaempferol

O pico 1 de m/z 463 corresponde ao ácido elágico. Este composto com a perda de uma unidade da glucose (162uma) origina o fragmento m/z 301. A fragmentação de m/z 301 produz os fragmentos característicos m/z 229 e 145 que confirmam e identificam a presença do mesmo.

O pico 2 de m/z 463 corresponde a quercetina-3-O-glucosídeo. O qual com a perda de uma unidade da glucose (162uma) origina no MS^2 o fragmento m/z 301. A fragmentação de m/z 301, por MS^3 , origina os fragmentos característicos m/z 179 e 151 que confirmam e identificam a presença desse composto na amostra.

O ácido elágico e a quercetina produzem o mesmo íon na fragmentação do íon molecular, isto é íon m/z 301. No entanto no MS^3 , o íon m/z produzido por cada composto gera íons totalmente distintos, possibilitando dessa forma, identificar com segurança e livre de dúvidas os fenólicos quercetina e ácido elágico.¹

O pico **3** de m/z 461 corresponde ao composto Kaempferol-3-O-glucuronideo. O mesmo pela perda de uma unidade da glucorona (176 uma) origina no MS^2 (modo negativo) o fragmento de m/z 285. A fragmentação do ion m/z 285, por MS^3 , origina os fragmentos característicos m/z 117 e 185 que confirmam e identificam o Kaempferol, visto que são razões m/z característicos do mesmo, confirmando a presença desse composto na amostra. As Figuras 25, 26 e 27 apresentam os fragmentos característicos dos fenólicos (ácido elágico, quercetina e kaempferol).

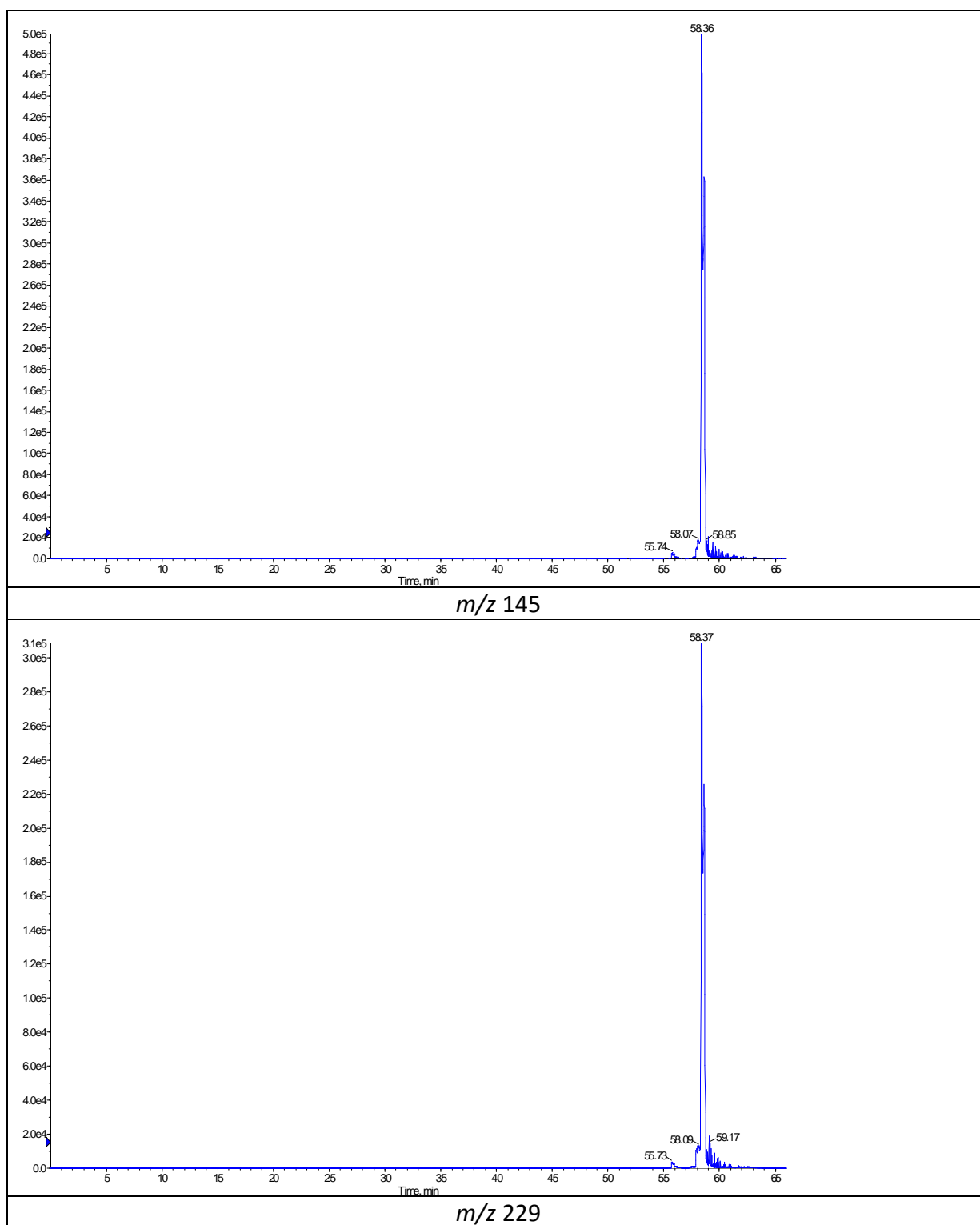


Figura 25 – Fragmentos característicos do ácido elágico no modo MS³.

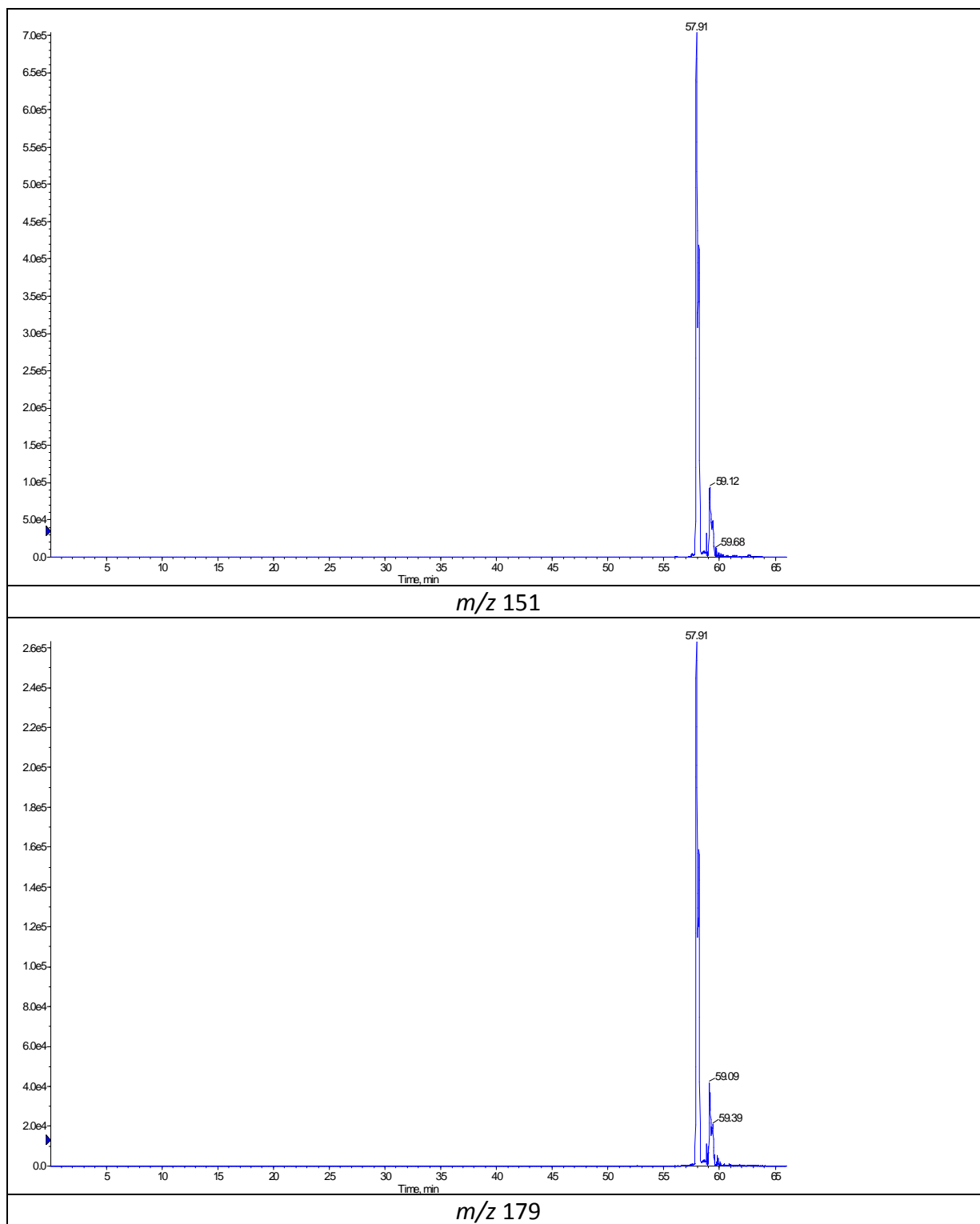


Figura 26 – Fragmentos característicos da quercetina no modo MS^3 .

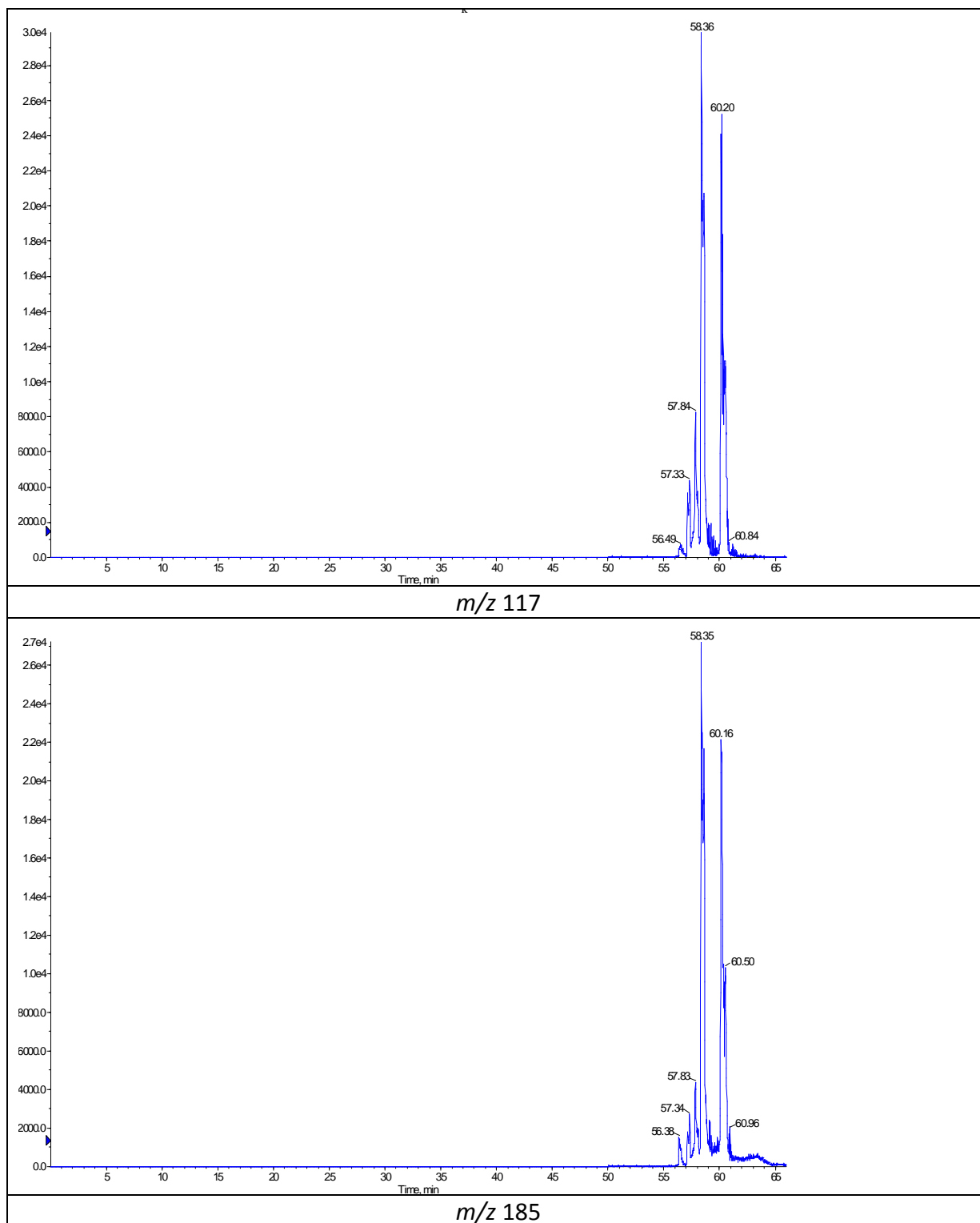


Figura 27 – Fragmentos característicos do Kaempferol no modo MS³.

Análise Multivariada

Foram aplicadas a análise hierárquica de agrupamento (AHA) e a análise de componentes principais (ACP) na matriz de dados gerada (48x5), 2 cultivares, 4 períodos de armazenamento e 2 sistemas de plantio (48) e 3 fenólicos e 2 antocianinas - flavonóides (5).

A representação gráfica das componentes principais para caracterização das amostras em relação aos flavonóides é mostrada na Figura 28 e a representação gráfica das variáveis (flavonóides) esta representada na Figura 29.

As duas primeiras componentes principais explicam cerca de 84,94% da variância total dos dados. Nesta análise foi possível extrair informações relevantes sobre a correlação existente entre o comportamento dos flavonóides dos cultivares de morango no decorrer do armazenamento.

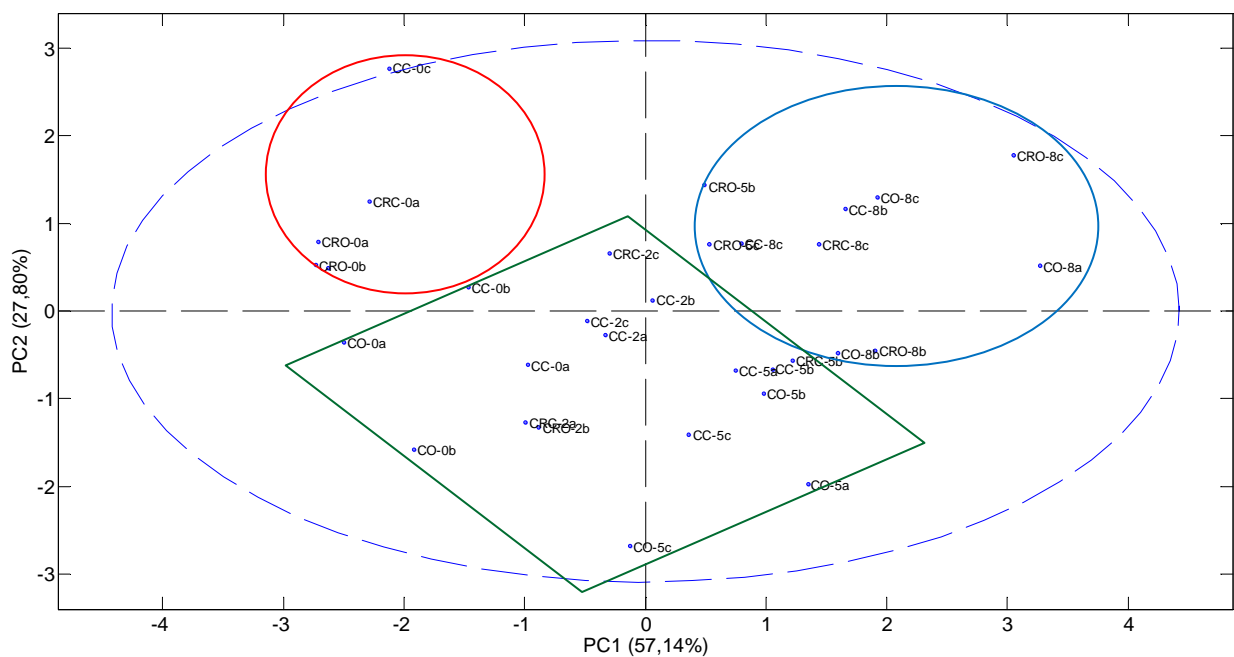


Figura 28 – Relação entre as duas componentes principais e as triplicatas das duas cultivares de morango em períodos de armazenamento de 0, 2, 5 e 8 dias.

Relacionando o gráfico de scores que representa as amostras, Figura 28, o gráfico de loadings, Figura 29, que representa as variáveis e analisando a componente secundária (PC2) observamos que o grupo de amostras no tempo zero é caracterizado pela maior concentração

de cianidina (Cy) e pelargonidina (Pg), o grupo intermediário está relacionado com a concentração de ácido elágico e grupo do oitavo dia de armazenamento está relacionado com a maior concentração de quercetina e kampferol.

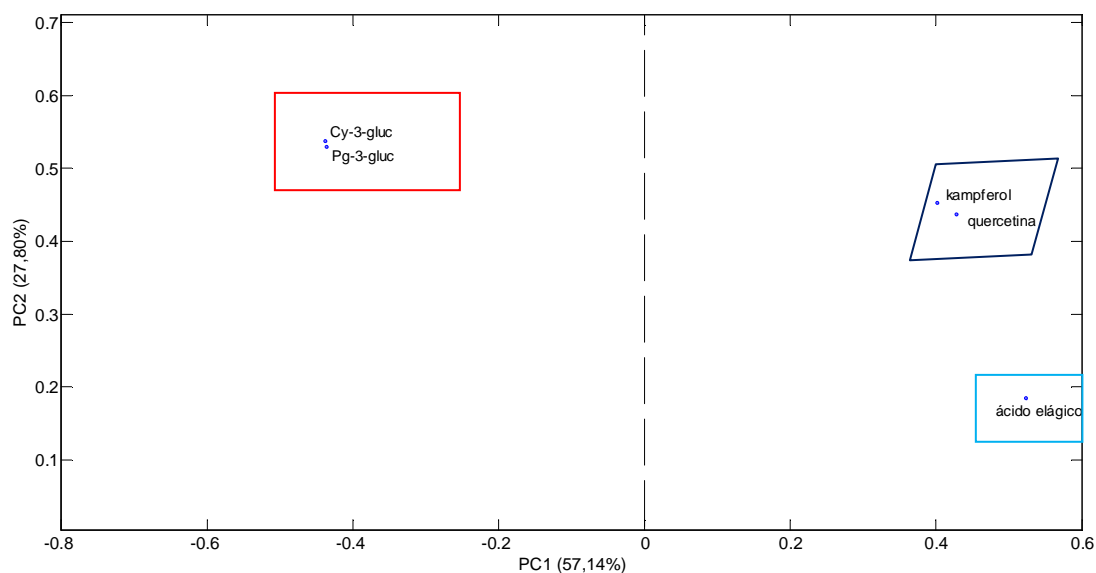


Figura 29 – Relação entre as duas componentes principais e os flavonóides quantificados por cromatografia a líquido em cultivares de morango nos períodos de armazenamento de 0, 2, 5 e 8 dias.

A análise hierárquica de agrupamento (AHA) complementa a análise de componentes principais (ACP) para determinar semelhanças e diferenças no conjunto de dados, os semelhantes formam o mesmo agrupamento. No dendograma, Figura 30, pode ser observado três grupos principais com similaridade, os grupos (A), (B) e (C). No geral, esses grupos estão bem definidos, o grupo de (A) reúne somente as amostras referentes ao zero dia. O grupo intermediário (B) apresenta similaridade entre os períodos de armazenamento de dois e cinco dias, com exceção das repetições da cultivar Camarosa no sistema convencional e orgânico no período de zero dia de armazenamento – CCa, CCb, COb e COa.

No grupo de similaridade (C), estão todas as amostras do período de oito dias de armazenamento, com exceção da cultivar Camino Real do sistema de plantio orgânico no período de cinco dias de armazenamento - CROb e CROc.

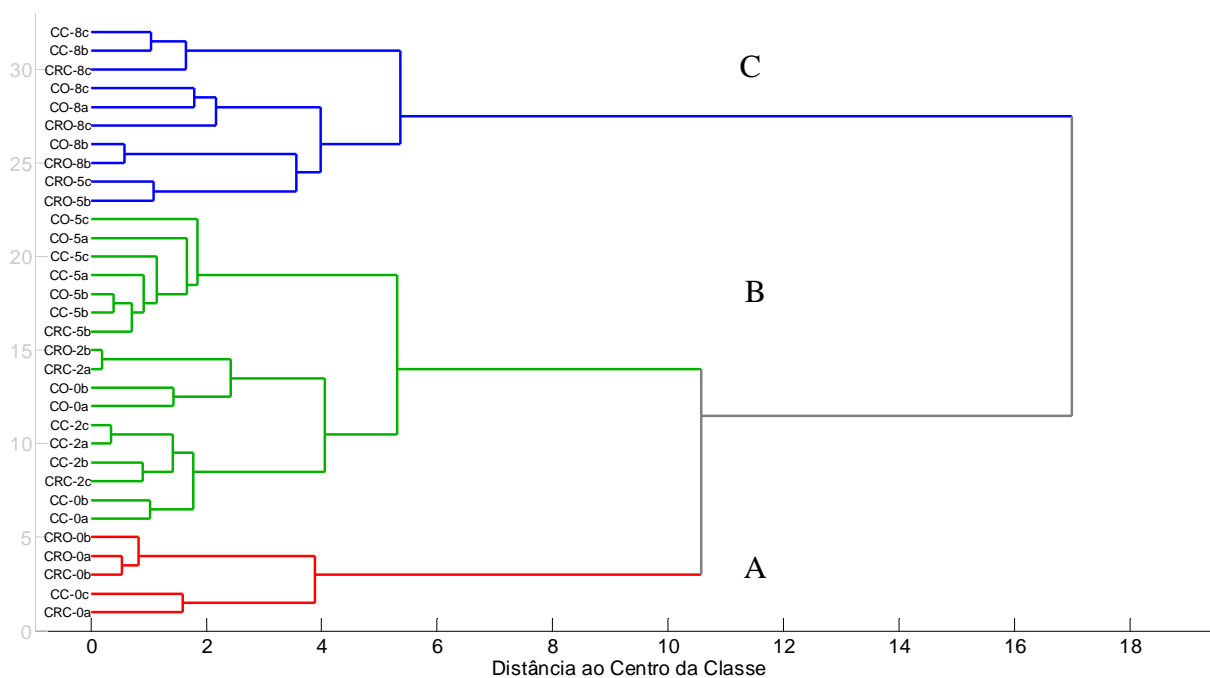


Figura 30 – Dendrograma obtido na análise hierárquica de agrupamento das triplicatas das duas cultivares de morango em períodos de armazenamento de 0, 2, 5 e 8 dias.

Na Figura 29, observa-se que o primeiro componente (PC1) se correlaciona negativamente com as variáveis cianidina-3-glucosídeo (cy-3-gluc) e perlagonidina-3-glucosídeo (pg-3-gluc) e de forma positiva com as demais variáveis (Kaempferol, quercetina e ácido elágico).

Continuando a análise da componente principal (PC1) concluímos que no decorrer do armazenamento de oito dias os teores de cy-3-gluc e pg-3-gluc decrescem, enquanto os teores de Kaempferol, quercetina e ácido elágico sofrem um acréscimo, sendo o maior acréscimo para o ácido elágico.

5.1.11. Análise dos voláteis por *headspace* e Cromatografia a Gás (CG)

A Figura 31 apresenta a curva de calibração dos padrões: etanol (▲), acetaldeído (■), acetato de metila (◆) e acetato de etila (●) obtido por CG-FID e a Figura 32 o cromatograma dos mesmos.

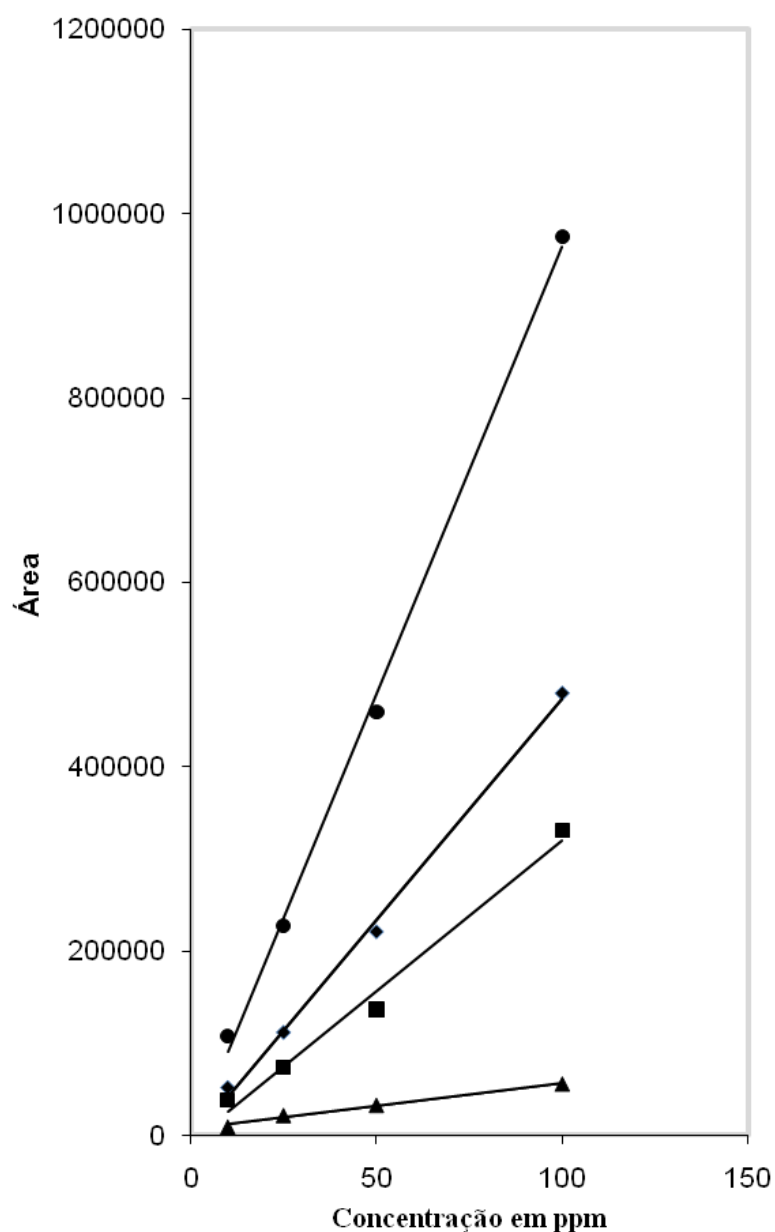


Figura 31 – Curva de calibração dos padrões: etanol (▲), acetaldeído (■), acetato de metila (◆) e acetato de etila (●).

Os coeficientes de determinação r^2 foram 0,987; 0,938; 0,998 e 0,997, respectivamente. As equações que representam a correlação linear entre os pontos são: $y_{\text{etanol}} = 3279x + 6792,6$; $y_{\text{acetaldeído}} = 534,39x - 1146,6$; $y_{\text{acetato de metila}} = 9715x - 6990,3$ e $y_{\text{acetato de etila}} = 4794,6x - 6032,5$.

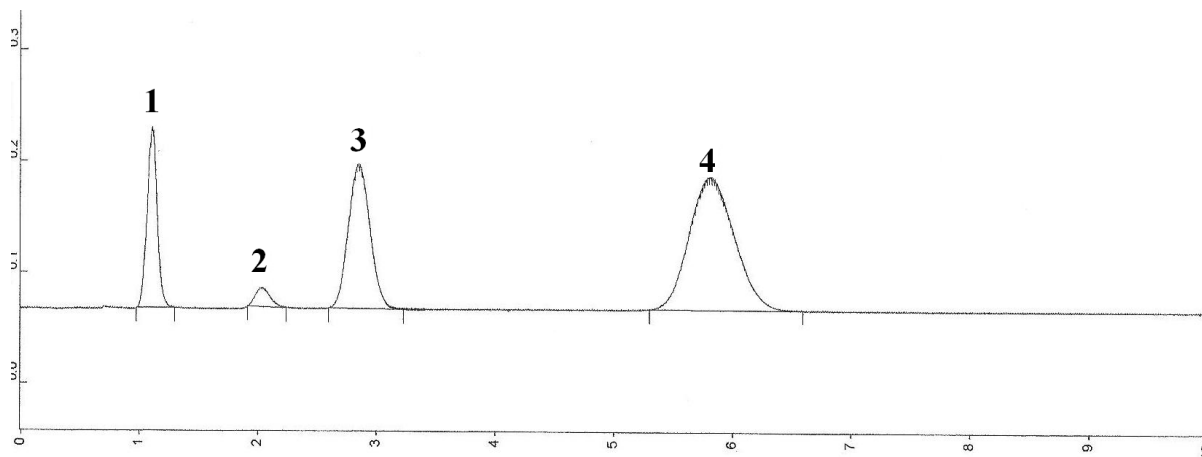


Figura 32 – Cromatograma dos padrões dos voláteis acetaldeído (1), etanol (2), acetato de metila (3) e acetato de etila, (4) presentes nas amostras dos morangos dos sistemas convencional e orgânico

Na Tabela IX, estão apresentados os resultados dos teores de compostos voláteis durante o armazenamento das cultivares de morango Camino Real e Camarosa nos dois sistemas de produção.

Tabela IX. Efeito do período de armazenamento e do sistema de plantio nos compostos voláteis das cultivares de morango Camino Real e Camarosa. Pelotas – RS, safra 2008.

voláteis	Sistema Produção	Cultivar	Períodos de armazenamento (dias)								CV médio (%)
			0	2	5	8					
Acetaldeído (Ac)	Convencional	Camino Real	7,70	cD	7,89	cC	11,81	aB	14,10	bA	0,42
		Camarosa	9,27	aC	7,76	dD	9,60	cB	14,34	aA	0,54
	Orgânico	Camino Real	6,94	dD	8,09	bC	10,05	bB	13,99	bA	0,26
		Camarosa	8,53	bC	9,65	aB	8,36	dD	10,72	cA	0,54
Etanol (Et)	Convencional	Camino Real	33,18	cB	19,22	bC	33,86	aB	45,73	bA	1,19
		Camarosa	46,78	bA	11,56	dD	20,62	cC	42,12	cB	1,25
	Orgânico	Camino Real	28,11	dB	22,72	aC	22,94	bC	48,52	aA	1,45
		Camarosa	59,06	aA	17,66	cC	14,61	dD	35,56	dB	0,64
Acetato de metila (AM)	Convencional	Camino Real	7,27	cA	6,77	cB	5,76	cC	4,51	dD	0,56
		Camarosa	15,88	aA	8,67	bB	8,19	bC	8,13	aC	0,78
	Orgânico	Camino Real	6,62	dA	5,95	dB	5,08	dC	4,95	cD	0,62
		Camarosa	13,43	bA	11,24	aB	9,48	aC	7,09	bD	0,34
Acetato de etila (AE)	Convencional	Camino Real	6,12	cC	5,94	bD	7,12	cB	19,23	cA	0,47
		Camarosa	20,62	aB	6,16	bD	16,68	aC	45,94	aA	0,35
	Orgânico	Camino Real	5,63	dC	4,04	cD	6,00	dB	16,23	dA	0,38
		Camarosa	11,89	bB	8,06	aD	8,22	bC	21,65	bA	0,30

* Valores médios ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) seguidos da mesma letra minúscula na coluna ou maiúscula na linha não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \geq 0,05$). As frutas foram armazenadas $1 \pm 0,5$ °C e 90 a 95% UR para todos os períodos de armazenamento. Todos os valores de voláteis foram corrigidos quanto a perda de massa. CV=coeficiente de variação.

Observou-se aumento na concentração de Ac para as cultivares Camino Real e Camarosa no sistema convencional e orgânico, quando armazenadas por oito dias a $1 \pm 0,5$ °C. De modo geral, esse aumento foi observado entre o quinto e oitavo dia para o etanol e o acetato de etila. Estes resultados concordam com os de Almenar *et al.*,⁷⁴ que relataram para cultivar Camarosa, uma evolução progressiva na concentração de Ac, Et e AE após sete dias de armazenamento a 10 °C com aplicação de 1 a 1,5% de quitosana. A acumulação de Ac e do Et durante o armazenamento sob condições aeróbicas, segundo Almenar *et al.*,⁷⁴ está associada à maturação bem como a infecção microbiana causada por danos ao fruto. Por outro lado, no presente trabalho, observou-se decréscimo gradativo do AM para as duas cultivares nos dois sistemas de produção. Para o Ac, os maiores valores foram observados para as cultivares Camarosa e Camino Real convencional (14,34 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e 14,10 $\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente) e Camino Real orgânico (13,99 $\mu\text{g.g}^{-1}$) no oitavo dia de armazenamento. Para o Et, a cultivar Camarosa orgânico (59,06 $\mu\text{g.g}^{-1}$) foi significativamente superior às demais ($p < 0,05$) com zero dia de armazenamento a 1 °C. Como já visto na revisão bibliográfica o acetaldeído (Ac) é um volátil que ocorre naturalmente em quase todas as frutas e é acumulado durante o amadurecimento. É precursor do éster etílico produzido durante a maturação de morangos.⁷³ O Ac pode também ser metabolizado para etanol (Et) pela enzima álcool desidrogenase e para (acetil CoA) pela enzima aldeído desidrogenase. O Et e a acetil CoA são substratos para a síntese do acetato de etila (AE). Ac, Et e AE são produzidos por morangos quando estocados sob condições aeróbicas.⁷⁴

5.2. Correlação entre as variáveis estudadas

Os coeficientes de correlação entre os valores de atividade antioxidante (TEAC) e os teores de fenóis totais, de antocianinas totais e de ácido ascórbico para as duas cultivares e nos dois sistemas de produção estão representados na Tabela X e Figura 33. Observou-se uma correlação negativa entre a atividade antioxidante e o teor de ácido ascórbico (Tabela X), somente para o sistema de produção convencional. Nos teores de antocianinas totais, as cultivares correlacionaram-se positivamente com a atividade antioxidante CRC ($r = 0,82$, $p < 0,005$), CC ($r = 0,66$, $p < 0,005$), CRO ($r = 0,84$, $p < 0,005$) e CO ($r = 0,69$, $p < 0,05$).

Os teores de fenóis totais apresentaram o mesmo comportamento, isto é, todas as cultivares e sistemas de produção correlacionaram-se positivamente com a atividade antioxidante CRC ($r = 0,79$, $p < 0,05$), CC ($r = 0,87$, $p < 0,05$), CRO ($r = 0,72$, $p < 0,05$) e CO ($r = 0,79$, $p < 0,05$). Cheel *et al.*,⁸⁰ encontraram uma correlação menor ($r = 0,66$ a $p < 0,05$) entre fenóis totais e atividade antioxidante, trabalhando com frutos da cultivar Chandler, usando também o método DPPH. Entre o teor de antocianinas totais e a atividade antioxidante, a correlação foi de 0,73. Zheng *et al.*,¹⁵⁴ relataram correlação positiva entre a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos ($r = 0,96$ a $p < 0,05$) e de antocianinas ($r = 0,78$ a $p < 0,05$) em morangos cv. Allstar.

Tabela X. Coeficientes de correlação entre atividade antioxidante (TEAC-DPPH) e teores de fenóis totais, de antocianinas totais e de ácido ascórbico para as cultivares Camino Real e Camarosa produzidas nos sistemas de produção convencional e orgânico. Pelotas - safra 2008.

	Atividade antioxidante			
	CRC	CC	CRO	CO
Fenóis totais	0,79*	0,87*	0,72*	0,79*
Antocianinas totais	0,82*	0,66*	0,84*	0,69*
Ácido ascórbico	-0,82*	-0,81*	-0,29 ^{ns}	0,41 ^{ns}

* significativo a $p \leq 0,05$; ns= não significativo; CRC = Camino Real convencional; CC = Camarosa convencional; CRO = Camino Real orgânico; CO = Camarosa orgânico.

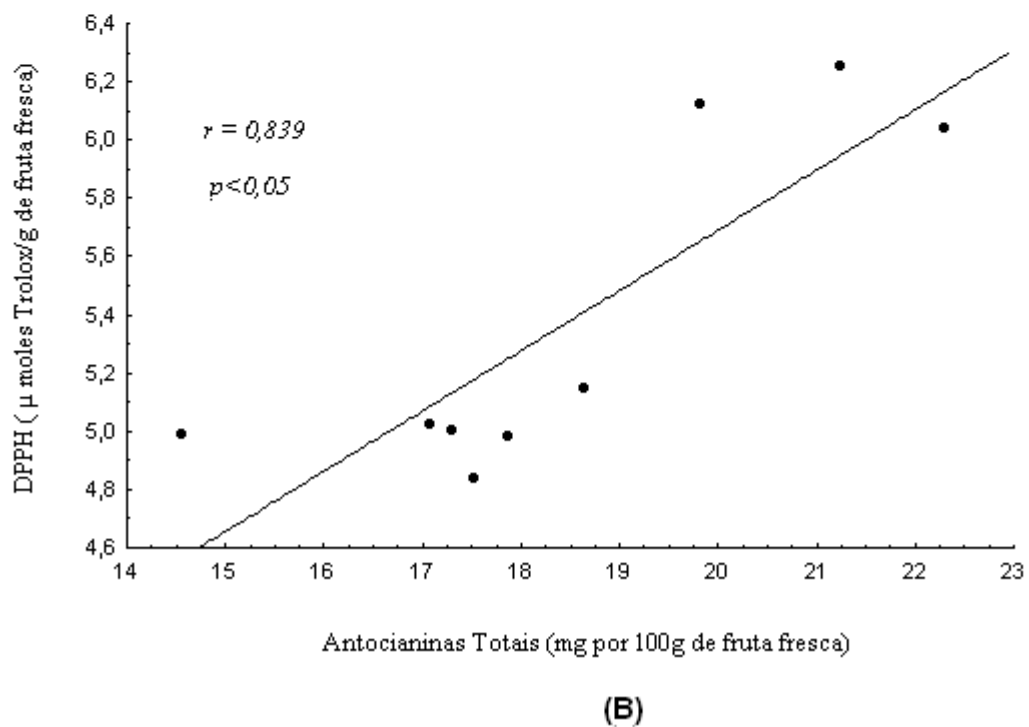
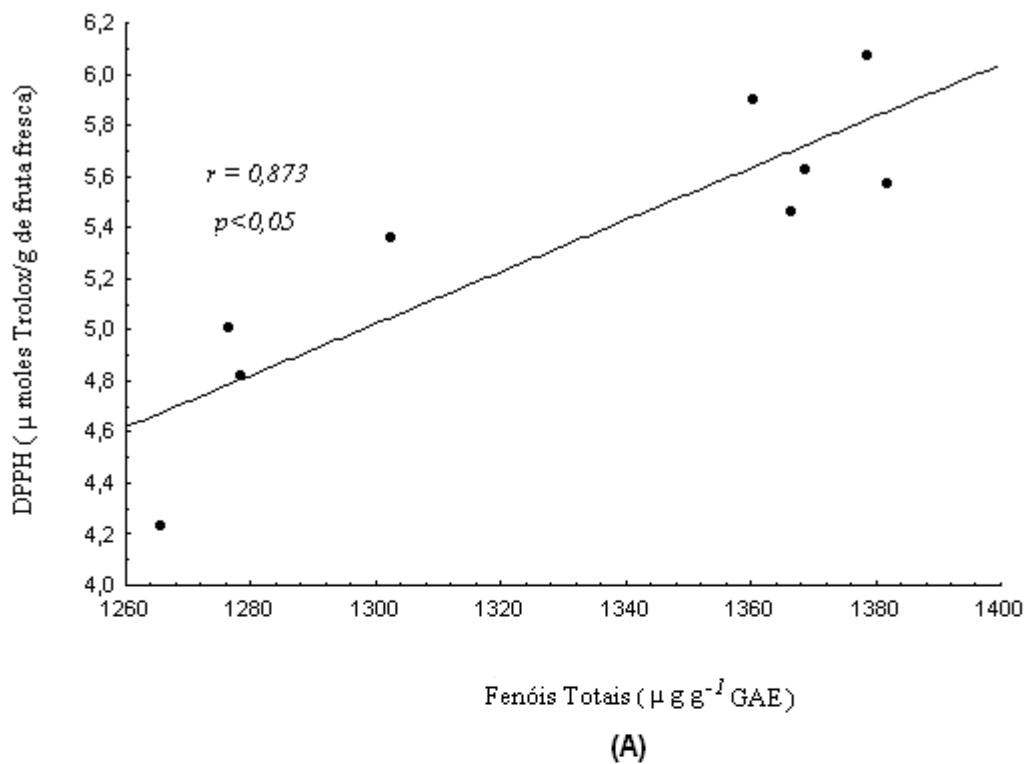


Figura 33 – Correlação entre DPPH e os teores de Fenóis totais (A) e de Antocianinas totais (B) para as cultivares CC = Camarosa convencional e CRO = Camino Real orgânico, respectivamente. Pelotas – RS, - safra 2008

Os coeficientes de correlação entre podridões e o acetaldeído, o etanol, o acetato de metila e o acetato de etila para as duas cultivares e nos dois sistemas de produção estão representados na Tabela XI. Observou-se uma correlação negativa entre podridões e AM para as duas cultivares no sistema de produção orgânico e para a cultivar Camarosa no sistema convencional, indicando que AM não é metabólito da fermentação.

Tabela XI. Coeficientes de correlação entre podridões e os compostos voláteis para as cultivares de morangos produzidas nos sistemas de produção convencional e orgânico, armazenados durante oito dias. Pelotas – RS, safra 2008.*

	Podridões			
	CRC	CC	CRO	CO
Acetaldeído (Ac)	0,45 ^{ns}	0,24 ^{ns}	0,82 [*]	0,63 [*]
Etanol (Et)	0,29 ^{ns}	-0,49 ^{ns}	0,80 [*]	-0,42 ^{ns}
Acetato de metila (AM)	-0,50 ^{ns}	-0,80 [*]	-0,63 [*]	-0,60 [*]
Acetato de etila (AE)	0,48 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,84 [*]	0,33 ^{ns}

* significativo a $p \leq 0,05$; ns= não significativo; CRC = Camino Real convencional; CC = Camarosa convencional; CRO = Camino Real orgânico; CO = Camarosa orgânico

Nos teores de Ac a correlação foi positiva somente para as cultivares do sistema orgânico CRO ($r = 0,82$, $p < 0,05$) e CO ($r = 0,63$, $p < 0,05$). Para as concentrações de Et e AE, a correlação com a podridões foram positivas somente para a cultivar Camino Real do cultivo orgânico ($r = 0,80$, $p < 0,05$) e ($r = 0,84$, $p < 0,05$). Além disso, a cultivar Camino Real do sistema orgânico apresentou maior podridão e foi a única cultivar com correlação positiva para Ac, Et e AE, mostrando que o aumento desses metabólitos é um bom indicador não só de fermentação, mas também de podridão.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicaram que morangos das cvs Camino Real e Camarosa armazenados por oito dias a 1 °C, apresentaram:

- maior perda de massa fresca quando produzido em sistema orgânico do que no convencional;
- aumento de pH, relação sólidos solúveis/acidez titulável, concentração dos voláteis acetaldeído, etanol e acetato de etila, enquanto que a acidez titulável e o ângulo de Hue diminuíram significativamente, bem como a concentração do volátil acetato de metila;
- decréscimo de ácido ascórbico no decorrer do armazenamento, independentemente do sistema de produção, sendo que o sistema convencional apresentou perda superior ao orgânico;
- aumento dos fenóis totais;
- aumento até o quinto dia de antocianinas totais, seguida de diminuição do quinto para oitavo dia de armazenamento para as cultivares do sistema convencional;
- aumento até o quinto dia de atividade antioxidante, seguida de diminuição do quinto para oitavo dia de armazenamento para ambas as cultivares e sistemas de produção;
- diminuição de sólidos solúveis, do quinto para oitavo dia de armazenamento para a cv Camarosa em ambos os sistemas;
- diminuição nos teores das antocianinas individuais cianidina-3-glucosídeo e pelargonidina-3-glucosídeo;
- aumento dos fenóis individuais (kempferol, quercetina e ácido elágico), sendo ácido elágico o que apresentou maior aumento;
- aumento de podridões na cv Camino Real do sistema orgânico.
- correlação positiva dos voláteis etanol, acetaldeído e acetato de etila com a podridão para a cultivar Camino Real do cultivo orgânico, indicando que tais metabólitos podem ser indicadores de fermentação e de podridão;
- correlação positiva dos teores de fenóis e antocianinas totais com a atividade antioxidante e correlação negativa com o teor de ácido ascórbico;
- independente do sistema de plantio os morangos de ambas as cultivares podem ser armazenados a 1 °C por no máximo 5 dias, sem perder a qualidade;

- morangos no sistema de plantio orgânico apresentaram maiores valores de atividade antioxidante e maior preservação das antocianinas totais quando armazenados por 5 dias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Seeram, N. P.; Adams, L. S.; Zhang, Y. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells en vitro, *J. Agric. Food Chem.* , **2006**, 54, 9329-9339.
2. Calvete, E.O.; Franciele Mariani, F.; Wesp, C.L.; Nienow, A.A.; Castilhos, T.; Cecchetti, D. E. F. Fenologia, produção e teor de antocianinas de cultivares de morangueiro em ambiente protegido. *Rev. Bras. Frutic.* **2008**, 30, 396-401.
3. Castro, R.L.; Casali, V.W.D.; Barrella, T.P; Santos, R.H.S.; Cruz, C.D.. Produtividade de cultivares de morangueiro em sistema de cultivo orgânico. *Hort. Bras.*, **2003**, 21: 227-230.
4. Montero, T.M.; Mollá, E.M.; Esteban, R.M.; Andréu, F.J.L., Quality attributes of strawberry during ripening, *Sci Hort.* **1996**, 65, 239-250.
5. 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, *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **1997**, 18, 1, 16.
6. Pelayo-Zaldívar, C.; Ebeler, S.E.; Kader, A.A. Cultivar and harvest date effects on flavor and other quality attributes of California strawberries. *J. Food Quality*, **2005**, 28, 78–97.
7. Amal, S.H.A; El-Mogy, M. M.; Aboul-Anean H. E.; Alsanius, B. W. Improving Strawberry Fruit Storability by Edible Coating as a Carrier of thimol or calcium chloride. *J. Hort. Sci & Ornamen. Plants.* **2010**, 2, 3, 88-97.
8. Zabetakis, I. & Holden, M. A., Strawberry flavour: Analysis and biosynthesis. *J. Sci Food Agric.*, **1997**, 74, 421–434.
9. Watson, R. Wright, C.J.; McBurney, T.; Taylor, A.J.; Linforth, R.S.T. Influence of harvest date and light integral on the development of strawberry flavour compounds. *J. Exp. Bot.*, **2002**, 53, 377, 2121-2129.

10. Kafkas, E.; Kafkas S.; Koch-Dean, M.; Schwab, W.; Larkov, O.; Lavid, N.; Bar, E.; Ravid, U.; Lewinsohn, E. Comparison of methodologies for the identification of aroma compounds in strawberry. *Turk. J. Agric. Forest*, **2005**, 19, 5, 383-390.
11. Sevenants, M.R.; Jennings, W.G. Volatile components of peach, II. *J. Food Sci.*, **1966**, 31, 1, 81-86.
12. Su, S.K.; Wiley, R.C. Changes in apple juice flavor compounds during processing. *J. Food Sci.*, **1986**, 63, 4, 688-691.
13. Pérez, A.G.; Sanz, C. Effect of high-oxygen and high-carbondioxide atmospheres on strawberry flavour and other quality traits. *J. Agric Food Chem.*, **2001**, 49, 2370-2375.
14. Hannum S.M. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit Rev Food Sci Nutr*. **2004**, 44, 1, 1-17.
15. Ferreyra, S.R.M., Vinã . Z., Mugridge, A., Chaves, A.R., Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar, *Sci Hort*, **2007**, 112, 27–32.
16. Aaby, K., Wrolstad, R.E., Ekeberg, D., Skrede, G., Polyphenol Composition and Antioxidant Activity in Strawberry Purees; Impact of Achene Level and Storage, *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 5156-5166.
17. Zafra-Stone, S.;Yasmin, T.; Bagchi, M.; Chatterjee, A.; Vinson, J.; Bagchi, D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention, *Mol. Nutr. Food Res.*, **2007**, 51, 6, 675–683.
18. Carratu, E. & Sanzini, E. “Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable”. *Ann. Ist. Super Sanità*, **2005**, 41, 1, 7-16.
19. Szajdek, A. & Borowska, E.J. Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: a review. *Plant Food Hum Nutr*, **2008**, 63, 4, 147-156.
20. Liu, R.H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals;In: *Am. J. Clin. Nutr.*, **2003**,78, 517-520.

21. Badjakov, I.; Nikolova, M.; Gevrenova, R.; Kondakova, V.; Todorovska, E.; Atanasov, A.. Bioactive compounds in small fruits and their influence on human health, *Biotech. Biotechnol. Eq.* **2008**, 22, 581-587.
22. Olsson, M.E; Andersson, S.C; Berglund, R.H; Gustavsson, K.-E. Extracts from Organically and Conventionally Cultivated Strawberries Inhibit Cancer Cell Proliferation In Vitro, *Acta Hort.* **2007**,1, 189-194.
23. Katsube, N.; Iwashita, K.; Tsushida, T.; Yamaki, K.; Kobori, M. J. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 68–75.
24. Torres U.C.; Guzmán J.L.; Moore-Carrasco, R.; Palomo G.I, Efecto antitrombótico, una característica poco conocida de las frutas y hortalizas. *Rev. Chil. Nutr.*, **2008**, 35, 1, 10-17.
25. Erlund, I.; Koli, R.; Alfthan, G.; Marniemi, J.; Puukka, P.; Mustonen, P.; Mattila, P.; Jula, A.. Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol, *Am J Clin Nutr.* **2008**, 87: 323–31.
26. Joseph, J.A; Shukitt-Hale,B.; Denisova, N.A.; Bielinski,D.; Martin, A.; Mcewen, J.J.; Bickford, P.C., Reversals of Age-Related Declines in Neuronal Signal Transduction, Cognitive, and Motor Behavioral Deficits with Blueberry, Spinach, or Strawberry Dietary Supplementation, *J. Neurosci.* **1999**, 19, 18, 8114-8121.
27. Hertog, M.G.L.; Sweetnam, P.M.; Fehily, A.M.; Elwood, P.C.; Kromhout, D. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. The Caerphilly study. *Am J Clin Nutr.* **1997**, 65, 1489-1494.
28. Ishige, K.; Schubert, D.; Sagara, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Radical Biol. Med.* **2001**, 30, 433-446.
29. Abdille, M.H.; Singh R.P.; Jayaprakasha, G.K.; Jena, B.S., Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food Chem.* **2005**, 90, 891-896.

30. Nakajima, J.;Tanaka, I.;Seo, S.; Yamazaki,M.; Saito,K. LC/PDA/ESI-MS Profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *J. Biomed Biotechnol.* **2004**, *5*, 241-247.
31. Muños-Espada, A.C.; Wood, K.V.; Bordelon, B.; Watkins, B.A. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of concord, norton, and marechal foch grapes and wines. *J. Agric Food Chem.* **2004**, *52*, 6779-6786.
32. Ruberto, G.; Renda, A.; Daquino, C.; Amico, V.; Spatafora, C.; Tringali, C.; Tommasi, N. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grapes cultivars. *Food Chem.*, **2007**, *100*, 203-210.
33. Madail. J.C.M.A Economia do Morango. Embrapa Clima Temperado. *Anais de Palestras e Resumos do IV Simpósio Nacional do Morango e III Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, **2008**.
34. Silva, R.S. Potencial antioxidante correlacionado com fenóis totais e antocianinas de cultivares de amora-preta, mirtilo, moranco e pêssego. Universidade Federal de Pelotas, *Dissertação*, Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, 2007.
35. Viegas, A.L.B. Embrapa lança o programa de produção integrada de morango, 2004.
36. Silva, P.R., Retrato da comercialização de morango em São Paulo no ano de 2006, *Análises e Indicadores do Agronegócio*, **2008**, *3*, 1.
37. Silva, T. P. Características produtivas e físico-químicas de frutos de morangueiro orgânico cultivado com o uso de extrato de algas. Universidade Federal do Paraná, *Dissertação*, Mestrado em Ciências, 2011.
38. Oliveira, R.P.; Scivittaro, W.B. Ferreira, L.V., Camino Real: nova cultivar de morangueiro recomendada para o Rio Grande do Sul. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, (*Comunicado Técnico, 161*), **2007**.
39. Anvisa, Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/> Acesso em novembro 2011.

40. Ministério da Agricultura. Disponível em: <http://www.prefiraorganicos.com.br/agrororganica/oqueeagricultura.aspx>. Acesso em março de 2010.
41. Cantillano, R.F.F. Produção integrada de pêssegos: manuseio pós-colheita e logística. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 41 p. Embrapa Clima Temperado. *Documentos*, 228, **2008**.
42. Schwengber, J.N. & Schiedeck, G., Sistema orgânico de produção de morangos, *Folder informativo*, Embrapa Clima temperado, **2008**.
43. Verona, L.A.; Nesi, C.N.; Scherer, E.E.; Signor, G.M.; Grossi, Morango em cultivo orgânico - avaliação de cultivares, *Rev. Bras. Agroecologia*, **2007**, 2, 1.
44. Couto, E.X.; Hyun, M.J.; Ioshida, P.L.K., Caracterização, descrição e análise da cadeia produtiva de frutas orgânicas no estado de São Paulo, *Jovens Pesquisadores*, **2006**, 3, 5, 71-87.
45. Rocha, D.A.; Abreu, C.M.P.; Corrêa, A.D.; Santos, C.D.; Fonseca, E.W.N., *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, **2008**, 30, 4, 1124-1128.
46. Pinto, M.S.; Lajolo, F.M., Genovese, M.I. Bioactive Compounds and Quantification of Total Ellagic Acid in Strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chem.* **2008**, 107, 1629–1635.
47. Otaki, N.; Kimira, M.; Katsumata, S.; Uehara, M.; Watanabe, S.; Suzuki, K. Distribution and major sources of flavonoid intakes in the middle-aged Japanese women. *J.Clin. Biochem. Nutr.* **2009**, 44, 3, 231-238.
48. Rouanet, J.-M., Décorde, K., Del Rio, D., Auger, C., Borges, G., Cristol, J.-P., Lean, M.E.J., and Crozier, A. Berry juices, teas, antioxidants and the prevention of atherosclerosis in hamsters. *Food Chem.* **2010**, 118, 266-271.
49. Sarkar, S-K, Sen, U.; Dhar, M.; Absar, N.; Islam, M.K. Evaluation of Nutritive, Antioxidant and Mineral composition of Two Newly Developed Varieties of Strawberry (*Fragaria ananassa*) and their Antimicrobial Activity and brain shrimp Toxicity Study, *Asian J. Agric Res.*, **2011**, 5, 6, 283-291.

50. Liu, R.H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action;In: *J. Nutr.*, **2004**, 134, 3479-3485.
51. Stoner, G.D. Wang, L.S. Zikri, N. Chen, T. Hecht, S.S. Huang, C. Sardo, C. Lechner, J.F.. Cancer Prevention with Freeze-dried Berries and Berry components. *Seminars in cancer biology*. **2007**, 5, 17, 403-410.
52. Pattison, D.J; Silman, A.J; Goodson, N.J; Lunt, M; Bunn, D; Luben, R; Welch, A; Bingham, S; Khaw ,K.T; Day, N; Symmons D.P. Vitamin C and the risk of developing inflammatory polyarthritis: prospective nested case-control study. *Ann Rheum Dis*. **2004**, 63, 7, 843-847.
53. Padh, H. Vitamin C: never insights into its biochemical functions. *Nutr. Rev.*, New York, **1991**, 49, 3, 65-70.
54. Marcus, R., Coulston, A.M. Vitaminas hidrossolúveis. In: Gilman, A.G., Roll, T.W., Nies, A.S. As bases farmacológicas da terapêutica. 8.ed. Rio de Janeiro :Guanabara, 1017-1032, 1991.
55. Guillard, J.C., Lequeu, B. As vitaminas do nutriente ao medicamento. São Paulo: Santos., **1995**, 375p.
56. Bobbio FO, Bobbio PA. Introdução à Química de Alimentos. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela; 2003.
57. Anderson, L., Dibble, M.V., Turkki, P.R., Mitchell, H.S.Nutrição17.ed. Rio de Janeiro: Guanabara. **1988**, 119-123.
58. Rosa, J. S., Godoy, R. L. O, Neto, J. N., Campos, R. S., Matta, V. N., Freire, C. A., Silva, A. S., Souza, R. S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, **2007**, 27, 4, 837-846.
59. Maia, G. A., Ritter, U. G., Figueiredo, R. W.,Oliveira, G. S., Gaspar JR, J. C., Monteiro, J. C. S., Obtenção e avaliação de bebida de baixa caloria à base de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) *Rev. Ciênc. Agron.* **2003**, 34, 2, 233 - 240.

60. Gabas, A. L. Telis-Romero, J., Menegalli, F. C., *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, **2003**, 23, 66-70.
61. Sahari, M.A.; Boostani, F.M.; Hamidi, E.Z. Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry, *Food Chem.*, **2004**, 86, 357–363.
62. Cordenunsi, B.R., Nascimento, J.R.O., Genovese, M.I., Lajolo, F.M., Influence of Cultivar on Quality Parameters and Chemical Composition of Strawberry Fruits Grown in Brazil *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, 9.
63. Koyuncu M.A., Dilmaçunal T. Determination of vitamin C and organic acid changes in strawberry by HPLC during cold storage. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. **2010**, 38, 95–98.
64. Yurdugul, S., An evaluation of the retention of quality characteristics in fresh and freeze-dried alpine strawberries *Int. J. Food Sci. Technol.*, **2008**, 43, 865–870.
65. Asami, D.K.; Hong, Y.J.; Barrett, D.M.; Mitchell, A.E., Comparison of the Total Phenolic and Ascorbic Acid Content of Freeze-Dried and Air-Dried Marionberry, Strawberry, and Corn Grown Using Conventional, Organic, and Sustainable Agricultural Practices, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 1237-1241.
66. Kafkas, E., Kosa, M., Paydas, S., Kafkas, S., Baser, K.H.C., Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages, *Food Chem.* **2007**, 100, 1229–1236.
67. Terrazzan, P., Aguila, J.S., Heiffig, L. S., Kluge, R.A., Physicochemical characterization of refrigerated strawberries conventional and organic crop systems, *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*, **2006**, 8, 1, 33-37.
68. Balsini, I. Análise sensorial e retenção de vitamina C em brócolis submetido a diferentes processos de cocção. Curitiba, *Dissertação* (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, 2003.
69. Krolow, A.C.R.; Schwengber, J.E.; Ferri, N.. Avaliações físicas e químicas de morango cultivar. Aromas produzidos em sistema orgânico e convencional. *Rev Bras Agroec.* **2007**, 2: 1732-1735.

70. Forney, C.F.; Kalt, W.; and Jordan, M.A. The Composition of Strawberry Aroma Is Influenced by Cultivar, maturity, and storage. *HortSci*, **2000**, 35, 6, 1022–1026.
71. Prasad, K.; Stadelbacher, G.J., Effects of acetaldehyde vapor on postharvest decay and market quality of fresh strawberries. *Phytopathology*, **1974**, 64, 948–951
72. Vaughn, S.F.; Spencer, G.F.; Shasha, B.S. Volatile Compounds from Raspberry and Strawberry Fruit Inhibit Postharvest Decay Fungi. *J. Food Sci.* **1993**, 58, 4, 793-796
73. Pesis E. The role of the anaerobic metabolites, acetaldehyde and ethanol, in fruit ripening, enhancement of fruit quality and fruit deterioration. *Postharvest Biol Tec*, **2005**, 37, 1, 1–19.
74. Almenar, E. Hernández-Muñoz, P.; Gavara, R. Evolution of selected volatiles in chitosan-coated strawberries (*Fragaria × ananassa*) during refrigerated storage. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57, 3, 974-980.
75. Sanz, C.; Olias, J.M.; Perez, A.G., Aroma biochemistry of fruits and vegetable. In F. Tomas-Barberan, & R. J. Robins (Eds.), *Phytochem. fruits vegetables*, **1997**, 125–155
76. Volp, A.C.P., Renhe, I.R.T., Barra, K., Stringueta, P.C., Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. *Rev Bras Nutr Clin* ,**2008**; 23, 2, 141- 149.
77. Pineli, L.L.O. Qualidade e potencial antioxidante in vitro de morangos in natura e submetidos. 222 f. *Tese* (Doutorado em Ciências da Saúde)-Universidade de Brasília, 2009.
78. Taffarello, D. Extratos Extratos de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) verlot obtidos por processos biotecnológicos: otimização da extração e avaliação farmacológica. São Paulo, *Dissertação* (Mestrado em Tecnologia em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, 2008.
79. Hassimotto, N.M.A.. Título: Atividade antioxidante de alimentos vegetais. Estrutura e estudo da biodisponibilidade de antocianinas de amoras silvestres (*Morus sp.*). 159p. *Tese/Doutorado* em Ciência de Alimentos Universidade de São Paulo, 2005.
80. Cheel, J.; Theodulo Z.C.; Rodryguez, J.A.; Caligari, P.D.S.; Schmeda-Hirschman, G.. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler, *Food Chem*, **2007**, 102: 36–44.

81. Anttonen, M.J.; Hoppula, K.I.; Nestby, R.; Verheul, M.J.; Karjalainen, R.O. Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading, growing environmental and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria × ananassa*, Duch.) fruits. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 2614-2620.
82. Denev, P.; Ciz, M.; Ambrozova, G.; Lojek, A.; Yanakieva, I.; Kratchanova, M. Solid-phase extraction of berries anthocyanins and evaluation of their antioxidative properties. *Food Chem.*, **2010**, 123, 1055-1061.
83. Häkkinen, S.; Heinonen, M.; Kärenlampi, S.; Mykkänen, H.; Ruuskanen, J.; Törrönen, R. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries, *Food Res. Int.* **1999**, 32, 5, 345–353.
84. Odriozola-Serrano, L.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under superatmospheric oxygen, low oxygen or passive atmospheres. *J. Food Comp. Anal.*, **2010**, 23, 37-43.
85. Pallauf, K.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Castillo, M.D.; Cano, M.P.; Pascual-Teresa, S. Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *J. Food Comp. Anal.*, **2008**, 21, 273.
86. Barros, F.A.R.; Stringheta, P.C. Microencapsulamento de antocianinas: Uma alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimentício. *Biotechnol. Ciênc. Desenvolv.* **2006**, 36, 18.
87. Bordignon Jr., C.L.; Francescato, 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.*, Campinas, **2009**, 29, 1, 183-188.
88. Março, P.H.; Poppi, R.J.; Scarminio, I.S.; Procedures for identifying anthocyanins in natural extracts, *Química Nova (Impresso)*, **2008**, 31, 5, 1218-1223.
89. Chen, H; Zuo, Y; Deng, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, **2001**, 913, 387-395.

90. Kammerer, D.R.; Schillmöller, S.; Maier, O.; Schieber, A.; Carle, R., Colour stability of canned strawberries using black carrot and elderberry juice concentrates as natural colourants. *Eur Food Res Technol*, **2007**, 224, 667-679.
91. Singleton, V.L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology, Pasadena*, **1999**, 299, 152-178.
92. Bordignon Jr, C.L., Análise química de cultivares de morango em diferentes sistemas de cultivo e épocas de colheita. *Dissertação*, Agronomia –Universidade de Passo Fundo, 2008.
93. Bernal, J.; Mendiola, J.A.; Ibañez, E Cifuentes, A., Advanced analysis of nutraceuticals. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2011**, 55, 758-774.
94. Martins-Júnior, H.A.; Lebre, D.T.; Wang, A.Y.; Bustillos, O.V.; Pires, M.A.F. Determinação de resíduos de Cloranfenicol em amostras de leite e mel industrializados utilizando a técnica de espectrometria de massas em “Tandem” (CLAE-EM/EM). *Química Nova*, **2006**, 29, 3, 586-592.
95. Rodrigues, S.A.; Caldas, S.S.; Furlong, E.B.; Primel, E.G. Otimização e validação de método empregando Quechers modificado e LC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em cebola, *Química Nova*, **2011**, 34, 5, 780-786.
96. Mazuqueli, A.C. Estudo de bioequivalencia entre duas formulações contendo 2 mg de acetato de ciproterona e 0,035 mg de etinilestradiol em voluntarias sadias através de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas. Campinas, SP *Dissertação* (Mestrado em Fármacos) – Universidade Estadual de Campinas, 2008
97. Buendía, B.; Gil, M.I.; Tudela, J.A.; Gady, S.L.; Medina, J.J.; Soria, C.; Lopez, J.M.; Tomás-Barberan, F.A., HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 3916-3926.
98. Cerezo, A.B.; Cuevas, E.; Winterhalter, P.; Garcia-Parrilla, M.C.; Troncoso, A.M. Isolation, identification, and antioxidant activity of anthocyanin compounds in Camarosa strawberry. *Food Chem.*, **2010**, 123, 1, 574–582.

99. Bodelón; O.G.; Blanch, M.; Sanchez-Ballesta, M.T.; María I. Escribano, M.I.; Merodio, C. The effects of high CO₂ levels on anthocyanin composition, antioxidant activity and soluble sugar content of strawberries stored at low non-freezing temperature, *Food Chem.*, **2010**, 122, 3, 1, 673–678.
100. Ordidge, M.; García-Macías, P.; Battey, N.H.; Gordon, M.H. , Hadley, P.; John, P.; Lovegrove, J.A.; Vysini, E.; Wagstaffe, A., Phenolic contents of lettuce, strawberry, raspberry, and blueberry crops cultivated under plastic films varying in ultraviolet transparency. *Food Chem.*, **2010**, 119, 1224-1227.
101. Jin, P.; Wang, S.Y.; Wang, C.Y.; Zheng, Y.H. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. *Food Chem.* **2011**, 124, 262–270.
102. Ogawa, K.; Sakakibara, H.; Iwata, R.; Ishii, T.; Sato, T.; Goda, T.; Shimoi, K.; Kumazawa, S. Anthocyanin composition and antioxidant activity of the crowberry (*Empetrum nigrum*) and other berries. *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, 56, 4457-4462.
103. Sultana, B. & Anwar, F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants, *Food Chem.*, **2008**, 108, 879–884.
104. Kajdžanoska, M.; Gjamovski, V.; Stefova, M. HPLC-PDA-ESI-MS Identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia, *Maced. J. Chem. Chem. En.*, **2010**, 29, 2, 181-194.
105. González-Paramás, A.M.; Lopes da Silva, F.; Martín-López, P.; Macz-Pop, G.; González-Manzano, S.; Alcalde-Eon, .C. Flavanol–anthocyanin condensed pigments in plant extracts, *Food Chem.*, **2006**, 94, 3, 428–436.
106. Obón, J.M., Castellar, M.R., Díaz_García, M.C. Red fruit juice quality and authenticity control by HPLC, *J. Food Comp. Anal.* **2011**, 24, 6, 760–771.
107. Tulipani, S.; Mezzetti, B.; Capocasa, F.; Bompadre, S.; Beekwilder, J.; Vos, C.H.R.; Capanoglu, E.; Bovy, A; Battino, M. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *J Agric Food Chem.* **2008**, 56, 3, 696-704.

108. Fazeelat , T.; Afzal, W.; Asif, M; Zamir, M.; Saleem, H. HPLC Analysis of Strawberry Anthocyanins at Partially. Ripe and Ripe Levels. *J. Chem. Soc. Pak.*, **2007**, 29, 5, 492-499.
109. Silva, F.L.; Escribano-Bailón, M.T.; Alonso, J.J.P.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Santos Buelga, C. Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT, Zurich*, **2007**, 40, 2, 374-382.
110. Simirgiotis, M.J.; Theoduloz, C.; Caligari, P.D.S.; Schmeda-Hirschmann, G. Comparison of phenolic composition and antioxidant properties of two native Chilean and one domestic strawberry genotypes, *Food Chem.*, **2009**, 113, 377-385.
111. Seeram, N.P.; Lee, R.; Scheuller, H.S.; Heber, D. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chem.*, **2006**, 97, 1, 1-11.
112. Huber, L.S. & Rodriguez-Amaya, D.B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos, *Alim. Nutri.*, **2008**, 19, 1, 97-108.
113. Oszmiajski, J. & Wojdylo, A., Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices, *Eur Food Res Technol*, **2009**, 228:623.
114. Gheldof, N. & Engeseth, N.J.; Antioxidant Capacity of Honeys from Various Floral Sources Based on the Determination of Oxygen Radical Absorbance Capacity and Inhibition of in Vitro Lipoprotein Oxidation in Human Serum Samples, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 3050.
115. Cantillano, R.F.F.; Bender, J.R.; Luchsinger, L.L., Fisiologia e manejo pós-colheita. In: Morango. Pós-colheita. Brasília: *Embrapa Informação Tecnológica*. p. 14-24. (Frutas do Brasil;42), **2003**.
116. Cantillano, R.F.F.; Castañeda, L.M.F.; Treptow, R.O.; Shunemann, A.P.P., Qualidade físico-química e sensorial de cultivares de morango durante o armazenamento refrigerado, *Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, **2008**, 75, 1-31.
117. Ronque, E.R.V. Cultura do morangueiro: revisão prática. Curitiba: EMATER/PR, **1998**.
118. Santos, A.M. dos. Melhoramento genético do morangueiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, **1999**, 27, 198, 24-29.

119. Malgarim, B.M.; Cantillano, R.F.F.; Coutinho, E.F. Sistemas e condições de colheita e armazenamento na qualidade de morangos cv. Camarosa. *Rev Bras de Frutic.* **2006**, 28: 185-189.
120. Alves, F.G. Análise Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro mantidos sobre a temperatura refrigerada após aplicação pré-colheita de produtos biológicos. Janúba, MG *Dissertação* (Mestrado em Produção de Vegetal) – Universidade Estadual de Montes Claros, 2009.
121. Nunes, M.C.N.; Brecht, J.K.; Morais, A.M.M.B.; Sargent, S. Possible influences of water loss and polyphenol oxidase activity on anthocyanin content and discoloration in fresh ripe strawberry (cv. Oso grande) during storage at 1°C. *J. Food Sci.* **2005**, 70: 79-84.
122. Hernandez-Muñoz, P.; Almenar, E.; Ocio, M.J; Gavara, R. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, **2006**, 39: 247-253.
123. Lima, V.L.A.; Mélo, E.A.; Guerra, N.B.; Correlation Between the Anthocyanin Content and Chromatic Characterization of Acerola Pulp from Fruits of Different Genotypes. *Braz. J. Food Technol.*, **2007**, 10, 1, 51-55.
124. Mitcham, E.J; Crisosto, C.H.; Kader, A.A., Strawberry Recommendations for Maintaining Postharvest Quality Disponível em :<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/strawberry.shtml> Acesso em agosto 2009.
125. Costa, F.B. Fisiologia e conservação de cultivares de morangos inteiros e minimamente processado. 115f. *Tese/Doutorado* em Fisiologia Vegetal - Curso de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, 2009.
126. Nunes, M.C.N.; Brecht, J.K.; Morais, A.M.M.B.; Sargent, S. Controlling Temperature and Water Loss to Maintain Ascorbic Acid Levels in Strawberries During Postharvest Handling, *J. Food Sci.*, **1998**, 63, 1033-1036.
127. Ayala-Zavala , J.F.; Wang, S.Y.; Wang, C.Y.; González-Aguila, G.A. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT*, **2004**, 37, 687-695.

128. Kalt, W.; Forney, C.F.; Martin, A.; Prior, R.L.. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 4638-4644.
129. Cantillano, R. F.; Bender, J. R.; Luchsinger, L. L. 2003 Fisiologia e manejo pós-colheita. In: Cantillano, R.F. Morango. Pós-colheita. Brasília: *Embrapa Informação Tecnológica*. p. 14-24. (Frutas do Brasil; 42).
130. Streck, E.V.; Kämpf, N.; Dalmolin, R.S.D.; Klamt, E.; Nascimento, P.C.; Schneider, P.; Giasson, E.; Pinto, L.F.S. 2008. Solos do Rio Grande do Sul. 2.ed. Porto Alegre, EMATER/RS-ASCAR, 222p.
131. AOAC – Official Methods of Analysis of AOAC International. Horwitz, W. (ed)-17. ed. Maryland: AOAC International. **2000**.
132. Toralles, R.P.;Neujahr, M.C., Ávila, J.M.M., Peralba, M.C.R., Fenóis totais e capacidade antioxidante em cultivar de morango Camarosa: calibração e determinação. II Jornada de Produção Científica da Educação Profissional e Tecnológica da Região Sul 2008, Pelotas/RS *Anais*: CEFET/RS. 2008.
133. Lees, D.H.; Francis, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. *HortSci*, **1972**, 7: 83-84.
134. Ozgen, M.; Reese, R.N.; Tulio Jr., A.Z.; Scheerens, J.C.; Miller, A.R. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, 54, 1151-1157.
135. Cantillano, R.F.F. Estudio del Efecto de las Atmósferas Modificadas durante el Almacenamiento y Comercialización de algunas Frutas y Hortalizas, 275f. *Tese/Doutorado* em Tecnologia de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, UPV, Espanha, 1998.
136. Souza, L.M. Aplicações de espectrometria de massas e da cromatografia líquida na caracterização estrutural de biomoléculas de baixa massa molecular. 182f. *Tese/Doutorado*

em Ciências - Bioquímica - Curso de Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Paraná, 2009.

137. Possoli, S. Técnicas de Análise Multivariada para avaliação das condições de saúde dos municípios do Rio Grande do Sul, Brasil, *Rev. Saúde públ.*, **1984**, 18, 288-300.

138. Neto, J.M.M. Critica Estatística multivariada uma visão didática-metodológica, 2004, 1-13.

139. Souza, A.M.; Marchezan A., Bayer, F.M. Aplicação da Análise de Agrupamento nas lavouras permanentes e lavouras temporárias brasileiras, XIII SIMPEP- Bauru, SP. 2006.

140. Correa P.R.M. & Ferreira M.M.C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para o tratamento de dados analíticos, *Quim. Nova*, **2007**, 30, 481-487.

141. Neto, J.M.M. & Moita, G.C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados, *Química Nova*, **1998**, 21, 4, 467-469.

142. Machado, Y. Prospecção química de Genótipos de Milho com Resistência à *Spodoptera frugiperda*. Universidade Federal de Minas Gerais, *Dissertação*, Mestrado em Química – Química Orgânica, 2010.

143. Vicini, L. Análise multivariada da teoria à prática. Universidade Federal de Santa Maria, *Monografia*, Especialização em Estatística, 2005.

144. Ferrão, M.F.; Sabin, J.G.; Furtado, J.C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos - Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2004**, 40. 3, 387-396.

145. Brereton, R.G., Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant. Ed. John Wiley & Sons. University of Bristol, UK, 2003, 489 p.

146. Dyminsk, D.S. Utilização da língua eletrônica na indústria de alimentos e bebidas. 169f. *Tese/Doutorado* em Tecnologia de Alimentos - Curso de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2006.

147. Statsoft, Inc. (1996). *Statistica for Windows (Computer program manual)*. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14 th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2219, e-mail: info@statsoftinc.com, WEB: [http:// www.statsoftinc.com](http://www.statsoftinc.com).
148. Sallato, B.V.; Torres, R.; Zoffoli, J.P.; Latorre B.A. Effect of boscalid on postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer*. *Spanish J. Agr. Res.*, **2007**, 5, 1, 67-78.
149. Crozier, A.; Burns, J.; Aziz, A.A.; Stewart, A.J.; Rabiasz, H.S.; Jenkins, G.I.; Edwards, C.A.; Lean, M.E.J. Antioxidant flavonols from fruits, vegetables and beverages: measurements and bioavailability. *Biol. Res.*, **2000**, 33: 79-88.
150. Naczka, M.; Shahidi, F.. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatogr. A* **2004**, 1054, 95-111.
151. Winkel-Shirley, B. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiol*, **2001**, 126: 485–493.
152. Holcroft, D.M. & Kader, A.A., Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit, *Postharv. Biol. Technol.* **1999**, 17, 19–32.
153. Wang, S.Y.; Chen, C.; Sciarappa, W.; Wang, C.Y; Camp, M.J. Fruit Quality, Antioxidant Capacity, and Flavonoid Content of Organically and Conventionally Grown Blueberries. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 5788-5794
154. Zheng, Y.; Wang, S.Y.; Wang, C.Y.; Zheng, W. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments, *LWT*, **2007**, 4: 49–57.
155. Chitarra, M.I.F. & Chitarra, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005, 785p
156. Campos, R.P. & Rodovalho, M.A. Coating on 'Camarosa' organic strawberries stored at low temperature. *J. Food Technol.*, **2009**, 12, 1, 60-67.

ANEXOS

SST	pH	ATT	SST/AT T	Vit. C	Firmeza	Perda	Cor	AT	L*	a*	b*	FT	TEAC	podridã o	disturbio	Acetildei do	Etanol	Ac Metila	Ac. Etila	período	Cultivar
6,00	4,10	0,70	8,57	55,02	2,96	0,00	28,58	24,70	30,03	32,05	17,46	1202,53	4,36	0,00	0,00	7,68	33,56	7,29	6,14	0	Camino Real convencional
5,50	4,10	0,70	7,86	57,61	3,79	0,00	32,20	22,64	31,76	33,16	20,88	1194,00	4,69	0,00	0,00	7,73	33,32	7,27	6,12	0	Camino Real convencional
6,20	4,00	0,70	8,86	54,05	3,61	0,00	29,56	25,12	29,80	30,40	17,24	1152,10	4,81	0,00	0,00	7,69	32,67	7,24	6,09	0	Camino Real convencional
5,70	3,50	0,76	7,50	55,66	2,71	0,00	32,76	16,60	35,16	37,04	23,83	1278,57	4,82	0,00	0,00	9,27	47,01	16,13	20,60	0	Camarosa convencional
5,90	3,50	0,80	7,38	53,07	3,02	0,00	32,93	18,23	34,06	33,97	22,00	1276,36	5,01	0,00	0,00	9,29	46,59	15,77	20,61	0	Camarosa convencional
5,50	3,50	0,80	6,88	51,78	3,40	0,00	34,84	18,52	33,99	34,11	23,74	1265,50	4,23	0,00	0,00	9,26	46,73	15,73	20,64	0	Camarosa convencional
4,40	3,40	0,73	6,03	51,13	3,57	0,00	31,38	17,30	32,36	32,58	19,87	1138,77	5,00	0,00	0,00	6,97	28,67	6,67	5,66	0	Camino Real orgânico
4,50	3,40	0,79	5,70	50,49	3,98	0,00	32,21	14,55	33,17	32,73	20,62	1139,55	4,04	0,00	0,00	6,91	28,15	6,63	5,61	0	Camino Real orgânico
4,40	3,50	0,71	6,20	54,37	3,98	0,00	35,81	17,87	35,95	35,46	25,58	1113,68	4,98	0,00	0,00	6,94	27,50	6,57	5,63	0	Camino Real orgânico
4,70	3,40	0,96	4,90	49,19	5,16	0,00	38,90	10,98	38,68	35,73	28,83	1174,31	5,16	0,00	0,00	8,49	59,20	13,37	11,91	0	Camarosa orgânico
4,90	3,40	0,92	5,33	45,31	4,94	0,00	35,83	12,54	34,49	34,97	25,25	1299,73	5,02	0,00	0,00	8,54	58,89	13,43	11,89	0	Camarosa orgânico
4,90	3,40	0,93	5,27	48,54	4,21	0,00	37,10	12,28	35,88	33,63	25,43	1278,53	5,02	0,00	0,00	8,57	59,08	13,50	11,87	0	Camarosa orgânico
5,86	3,61	0,64	9,23	41,10	3,62	2,35	22,49	26,14	28,03	24,25	10,04	1335,76	4,91	0,00	6,25	7,89	18,94	6,75	5,94	2	Camino Real convencional
5,87	3,61	0,66	8,96	40,50	3,44	2,28	21,84	26,33	28,76	25,98	10,41	1332,39	5,00	6,25	31,25	7,93	19,39	6,77	5,96	2	Camino Real convencional
6,06	3,61	0,65	9,25	43,01	3,84	2,32	22,15	25,31	28,45	24,44	9,95	1310,87	4,85	0,00	25,00	7,85	19,33	6,80	5,91	2	Camino Real convencional
5,77	3,61	0,79	7,28	47,46	4,83	2,28	28,95	17,57	32,31	29,86	16,52	1368,81	5,62	12,50	12,50	7,77	11,70	8,69	6,15	2	Camarosa convencional
5,75	3,61	0,82	7,02	46,37	4,59	2,58	29,37	18,73	31,38	28,31	15,93	1381,93	5,57	12,50	12,50	7,72	11,40	8,68	6,14	2	Camarosa convencional
5,66	3,51	0,84	6,74	44,83	5,05	2,49	29,11	18,95	31,71	29,36	16,35	1302,32	5,36	12,50	18,75	7,79	11,58	8,65	6,18	2	Camarosa convencional
4,80	3,52	0,72	6,67	46,90	5,33	4,19	30,55	18,64	33,06	29,52	17,42	1246,21	5,14	0,00	25,00	8,09	23,00	5,94	4,04	2	Camino Real orgânico
4,73	3,42	0,77	6,13	38,44	5,69	3,57	30,91	17,07	33,51	30,51	18,27	1161,33	5,02	0,00	12,50	8,09	22,84	5,99	4,05	2	Camino Real orgânico
4,52	3,62	0,80	5,66	42,61	5,27	4,06	30,66	17,53	33,52	29,12	17,26	1200,81	4,83	0,00	6,25	8,08	22,31	5,92	4,02	2	Camino Real orgânico
5,83	3,51	1,00	5,83	40,26	5,26	2,89	28,70	17,70	32,15	30,05	16,45	1277,20	5,78	0,00	31,25	9,69	17,55	11,19	8,03	2	Camarosa orgânico
5,74	3,51	0,98	5,84	45,03	4,67	2,78	29,41	17,37	30,54	26,97	15,20	1269,31	5,03	12,50	31,25	9,65	17,69	11,23	8,06	2	Camarosa orgânico
5,75	3,41	0,99	5,78	45,09	5,67	2,63	28,94	15,70	31,21	27,82	15,38	1225,68	5,26	18,75	25,00	9,62	17,73	11,29	8,09	2	Camarosa orgânico
5,90	3,81	0,63	9,38	41,00	3,35	3,39	25,49	24,82	30,30	27,69	13,20	1423,27	5,75	5,88	29,41	11,75	34,00	5,74	7,07	5	Camino Real convencional
5,95	3,71	0,76	7,82	41,05	4,04	2,49	27,05	27,06	30,50	27,65	14,12	1443,31	5,04	0,00	6,25	11,80	33,61	5,74	7,15	5	Camino Real convencional
5,97	3,71	0,69	8,59	37,99	3,58	2,23	25,68	26,78	30,41	26,70	12,84	1402,25	5,28	0,00	6,25	11,88	34,04	5,79	7,15	5	Camino Real convencional
6,23	3,91	0,58	10,67	34,68	3,97	2,65	27,75	23,14	31,72	30,37	15,98	1378,67	6,07	17,65	47,06	9,65	20,32	8,18	16,67	5	Camarosa convencional
6,13	3,71	0,72	8,51	40,64	4,49	2,73	21,53	20,00	25,80	24,05	9,49	1366,43	5,46	0,00	52,94	9,59	20,54	8,16	16,65	5	Camarosa convencional
6,25	3,71	0,72	8,65	41,71	4,87	2,41	28,95	23,91	32,95	32,52	17,99	1360,49	5,90	11,76	23,53	9,56	21,01	8,22	16,73	5	Camarosa convencional
4,93	3,81	0,66	7,50	44,78	3,41	3,36	26,87	21,24	31,07	28,92	14,65	1290,60	6,25	6,67	13,33	10,04	22,74	5,08	5,99	5	Camino Real orgânico
5,14	3,71	0,71	7,26	41,08	3,93	3,18	27,71	22,29	30,99	27,89	14,65	1113,80	6,04	0,00	30,00	10,03	23,29	5,07	6,02	5	Camino Real orgânico
5,03	3,71	0,73	6,93	45,12	4,23	3,28	27,81	19,82	31,11	28,23	14,89	1225,06	6,12	0,00	14,29	10,08	22,79	5,10	5,99	5	Camino Real orgânico
6,00	3,61	0,97	6,20	47,63	4,99	3,28	27,67	17,64	32,21	31,62	16,58	1410,01	6,33	5,55	22,22	8,33	14,73	9,48	8,19	5	Camarosa orgânico
5,74	3,61	0,97	5,90	42,54	5,58	2,71	31,06	16,61	33,34	31,56	19,01	1409,48	6,16	6,25	18,75	8,44	14,57	9,50	8,27	5	Camarosa orgânico
5,79	3,62	0,90	6,45	43,39	5,62	3,67	28,27	17,83	32,93	32,87	17,68	1355,72	6,22	0,00	11,76	8,31	14,52	9,45	8,21	5	Camarosa orgânico
6,43	4,44	0,51	12,73	37,77	2,52	8,81	24,79	20,17	26,33	26,44	12,21	1405,04	4,84	0,00	11,76	14,11	46,30	4,46	19,21	8	Camino Real convencional
6,72	4,54	0,47	14,31	34,85	2,70	8,65	25,30	21,48	26,06	24,43	11,55	1399,48	4,76	5,88	0,00	14,18	45,94	4,53	19,32	8	Camino Real convencional
6,40	4,54	0,51	12,50	35,52	3,46	9,34	24,53	21,61	27,05	26,05	11,89	1399,97	5,19	11,76	11,76	14,02	46,05	4,55	19,17	8	Camino Real convencional
5,77	4,34	0,60	9,69	34,66	3,87	9,24	29,84	17,34	30,87	31,71	18,19	1421,35	4,91	12,50	6,25	14,38	42,69	8,18	46,02	8	Camarosa convencional
5,97	4,34	0,57	10,48	33,60	4,04	8,85	28,85	17,20	28,76	29,68	16,35	1396,91	4,93	12,50	6,25	14,47	42,25	8,18	46,21	8	Camarosa convencional
6,07	4,35	0,57	10,63	35,48	3,19	10,38	28,18	16,53	29,36	31,23	16,73	1325,70	4,86	12,50	12,50	14,18	41,42	8,02	45,58	8	Camarosa convencional
5,05	4,45	0,49	10,37	34,13	2,54	10,93	26,58	22,08	26,46	26,10	13,06	1292,99	4,54	6,25	25,00	14,03	48,90	4,92	16,30	8	Camino Real orgânico
4,67	4,45	0,52	8,97	32,83	3,30	11,40	26,26	22,23	26,54	27,36	13,50	1291,52	3,95	43,75	6,25	13,95	48,56	4,94	16,21	8	Camino Real orgânico
5,21	4,45	0,54	9,67	35,19	3,52	11,29	28,42	20,80	28,23	28,74	15,55	1315,33	4,92	17,65	5,88	14,00	48,11	5,00	16,17	8	Camino Real orgânico
4,73	4,15	0,81	5,84	35,33	4,23	9,95	29,39	17,75	28,53	30,25	17,04	1382,94	4,84	6,25	18,75	10,66	35,93	7,09	21,62	8	Camarosa orgânico
5,66	4,24	0,73	7,75	36,31	5,49	9,63	32,19	17,45	32,50	33,04	20,80	1359,80	4,87	17,65	11,76	10,77	35,23	7,08	21,65	8	Camarosa orgânico
4,93	4,14	0,76	6,51	38,41	6,36	9,52	34,21	17,76	32,68	32,37	22,01	1383,95	4,97	12,50	0,00	10,73	35,51	7,11	21,69	8	Camarosa orgânico

Matriz de dados obtidos nas análises levando em conta a perda de água.

Período de armazenamento	Cultivar	Repetição	Cianidina-3-glucosídeo (Cy-3-gluc)	Cultivar	Perlagonidina-3-glucosídeo (Pg-3-gluc)
			conc média (mg/kg)		conc média (mg/kg)
0	Camino Real convencional	1	2,47	CRC	38,37
0	Camino Real convencional	1	2,05	CRC	41,18
0	Camino Real convencional	1	2,41	CRC	38,73
0	Camarosa convencional	2	1,43	CC	20,95
0	Camarosa convencional	2	1,83	CC	29,31
0	Camarosa convencional	2	2,75	CC	48,83
0	Camino Real orgânico	3	2,02	CRO	46,22
0	Camino Real orgânico	3	1,82	CRO	48,17
0	Camino Real orgânico	3	1,91	CRO	42,9
0	Camarosa orgânico	4	1,85	CO	33,83
0	Camarosa orgânico	4	1,43	CO	21,08
0	Camarosa orgânico	4	2,97	CO	35,85
2	Camino Real convencional	1	1,03	CRC	22,42
2	Camino Real convencional	1	1,12	CRC	25,64
2	Camino Real convencional	1	1,48	CRC	28,06
2	Camarosa convencional	2	1,44	CC	20,93
2	Camarosa convencional	2	1,45	CC	19,31
2	Camarosa convencional	2	1,46	CC	23,13
2	Camino Real orgânico	3	0,56	CRO	16,72
2	Camino Real orgânico	3	0,99	CRO	21,55
2	Camino Real orgânico	3	0,52	CRO	14,32
2	Camarosa orgânico	4	0,71	CO	14,19
2	Camarosa orgânico	4	0,76	CO	14,38
2	Camarosa orgânico	4	0,61	CO	13,72

Resultados obtidos na análise das Antocianinas por CLAE-UV.

Período de armazenamento	Cultivar	Repetição	Cianidina-3-glucosídeo (Cy-3-gluc)	Cultivar	Perlagonidina-3-glucosídeo (Pg-3-gluc)
			conc média (mg/kg)		conc média (mg/kg)
5	Camino Real convencional	1	0,84	CRC	14,48
5	Camino Real convencional	1	0,71	CRC	13,63
5	Camino Real convencional	1	0,86	CRC	18,16
5	Camarosa convencional	2	1,09	CC	11,16
5	Camarosa convencional	2	0,79	CC	14,79
5	Camarosa convencional	2	0,74	CC	12,19
5	Camino Real orgânico	3	0,72	CRO	15,29
5	Camino Real orgânico	3	1,75	CRO	28,44
5	Camino Real orgânico	3	1,22	CRO	29,45
5	Camarosa orgânico	4	0,31	CO	7,05
5	Camarosa orgânico	4	0,69	CO	13,18
5	Camarosa orgânico	4	0,4	CO	9,04
8	Camino Real convencional	1	0,52	CRC	12,65
8	Camino Real convencional	1	0,89	CRC	24,14
8	Camino Real convencional	1	0,9	CRC	22,03
8	Camarosa convencional	2	2,85	CC	29,05
8	Camarosa convencional	2	1,17	CC	21,6
8	Camarosa convencional	2	1,43	CC	21,1
8	Camino Real orgânico	3	1,56	CRO	24,14
8	Camino Real orgânico	3	0,64	CRO	14,82
8	Camino Real orgânico	3	1,03	CRO	18,31
8	Camarosa orgânico	4	0,52	CO	13,69
8	Camarosa orgânico	4	0,82	CO	15,51
8	Camarosa orgânico	4	1,27	CO	23,63

Resultados obtidos na análise das Antocianinas por CLAE-UV.

Período de armazenamento	Cultivar	Repetição	Kampferol (285.1 / 117.0)	Cultivar	Ácido elágico (301.1 / 145.0)
			conc média (µg/kg)		conc média (µg/kg)
0	Camino Real convencional	1	2,92	CRC	4,53
0	Camino Real convencional	1	3,81	CRC	3,52
0	Camino Real convencional	1	11,83	CRC	3,49
0	Camarosa convencional	2	3,41	CC	2,85
0	Camarosa convencional	2	3,70	CC	3,30
0	Camarosa convencional	2	5,32	CC	6,10
0	Camino Real orgânico	3	4,76	CRO	3,74
0	Camino Real orgânico	3	2,88	CRO	5,21
0	Camino Real orgânico	3	13,31	CRO	4,18
0	Camarosa orgânico	4	2,64	CO	2,96
0	Camarosa orgânico	4	1,05	CO	2,47
0	Camarosa orgânico	4	1,76	CO	2,26
2	Camino Real convencional	1	2,67	CRC	4,80
2	Camino Real convencional	1	0,00	CRC	0,04
2	Camino Real convencional	1	6,22	CRC	6,91
2	Camarosa convencional	2	4,03	CC	11,42
2	Camarosa convencional	2	6,39	CC	9,04
2	Camarosa convencional	2	4,52	CC	9,32
2	Camino Real orgânico	3	0,00	CRO	0,01
2	Camino Real orgânico	3	2,35	CRO	5,49
2	Camino Real orgânico	3	0,00	CRO	0,07
2	Camarosa orgânico	4	0,00	CO	0,02
2	Camarosa orgânico	4	0,13	CO	0,12
2	Camarosa orgânico	4	4,70	CO	10,56

Resultados obtidos na análise dos Fenólicos por CL-EM/EM.

Período de armazenamento	Cultivar	Repetição	Kampferol (285.1 / 117.0)		Ácido elágico (301.1 / 145.0)	
			conc média (µg/kg)	Cultivar	conc média (µg/kg)	Cultivar
5	Camino Real convencional	1	0,00	CRC	0,08	CRC
5	Camino Real convencional	1	6,73	CRC	12,46	CRC
5	Camino Real convencional	1	3,18	CRC	5,28	CRC
5	Camarosa convencional	2	5,31	CC	13,44	CC
5	Camarosa convencional	2	5,60	CC	16,14	CC
5	Camarosa convencional	2	4,25	CC	8,94	CC
5	Camino Real orgânico	3	0,00	CRO	0,10	CRO
5	Camino Real orgânico	3	6,81	CRO	19,99	CRO
5	Camino Real orgânico	3	7,15	CRO	17,75	CRO
5	Camarosa orgânico	4	3,38	CO	18,59	CO
5	Camarosa orgânico	4	5,57	CO	13,48	CO
5	Camarosa orgânico	4	1,93	CO	6,23	CO
8	Camino Real convencional	1	0,00	CRC	0,01	CRC
8	Camino Real convencional	1	0,00	CRC	0,01	CRC
8	Camino Real convencional	1	15,42	CRC	13,86	CRC
8	Camarosa convencional	2	5,32	CC	8,33	CC
8	Camarosa convencional	2	13,04	CC	18,98	CC
8	Camarosa convencional	2	10,96	CC	16,30	CC
8	Camino Real orgânico	3	0,00	CRO	0,42	CRO
8	Camino Real orgânico	3	6,31	CRO	26,55	CRO
8	Camino Real orgânico	3	10,98	CRO	25,69	CRO
8	Camarosa orgânico	4	11,73	CO	31,39	CO
8	Camarosa orgânico	4	4,80	CO	27,85	CO
8	Camarosa orgânico	4	8,81	CO	29,87	CO

Resultados obtidos na análise dos Fenólicos por CL-EM/EM.

Período de armazenamento	Cultivar	Repetição	Quercetina (301.0 / 179.0)	
			conc média (µg/kg)	Cultivar
0	Camino Real convencional	1	0,01358	CRC
0	Camino Real convencional	1	0,00418	CRC
0	Camino Real convencional	1	0,00586	CRC
0	Camarosa convencional	2	0,01198	CC
0	Camarosa convencional	2	0,01311	CC
0	Camarosa convencional	2	0,02009	CC
0	Camino Real orgânico	3	0,00365	CRO
0	Camino Real orgânico	3	0,00428	CRO
0	Camino Real orgânico	3	0,00548	CRO
0	Camarosa orgânico	4	0,00199	CO
0	Camarosa orgânico	4	0,00171	CO
0	Camarosa orgânico	4	0,00184	CO
2	Camino Real convencional	1	0,00732	CRC
2	Camino Real convencional	1	0,00000	CRC
2	Camino Real convencional	1	0,01865	CRC
2	Camarosa convencional	2	0,01300	CC
2	Camarosa convencional	2	0,01616	CC
2	Camarosa convencional	2	0,01322	CC
2	Camino Real orgânico	3	0,00000	CRO
2	Camino Real orgânico	3	0,00799	CRO
2	Camino Real orgânico	3	0,00000	CRO
2	Camarosa orgânico	4	0,00000	CO
2	Camarosa orgânico	4	0,00012	CO
2	Camarosa orgânico	4	0,01071	CO

Resultados obtidos na análise dos Fenólicos por CL-EM/EM.

Quercetina (301.0 / 179.)

Período de armazenamento	Cultivar	Repetição	conc média (µg/kg)	Cultivar
5	Camino Real convencional	1	0,00001	CRC
5	Camino Real convencional	1	0,01842	CRC
5	Camino Real convencional	1	0,00917	CRC
5	Camarosa convencional	2	0,01564	CC
5	Camarosa convencional	2	0,01599	CC
5	Camarosa convencional	2	0,01216	CC
5	Camino Real orgânico	3	0,00000	CRO
5	Camino Real orgânico	3	0,02104	CRO
5	Camino Real orgânico	3	0,01751	CRO
5	Camarosa orgânico	4	0,01194	CO
5	Camarosa orgânico	4	0,01525	CO
5	Camarosa orgânico	4	0,00532	CO
8	Camino Real convencional	1	0,00005	CRC
8	Camino Real convencional	1	0,00003	CRC
8	Camino Real convencional	1	0,01169	CRC
8	Camarosa convencional	2	0,00570	CC
8	Camarosa convencional	2	0,01775	CC
8	Camarosa convencional	2	0,01330	CC
8	Camino Real orgânico	3	0,00018	CRO
8	Camino Real orgânico	3	0,01654	CRO
8	Camino Real orgânico	3	0,03369	CRO
8	Camarosa orgânico	4	0,02138	CO
8	Camarosa orgânico	4	0,01572	CO
8	Camarosa orgânico	4	0,02198	CO

Resultados obtidos na análise dos Fenólicos por CL-EM/EM.