

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA DE PLANTAS DE JAMBU (*Spilanthes oleracea*),
CULTIVADAS SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CONVENCIONAL**

£

**PROCESSAMENTO MÍNIMO DE NECTARINA (*Prunus persica* var.
nectarina): CONSERVAÇÃO DE SUAS QUALIDADES E
PROPRIEDADES BIOATIVAS**

LUCIANA DA SILVA BORGES

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da Unesp - Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Horticultura)

BOTUCATU-SP

Dezembro – 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE
ANTIFÚGICA DE PLANTAS DE JAMBU (*Spilanthes oleracea*),
CULTIVADAS SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CONVENCIONAL**

£

**PROCESSAMENTO MÍNIMO DE NECTARINA (*Prunus persica* var.
nectarina): CONSERVAÇÃO DE SUAS QUALIDADES E
PROPRIEDADES BIOATIVAS**

LUCIANA DA SILVA BORGES

Orientadora: Profa. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima
Co - Orientadora: Profa. Dra. Romy Goto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da Unesp - Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Horticultura)

BOTUCATU - SP
Dezembro – 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

B732p Borges, Luciana da Silva, 1981-
Potencial antioxidante, óleo essencial e atividade antifúngica de plantas de jambu (*Spilanthes oleracea*), cultivadas sob adubação orgânica e convencional e processamento mínimo de nectarina (*Prunus pérsica* var. *nectarina*): conservação de suas qualidade e propriedades bioativas / Luciana da Silva Borges. - Botucatu : [s.n.], 2012
xvii, 184 f. : il. color., gráfs., tabs., fots., maps.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2012
Orientador: Giuseppina Pace Pereira Lima
Co-orientador: Rummy Goto
Inclui bibliografia

1. Atividade antifúngica. 2. Fenóis. 3. Jambu. 4. Óleos essenciais. 5. Pêssego. I. Lima, Giuseppina Pace Pereira. II. Goto, Rummy. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agronômicas. IV. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE PLANTAS DE JAMBU (*Spilanthes oleracea*), CULTIVADAS SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CONVENCIONAL" E "PROCESSAMENTO MÍNIMO DE NECTARINA (*Prunus persica* var. *nectarina*): CONSERVAÇÃO DE SUAS QUALIDADES E PROPRIEDADES BIOATIVAS"

ALUNA: LUCIANA DA SILVA BORGES

ORIENTADORA: PROFª DRª GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA

CO-ORIENTADORA: PROFª DRª RUMY GOTO

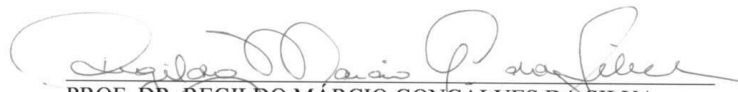
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROFª DRª GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA



PROF. DR. FRANCISCO ARTÉS CALERO



PROF. DR. REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA



PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES



PROF. DR. ARMANDO REIS TAVARES

Data da Realização: 06 de dezembro de 2012.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Luciana da Silva Borges, filha de Valérico Borges e Maria de Fátima da Silva Borges, nasceu em Bélem/PA, em 06 de Maio de 1981.

Em Novembro de 2006 graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal Rural da Amazônia.

Durante os estudos de graduação foi bolsista PIBIC-CNPq.

Em março de 2007 ingressou no curso de mestrado, na área de concentração de Produção Vegetal/Horticultura, da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu/UNESP.

Em março de 2009 ingressou no curso de doutorado, na área de concentração de Produção Vegetal/Horticultura, da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu/UNESP.

Em junho de 2011 ingressou no curso de doutorado Técnicas Avanzadas en Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (TAIDAA), como aluna de sanduiche-PDEE, na Universidad Politécnica de Cartagena, Murcia, Espanha.

Em Fevereiro de 2012, realizou estágio na Università Degli Studi di Padova-Itália

Durante os estudos de pós-graduação foi bolsista CAPES e bolsista PDEE (processo-nº 0081-11-6).

DEDICO

*À minha família, meus pais (**Valérico Borges e Maria de Fátima da Silva Borges**), duas incríveis e admiráveis pessoas que com pouco estudo, mas com muita sabedoria, souberam me conduzir, respeitar e me fortalecer durante toda minha vida, e principalmente nessa fase de pós-graduação, onde tive que ficar longe deles, e eles no mais puro dos sentimentos me apoiaram e me fortaleceram em cada momento em que passei longe, e também aos meus irmãos (**Laelma, Laelton, Laélia e Elielza Da Silva Borges**), sobrinhos (**Leonardo, Emerson, Vinicius, Tifani, Matheus e Vanessa Borges**) e cunhados (**Toniel e Josiel Marques**), que mesmo longe me apoiaram, e contribuíram para realização dessa conquista em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço

À SANTÍSSIMA TRINDADE pela vida, pelas pessoas colocadas em meu caminho e pela força para que continuasse e concluísse essa fase. Agradeço a DEUS por todos os momentos maravilhosos que tenho tido em minha vida. Por todos os momentos felizes e porque não os tristes? Muitas coisas aprendi com eles, muitos valores guardei e muitas vitórias conquistei. Valeram a pena os dias de angústia, de cansaço, de tédio e exaustão. Valeram a pena todos os passos pelo caminho traçado. Cada momento vivido nessa louca correria em busca de um objetivo. Por isso Agradeço a DEUS.

À Faculdade de Ciências Agronômicas/ UNESP, Campus de Botucatu pela formação e oportunidade de concretizar o curso de doutorado em Agronomia/Horticultura.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado e doutorado sanduiche-PDEE.

À Profa. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima, pela amizade, pela orientação, atenção e indicação dos caminhos a seguir. Uma pessoa admirável na sua forma ser. Com uma personalidade rara, e porque não dizer iluminada por Deus, o que justifica sua diferença dos demais. Você é grande e nobre. Tudo o que fazemos pensando em ajudar ao próximo, pela própria lei da natureza, nos é devolvido em dobro. Que o Universo te cubra de bênçãos e seja sempre muito feliz. Obrigado por sua atenção e pelo carinho dedicado.

À Profa. Dra. Romy Goto, pela sua incalculável sabedoria, que me orientou de como conduzir o trabalho no campo, sua atenção e preocupação com o desenvolvimento do experimento. Pela amizade, por tantas vezes me ouvir em sua sala, e foram tantas às vezes. Você é feliz, pois na tua matemática de vida, dividir é sempre a melhor solução. Obrigada pelo apoio ao doutorado sanduiche. É por isto que você merece meus agradecimentos hoje e sempre, por aquilo que você é e por aquilo que você faz.

Ào Prof. Dr. Francisco Àrtes da Universidad Politécnica de Cartagena, que me recebeu de braços abertos no seu grupo de investigação, pelos ensinamentos e atenção.

A Univesidad Politécnica de Cartagena y ao Grupo de Pós - colheita e Refrigeração (prof. Dr. Francisco Àrtes Hernández, profa. Dra. Encarnita Aguayo e Prof. Dra.Perla Gomes).

A profa. Dra. Rosangela Assis JacquesUniversidade Federal do Rio Grande do Sul, pela análise no óleo essencial das plantas de jambu. E a colaboração de sua aluna Caroline Saucier, na quantificação do óleo essencial.

Aos professores do curso de Pós-graduação da Faculdade de Ciências Agronômicas, que transmitiram com muita competência e dedicação seus conhecimentos, contribuindo assim para o meu aprimoramento profissional.

Às amigas Amaralina Celoto Guerrero e Janaína Celoto Guerrero, pela amizade e auxílio, tanto nas questões profissionais, e principalmente nas pessoais. O amigo é aquele que a gente pode viver tudo perto dele. Os momentos de alegria, festa, curtidão. Mas também os de dor, angústia, sofrimento, os quais também passei aqui durante a pós-graduação. Pois, amizade é encontro. Encontro que Deus mesmo realiza.

Ao amigo Raimundo Gomes da Rosa (DICO), que muito me ajudou a entender a planta do jambu. Desde 2004 quando comecei a trabalhar com pesquisa na área de olericultura. Pela amizade e atenção todos esses anos.

Aos funcionários da Fazenda São Manuel, que muito contribuíram para o desenvolvimento desse projeto com Jambu.

Aos funcinários do Departamento de Produção Vegetal (Horticultura).

As amigas Kelly Nunes (amizade que começou com um estágio na horta da Ufra (2004) e que se estende até hoje e que continue por muitos e muitos anos), a amiga Elaine Guedes (amizade da turma B - UFRA), Ana Emilia Tavares e Bárbara Rodrigues, amizade que começou na ufra, e que a vida fez, que com termino da graduação na Ufra

(Belém), nós nos encontrarmos em um mesmo local, Botucatu (São Paulo). Porque todos nos que saímos de Belém tínhamos um denominador em comum, que é a busca de mais, é mais conhecimento, embora cada uma em seu momento. “Se paramos no caminho por algum motivo de desânimo, lembremos que a vida é uma constante renovação de oportunidades de seguir para frente e para o alto!”

Aos amigos Manoel Euzebio, Fátima Checheto que juntos caminhamos para o doutorado sanduiche PDEE, na Espanha.

Las amigas Kátia Jodan y Stefane, una amiga Boliviana y una Colombiana compañera de Piso en que compartillé y mis compañeros de la Universidad Politecnica de Cartagena, Libia Chaparro (Colombia), Monia Jemni (Tunnes), Juan Gabriel Ramírez Guillén (Cuesta Rica), Sofía Fallas Barquero (Cuesta Rica), Carolina Formica (Portugal) y martha Patricya (Colombia) caundo mi quedé por un año en Cartagena, Murcia (España), durante mi doctorado sanduiwk.

As amigas Marizete Cavalcante, Débora Prado e Josiane Pereira, pela ajuda nas análises bioquímicas das plantas de jambu.

E para todos digo que: E há mais vantagens na amizade: é uma das poucas coisas que não custam nada, mas valem muito, embora não sejam vendáveis! Entretanto, é preciso que se cuide um pouco das amizades. As mais recentes, por exemplo, precisam de alguns cuidados. Poucos, é verdade, mas indispensáveis. É preciso mantê-los com certo calor, cuidar, falar com eles. Com o tempo eles crescem, ficam fortes e suportam alguns trancos. Os mais antigos, já sólidos, não exigem muito não! São como as mudas de plantas que, depois de enraizadas, parecem viver sem cuidados, porém não podem jamais ser esquecidas. Algo é preciso para mantê-las vivas. Prezo suas amizades e reservo sempre um canto no meu peito para elas. E sempre que surgir ocasião, não perco a oportunidade de dar um amigo a um amigo, da mesma forma que eu ganhei. E não adiantam as despedidas. De um amigo ninguém se livra fácil.

Sumário

<i>ILISTA DE TABELAS</i>	<i>XII</i>
<i>LISTA DE FIGURA</i>	<i>XIV</i>
<i>RESUMO</i>	<i>1</i>
<i>SUMMARY</i>	<i>3</i>
<i>1 INTRODUÇÃO</i>	<i>5</i>
<i>1.1 Objetivo geral</i>	<i>8</i>
<i>1.2 Objetivo específico:</i>	<i>8</i>
<i>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</i>	<i>10</i>
<i>2.1 Jambu</i>	<i>10</i>
<i>2.2 Cultivo orgânico</i>	<i>15</i>
<i>2.3 Adubação convencional</i>	<i>17</i>
<i>2.4 Antioxidantes</i>	<i>19</i>
<i>2.5 Compostos fenólicos</i>	<i>20</i>
<i>2.6 Enzima POD</i>	<i>26</i>
<i>2.7 Nitrato</i>	<i>27</i>
<i>2.8 Atividade Anti-microbiana</i>	<i>28</i>
<i>2.9 Nectarina</i>	<i>31</i>
<i>2.10 Processamento mínimo</i>	<i>31</i>
<i>CAPITULO I</i>	<i>34</i>
<i>ÍNDICES MORFO-FISIOLÓGICOS E PRODUTIVIDADE ECONÔMICA DE CULTIVARES DE JAMBU INFLUENCIADA PELA ADUBAÇÃO ORGÂNICA E MINERAL</i>	<i>35</i>
<i>3.1 RESUMO</i>	<i>35</i>

3.2 ABSTRACT	36
3.3 INTRODUÇÃO.....	37
3.4 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.4.1 Altura de planta (cm):	41
3.4.2 Área foliar (cm ²):	41
3.4.3 Massa de matéria fresca (g):.....	41
3.4.4 Massa seca (g):.....	42
3.4.5 Índice de área foliar (IAF):	42
3.4.6 Razão de Área Foliar (RAF):	42
3.4.7 Área Foliar Específica (AFE):	42
3.4.8 Razão de Peso das Folhas (RPF):.....	42
3.4.9 Quantidade de água na parte aérea (QAPA) (g por conjunto de plantas):	42
3.4.10 Peso específico foliar (PEF) (g cm ⁻² por conjunto de plantas):.....	42
3.4.11 Produtividade Econômica:	43
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
3.6 CONCLUSÃO.....	50
3.7 AGRADECIMENTOS	50
3.8 REFERÊNCIA	51
CAPITULO II	54
COMPOSTOS FENÓLICOS, POLIAMINAS E ATIVIDADE DA PEROXIDASE EM DUAS CULTIVARES DE JAMBU (<i>SPILANTHES OLERACEA</i>), CULTIVADAS SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CONVENCIONAL	55
4.1 RESUMO	55
4.2 SUMMARY:	55
4.3 INTRODUÇÃO.....	56

4.4 MATERIAL E MÉTODOS	58
4.4.1 Obtenção da planta	58
4.4.2 Cultivo do jambu	59
4.4.3 Teor de Vitamina C	59
4.4.4 Fenóis totais	60
4.4.5 Flavonóides Totais	60
4.4.6 Carotenóides.....	60
4.4.7 Atividade antioxidante (:DPPH)	61
4.4.8 Teores de Poliaminas	61
4.4.9 Nitrato.....	62
4.4.10 Nitrogênio total	62
4.4.11 Atividade da peroxidase (POD)	62
4.5 RESULTADO E DISCUSSÃO	62
4.6 CONCLUSÃO.....	69
4.7 AGRADECIMENTOS	70
4.8 REFERENCIAS	70
CAPITULO III	77
COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE JAMBU (CV. JAMBUARANA E NAZARÉ) ORGÂNICO E CONVENCIONAL E SEU POTENCIAL ANTIFÚNGICO.	78
5.1 RESUMO	78
5.2 ABSTRACT.....	78
5.3 INTRODUÇÃO	79
5.4 MATERIAL E MÉTODOS	80
5.4.1 Obtenção da planta.....	80

5.4.2 Cultivo do jambu.....	80
5.4.3 Extração do óleo essencial	81
5.4.4 A separação e a quantificação: Análise cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).....	81
5.4.5 Identificação das substâncias:	81
5.4.6 Atividade antimicrobiana in vitro.....	82
5.4.7 Obtenção de isolados do patógeno	82
5.5.2 Potencial antifúngico.....	88
5.3 CONCLUSÃO	90
5.4 AGRADECIMENTOS	90
5.5 REFERÊNCIA	91
CAPITULO IV	94
UV-C RADIATION AND HIGH OXYGEN LEVELS FOR KEEPING OVERALL QUALITY OF FRESH-CUT NECTARINE	95
6.1 ABSTRACT	95
6.2 INTRODUCTION	96
6.3 MATERIALS AND METHODS.....	98
6.3.1 Plant material	98
Table 1: Initial characterization of the whole nectarine fruit.....	98
6.3.2 UV-C radiation.....	98
6.3.3 MAP treatments	99
6.3.4 Firmness, soluble solids content (SS), titratable acidity (TA) and pH determinations. ...	99
6.3.5 Atmosphere changes.....	100
6.3.7 Color.....	100
6.3.8 Microbial analyses	100

6.3.9 Sensory analysis	101
6.3.10 Statistical analysis	101
6.4 RESULTS AND DISCUSSION	102
6.4.1 Gas composition	102
6.4.2 Firmness, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA) and pH determinations.	104
6.4.3 Color	106
6.4.4 Sensory analysis	108
6.4.5 Microbial analyses	110
6.5 CONCLUSIONS	113
6.6 ACKNOWLEDGEMENTS	113
6.7 REFERENCES	113
CAPITULO V	117
COMPARISON OF DPPH AND FRAP ASSAYS FOR ESTIMATING ANTIOXIDANT ACTIVITY AND SEPARATION OF ORGANIC ACIDS AND PHENOLIC COMPOUNDS BY LIQUID CHROMATOGRAPHY IN FRESH-CUT NECTARINE	118
7.1 ABSTRACT	118
7.2 INTRODUCTION	119
7.3 MATERIALS AND METHODS	121
7.3.1 Plant materials	121
7.3.2 Treatments	122
7.3.2 Extractions	122
7.3.3 Antioxidant activity determinations to DPPH	122
7.3.4 Antioxidant activity determinations to FRAP	122
7.3.5 Determinations of total phenols	123

7.3.6 Extraction of Phenolic Compounds	123
7.3.7 HPLC-DAD Analyses.	123
7.3.8 Identification and Quantification of Phenolic Compounds.	124
7.3.9 Statistical analysis	125
7.4 RESULTS AND DISCUSSION	125
7.5 CONCLUSION	133
7.6 ACKNOWLEDGEMENTS.....	133
7.7 REFERENCES.....	133
8 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	136
9 CONCLUSÕES GERAIS	137
10 REFERÊNCIAS	137
ANEXOS	164
Apêndices.....	173

LISTA DE TABELAS

Tabelas	Página
CAPITULO I.....	34
Tabela 1: Análise do solo antes do início do experimento.....	40
Tabela 2: Características do composto orgânico (esterco bovino) utilizado no experimento. São Manuel - SP. 2010.....	41
Tabela 3: Comparação de biomassa e produtividade econômica, entre cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.	43
Tabela 4: Índices morfo-fisiológicos de crescimento em cultivares de jambu sob adubação orgânica e mineral.	46
CAPITULO II	54
Tabela 1: Atividade antioxidante (TEAC mg/ g ⁻¹), fenóis (mg 100 g ⁻¹), flavonóides (mg 100 g ⁻¹), carotenóides (mg 100 g ⁻¹), vitamina C (mg 100 g ⁻¹), nitrato (mg/L ⁻¹) e nitrogênio (%) em folhas de duas cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.	63
Tabela 2: Atividade antioxidante (TEAC mg/ g ⁻¹), fenóis (mg 100 g ⁻¹), flavonóides (mg 100 g ⁻¹), carotenóides (mg 100 g ⁻¹), vitamina C (mg 100 g ⁻¹), nitrato (mg/L ⁻¹) e nitrogênio (%) em inflorescência de duas cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.....	64
Tabela 3: Teor de poliaminas entre cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.	67
CAPITULO III	77
Tabela 1: Composição química de óleo essencial de <i>Spilanthes oleraceae</i>	83
CAPITULO IV	94
Table 1: Initial characterization of the whole nectarine fruit	98
Table 2: Changes in pH, soluble solids content and firmness in fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C.	105
Table 3: Variation in the luminosity, chrome, and hue angle in fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C.	107

CAPITULO V	117
Table 1: Initial characterization of whole nectarine fruit	121

LISTA DE FIGURA

Figura	Página
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
Figura 2: Mapa da distribuição geográfica da Espécie <i>Spilanthes oleracea</i> no Brasil.....	11
Figura 5: Estrutura Química do Espilantol	13
Figura 7: Estruturas química e classificação de alguns compostos fenólicos	22
Figura 8: Resumo do metabolismo das PAs. PAs são controlada por catabolismo, síntese e absorção.	26
CAPITULO I	34
Figura 3: Dados Climatológicos: Temperatura (°C), Umidade Relativa (%), Precipitação Pluvial (mm), Radiação Solar (cal/cm ²), EvapTCIA (mm) e Velocidade de Vento 2 (Km/dia) da área experimental de agosto a dezembro de 2010.	49
CAPITULO II.....	54
Figura 1: Atividade enzimática da POD em folhas (A) e inflorescências (B) de duas cultivares de Jambu, sob adubação orânica e mineral.....	69
CAPITULO III	77
Figura 6: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu convencional, cv. Jambuarana.	84
Figura 7: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu orgânico, cv. Jambuarana.	85
Figura 8: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu convencional, cv. Nazaré.	86
Figura 9: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu orgânico, cv. Nazaré.	87
Figura 10: Atividade antifúngica do óleo essencial de jambu, cv. Jambuarana e cv. Nazaré, produzida em adubação orgânica e convencional.	90
CAPITULO IV	94

Figure 1: O ₂ and CO ₂ changes within packages of several treatments of fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C.	103
Figure 2: Results of sensory analysis in fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C...109	
Figure 3: Results of the microbiological analysis of fresh-cut nectarines under different treatments and stored up to 10 days at 5 °C.	111
Figure 4: Results of the microbiological analysis of fresh-cut nectarines under different treatments and stored up to 10 days at 5 °C.	112
CAPITULO V	117
Figura 1: Structure of some phenolic compounds.....	125
Figure1: Antioxidant activities of determined by the FRAP in nectarine minimally processed storage at 5°C.....	126
Figure 2: Antioxidant activities of determined by the DPPH in nectarine minimally processed storage at 5°C.....	127
Figure 3: total phenolics contents in nectarine minimally processed storage after 10 days at 5°C.....	128
Figure 5: HPLC chromatograms of cv. R48 extracts	130
Figure 6: HPLC chromatograms of cv. R48 extracts	131
Figure 7: HPLC chromatograms of cv. R48 extracts	132
ANEXOS.....	164
Revisão Bibliografica:.....	165
Figura 1: Comidas típicas da Amazônia: Jambu cozido, Tacacá, Pizza de jambu, Vatapá, Arroz com jambu e Pato no tucupí.....	165
Figura 3: Inflorescência de jambu em diferentes estágios de desenvolvimento.....	166
Figura 4: Folhas de jambu.	167
Figura 6: <i>Thecaphora spilanthes</i> , conhecida como carvão do jambu.....	167
Capitulo I	168

Figura 1: Túnel em estrutura metálica, com 60 m de comprimentos, Fazenda Experimental São Manuel (São Manuel-SP), UNESP, campus de Botucatu.....	168
Figura 2: Túnel em estrutura metálica, com 60 m de comprimentos, Fazenda Experimental São Manuel (São Manuel-SP), UNESP, campus de Botucatu.....	168
Figura 4: Inflorescência de jambu, cv. Jambuarana.....	169
Figura 5: Inflorescência de Jambu, cv. Nazaré.....	169
Figura 6: Mudas de Jmabu, cultivas sob adubação orgânica e mineral.....	170
Figura 7: Mudas de Jambu, cv. Jambuarana e cv. Nazaré.....	170
Capítulo III.....	171
Figura 1: Extração do óleo essencial de jambu por hidro-destilação em aparelho de Clevenger, ...	171
Figura 2: Óleo essencial de Jambu..	171
Figura 3: Identificação das substâncias do óleo essencial de jambu em CG/MS.	172
Figura 4: Preparação das placas de Petri contendo ágar Müller-Hinton para inoculação com fungo <i>Aspergillus gilis</i>	172
Apêndices.....	173
Capítulo I	174
Figura1: Dados de temperatura máxima, mínima e media durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010	174
Figura2: Dados de precipitação pluvial (mm) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010	175
Figura 3: Dados umidade relativa (%) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.	176
Figura 4: Dados de radiação solar (cal/cm ²) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010	177
Figura 5: Dados de insolação em horas durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010	178

Figura 6: Dados de velocidade do vento (Km/dia) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010 ...	179
Figura 7: Dados de evapTCIA (mm) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010	180
Capítulo IV	181
Figura 1: Fase inicial do experimento -UPCT. Cartagena-Murcia, Espanha.	181
Figura 2: Processamento mínimo das nectarinas. Cartagena-Murcia, Espanha.	182
Figura 3: Aplicação dos tratamentos UV-C. Cartagena-Murcia, Espanha.	182
Capítulo V:.....	183
Figura 1: Preparação das amostras de nectarinas minimamente processada, para análise em HPLC.....	183
Figura 2: Preparação das amostras para quantificação dos polifenóis em HPLC.....	183
Figura 3: Preparação das móveis para usar na quantificação dos polifenóis em HPLC...	184
Figura 4: Aplicação das amostras para quantificação dos polifenóis em HPLC.	184

POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ÓLEO ESSENCIAL E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE PLANTAS DE JAMBU (*Spilanthes oleracea*), CULTIVADAS SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CONVENCIONAL E PROCESSAMENTO MÍNIMO DE NECTARINA (*Prunus persica* var. *nectarina*): CONSERVAÇÃO DE SUAS QUALIDADES E PROPRIEDADES BIOATIVAS. Botucatu, 2012. 205p.

Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

Autor: LUCIANA DA SILVA BORGES

Orientadora: GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA

Co- Orientadora: RUMY GOTO

RESUMO

O jambu (*Spilanthes oleracea*) é uma planta nativa do Brasil, com propriedades químicas importantes. No Estado de São Paulo, a produção de jambu está direcionada para extração do óleo essencial que está sendo fornecido direto para as indústrias de cosméticos, pela sua qualidade farmacológica. No entanto, pesquisas sobre as propriedades antioxidantes dos extratos aquosos e a ação antifúngica do seu óleo essencial são ainda incipientes. Assim, o objetivo geral do primeiro ao terceiro capítulo foram comparar cultivares de jambu produzidos de forma orgânica e convencional, quanto ao desenvolvimento fenológico das plantas (folha e inflorescência), através dos índices morfo-fisiológicos de crescimento, além das substâncias antioxidantes presentes nos extratos aquosos, teores e composição do óleo essencial, bem como sua ação antifúngica. Nos quarto e quinto capítulos, o objetivo foi o uso de radiação UV-C e aplicação de O₂ ($\cong$ 90-100 Kpa) como tratamento capaz de melhorar o potencial de conservação após o processamento mínimo. As características avaliadas no primeiro capítulo foram: Altura de planta, Área foliar, Massa de matéria fresca, Massa de matéria seca, Índice de área foliar (IAF), Razão de Área Foliar (RAF), Área Foliar Específica (AFE), Razão de Peso das Folhas (RPF), Quantidade de água na parte aérea (QAPA), Peso específico foliar (PEF) e Produtividade econômica. No segundo capítulo, avaliou-se: teor de compostos fenólicos, carotenóides, vitamina C e poliaminas, e a atividade da peroxidase, potencial antioxidante, nitrato e nitrogênio; enquanto que, no terceiro capítulo foi extraído e quantificadas as substâncias presentes no óleo essencial e verificou-se sua ação antifúngica. No

quarto capítulo foram avaliados parâmetros físico-químicos e químicos, tais como pH, acidez titulável (AT), teor de sólidos solúveis totais (SST), firmeza, cor, níveis de CO₂ e O₂, qualidade sensorial e contagens microbianas, e no quinto capítulo, foram determinados o potencial antioxidante (DPPH e FRAP) e compostos fenólicos totais, além da qualificação dos ácidos orgânicos, compostos fenólicos e carotenóides (HPLC) em nectarina minimamente processada. Os resultados foram analisados através análise de variância, usando teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. Para os capítulos 1, 2 e 3, conclui-se que a cv. Jamburana apresenta bom desenvolvimento fitotécnico e produtividade econômica na adubação orgânica e melhores índices morfo-fisiológicos, demonstrando que essa adubação aumenta a eficiência agrônômica dessa cultivar. Na diferenciação entre modo de cultivo e entre cultivares de jambu, o cultivo orgânico induziu maiores teores de fenóis totais em folhas e carotenóides, espermidina e espermina em folhas e inflorescências nas duas cultivares analisadas. Não há tendência nítida do cultivo orgânico induzir maiores teores de flavonóides. O óleo de *Spilanthes oleracea* mostra diferenças entre as cultivares e entre os órgãos estudados, em função de sua fenologia. O maior potencial antifúngico observado foi obtido de inflorescências da cv. Nazaré orgânica. Esta espécie é promissora produtora de óleos essenciais de alto valor agregado. E nos capítulos 4 e 5, concluiu-se que a radiação UV-C na dose adequada, sozinha ou combinada com alta concentração de O₂, reduz as cargas microbianas sem prejudicar a SS, AT, pH e a qualidade sensorial de nectarina 'R48' minimamente processada. A análise por HPLC identificou 22 compostos fenólicos em nectarina minimamente processada, relacionados à sua atividade antioxidante e suas propriedades promotoras de saúde.

Palavras chave: *Spilanthes oleracea*, *Prunus persica*, compostos fenólicos, óleo essencial e atividade antifúngica.

ANTIOXIDANT ACTIVITY, ESSENTIAL OIL AND MICROBIOLOGICAL ATIVIDAD IN JAMBU PLANTS (*Spilanthes oleracea*) UNDER MINERAL AND ORGANIC FERTILIZATION AND FRESH-CUT NECTARINE (*Prunus persica* var. *Nectarine*): CONSERVATION OF THEIR PROPERTIES AND QUALITIES BIOACTIVE. Botucatu, 2012. 205p.

Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: LUCIANA DA SILVA BORGES

Adviser: GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA

Second adviser: RUMY GOTO

SUMMARY

The jambu (*Spilanthes oleracea*) is a native plant of Brazil, with important chemical properties. In São Paulo, the production is directed jambu for extraction of essential oil being supplied direct to the cosmetic, pharmaceutical for its quality. However, research on its antioxidant properties of aqueous extracts and antifungal effect of the essential oil are still incipient. Thus, the overall goal of the first-third chapter were jambu compare cultivars produced under organic and conventional, as the phenological development of plants (leaf and inflorescence), through morphological and physiological indices of growth, in addition to the antioxidants present in extracts aqueous beyond the content and composition of essential oil as well as its antifungal action. In the fourth and fifth chapters, the goal was the use of UV-C radiation and application of O₂ ($\cong$ 90-100 kPa) as a treatment able to improve the conservation value after processing. The characteristics were evaluated in the first chapter: plant height, leaf area, the fresh mass, dry mass, leaf area index (LAI), Leaf Area Ratio (LAR), specific leaf area (SLA), Reason Weight of Leaves (RPF), Amount of water in the shoot (QAPA) , specific leaf weight (PEF) and economic productivity. In the second chapter, we evaluated: content of phenolic compounds, carotenoids, vitamin C and polyamines, and peroxidase activity, antioxidant potential, and nitrate nitrogen, whereas, in the third chapter was extracted and quantified substances present in the essential oil and verificou up its antifungal action. In the

fourth chapter were evaluated physico-chemical and chemical products, such as pH, titratable acidity (TA), total soluble solids (TSS), firmness, color, levels of CO₂ and O₂, sensory quality and microbial counts, and in the fifth chapter, we determined the antioxidant potential (DPPH and FRAP) and total phenolic compounds, in addition to the qualification of organic acids, phenolics and carotenoids (HPLC). The results were analyzed by analysis of variance using the F test and means were compared by Tukey test at 1% probability. For chapters 1, 2 and 3, we conclude that the cv. Jamburana fitotécnico has good development and economic productivity in organic fertilization and better morpho-physiological indices, showing that fertilization increases the agronomic efficiency of this cultivar. In differentiating between cultivation methods and jambu between cultivars, organic farming induced higher levels of total phenolics and carotenoids in leaves, spermidine and spermine in leaves and flowers of both cultivars analyzed. There is a clear trend of organic farming induce higher levels of flavonoids. The oil *Spilanthus oleracea* shows differences among cultivars and among the organs studied, due to its phenology. The highest antifungal potential of inflorescences observed was obtained from cv. Nazareth organic. This species is promising producer of essential oils with high added value. And in Chapters 4 and 5, it was found that the UV-C radiation in the appropriate dosage, alone or combined with high O₂ concentration, reduce microbial loads without damaging the SS, AT, pH and sensory quality nectarine 'R48' minimally processed. HPLC analysis identified 22 phenolic compounds in nectarines minimally processed, related to its antioxidant activity and its health-promoting properties

Keywords: *Spilanthus oleracea*, *Prunus persica*, phenolic compounds, essential oils and anti-microbial activity.

1 INTRODUÇÃO

O jambu (*Spilanthes oleracea*), pertence à família Asteraceae e é nativa da Amazônia, de clima tropical. Essa planta é uma hortaliça bastante cultivada e consumida na região Norte do Brasil, principalmente no Pará, sendo sua maior demanda nos períodos festivos, tais como o Círio de Nazaré e as festas de fim de ano. Popularmente essa planta também é utilizada como erva medicinal, pois segundo os dizeres populares suas folhas e flores podem ser recomendadas para elaboração de infusões no tratamento de anemia, dor de dente e garganta, sendo sugerido como antibiótico e anestésico. Apesar dessas informações, a hortaliça continua invisível nas estatísticas de produção e de mercado no Pará.

No Estado de São Paulo, com uma produtividade de $3,37 \text{ kg m}^{-2}$ Borges et al., (2012a), tem sua produção de jambu direcionada para extração do óleo essencial, pois segundo Lorenzi e Matos (2002) o jambu possui em torno de 0,7 % de óleo essencial, que está sendo fornecido direto para as indústrias de cosméticos, pela sua qualidade farmacológica.

Esse efeito farmacológico se deve às suas substâncias químicas, dentre as quais o trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno e espatulenol e espilantol (BORGES et al., 2012b). O estudo do espilantol tem se intensificado nos últimos anos, devido ao efeito

antiinflamatório, sugerindo a utilização dessa substância para desenvolvimento de medicamentos (LI-CHEN et al., 2008)

Pelas suas propriedades químicas, o jambu vem despertando o interesse das empresas farmacêuticas e de cosméticos que utilizam as plantas como matéria prima para seus produtos, e têm optado por plantas cultivadas de forma orgânica, uma vez que provavelmente, estarão isentos dos resíduos químicos dos defensivos. Muitos restaurantes de comida exóticas também utilizam a inflorescência de jambu para compor seus pratos diferenciados na gastronomia.

Cada vez mais, vem aumentando o interesse pela utilização de extratos vegetais e óleos essenciais para o controle de pragas e dentre os fatores que contribuem para isso, está a preocupação da população em consumir produtos isentos de resíduos de agrotóxicos, e é claro a preocupação com a preservação ao meio ambiente e também com a qualidade de vida dos agricultores que são diretamente responsáveis pela produção. Mas, para isso, é importante que as pesquisas avancem com o intuito de mostrar a eficiência dos extratos vegetais e óleo essencial no controle de patógenos.

Estudos sobre o potencial das espécies de vegetais, visando obter óleos essenciais para uso na agricultura como inseticidas naturais, vêm crescendo. Esses óleos podem ser utilizados como método de controle eficaz, com redução dos custos, preservação do ambiente e dos alimentos da contaminação química, tornando-se prática adequada à agricultura sustentável (KÉITA et al., 2001). Para Oliver-Bever (1983), propriedades inseticidas têm sido evidenciadas e atribuídas ao espilantol. Segundo Rani e Murty (2006), o jambu também possui atividade tóxica contra fungos patogênicos no ser humano como *Aspergillus flavus* e *A. paraciticus* e na agricultura contra *Fusarium oxysporium* e *F. moniliformis*.

O cultivo de plantas medicinais pressupõe a eliminação total de insumos químicos, considerando a utilização do produto final diretamente na saúde humana. Em vista disto, pesquisas agronômicas vêm sendo conduzidas com o intuito de investigar a influência da adubação química e orgânica sobre a biomassa e o rendimento de metabólitos secundários de diferentes espécies medicinais. Os resultados obtidos até o momento têm

mostrado que a produção tanto de biomassa quanto de metabólitos secundários varia em função da espécie e dos adubos utilizados (COSTA et al., 2008).

O consumo de produtos livres de agrotóxicos - de alimentos a cosméticos - se transformou num negócio que cresce 20% ao ano e atrai empresas grandes. O Brasil já é o segundo país com maior área desse tipo de manejo, atrás apenas da Austrália. Muitos consumidores acabam preferindo os orgânicos para compensar a falta de fiscalização no uso de pesticidas e fertilizantes químicos na agricultura convencional (AZEVEDO, 2006).

No Brasil, o sistema orgânico de produção está regulamentado pela Lei Federal no 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que contém normas disciplinares para a produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e certificação da qualidade dos produtos orgânicos. O Brasil é forte na produção orgânica de açúcar, soja, café, amêndoas, mel, frutas e olerícolas para o mercado interno (MAPA, 2012). Óleos essenciais orgânicos estão em alta, com o crescimento do mercado de cosméticos orgânicos.

A preferência no mercado por produtos oriundos da adubação orgânica deve ser atribuída à idéia de que estes alimentos possam estar livres de muitos agrotóxicos (JANSSEN; HAMM, 2012) capazes de induzir uma série de doenças na população, que podem ser desencadeadas pelos organoclorados, fosforados, carbamatos, etc., ou seja, coquetel de pesticidas que são utilizados de maneira incorreta e abusiva na agricultura mineral ou convencional.

Além de vegetais cultivados de modo orgânico com a função de alimentação humana ter aumentado nos últimos anos, as empresas que utilizam produtos naturais, como as indústrias farmacêuticas e de cosméticos, também têm optado por plantas cultivadas dessa forma. No entanto, existem controvérsias sobre plantas cultivadas no sistema orgânico em relação ao convencional, principalmente, quanto ao teor de substâncias antioxidantes (SMITH-SPANGLER et al., 2012) e também pesquisas relacionadas ao potencial antioxidante, atividade antimicrobiana do óleo essencial e a identificação dos flavonóides de plantas de jambu, ainda são escassas.

1.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi comparar cultivares de jambu produzidos de forma orgânica e convencional, o desenvolvimento fenológico das plantas (folha e inflorescência), através dos índices morfo-fisiológicos de crescimento, além do teor e composição do óleo essencial e sua ação antimicrobiana, assim como seu potencial antioxidante.

Estabelece-se como principal hipótese que as distintas formas de cultivo afetam a produção de metabólitos secundários, bem como o potencial antioxidante do jambu, pois resultados de pesquisas prévias nos levam a crer nessa hipótese e a literatura envolvendo essa planta com relação ao objetivo proposto neste trabalho é ainda incipiente e preliminar. Todavia, vem se observando extraordinária expansão da área cultivada com essa espécie em todo o Brasil, devido ao surgimento de novas áreas de produção em outros estados e países, o processo de patenteamento para novos produtos no exterior e uso na gastronomia nacional e internacional que estão transformando o jambu em uma hortaliça promissora.

Nesta tese, estudamos ainda, além do cultivo do jambu, a pós-colheita da nectarina, em relação ao produto após o processamento mínimo. O cultivo de nectarina tem grande importância na Espanha. No entanto sabe-se muito pouco com relação ao comportamento fisiológico e bioquímico de nectarina quando se apresenta como produto minimamente processado (PMP), assim como sobre as técnicas adequadas para assegurar para o consumidor suas qualidades tanto sensoriais como também microbiológicas (ARTÉS et al., 2009). Baseando-se nessa hipótese testou-se o uso de radiação UV-C e aplicação de O_2 ($\approx$ 90-100 Kpa) como tratamento capaz de melhorar o potencial de conservação após o processamento mínimo.

1.2 Objetivo específico:

- Comparar Características morfo-fisiológicas de duas cultivares de jambu (Jambuarana e Nazaré) cultivadas de modo orgânico e convencional.

- Comparar através de características bioquímicas, tais como, potencial antioxidante (fenóis, flavonóides, vitamina C, carotenóides e poliaminas, além da atividade da peroxidase, de duas cultivares de jambu (Jambuarana e Nazaré) cultivadas de modo orgânico e convencional.
- Analisar o teor de nitrato e nitrogênio total nas duas cultivares de jambu (Jambuarana e Nazaré) cultivadas de modo orgânico e convencional.
- Analisar a composição do óleo essencial de jambu das duas cultivares (Jambuarana e Nazaré) cultivadas de modo orgânico e convencional e seu potencial antifúngico.
- Avaliar o efeito da radiação UV-C e alta concentração de oxigênio na qualidade de nectarina minimamente processada.
- Determinação de polifenóis totais, potencial antioxidante pelo método de DPPH e pelo Frap e quantificação de polifenóis por Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em nectarina minimamente processada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Jambu

O jambu (*Spilanthes oleracea*) também conhecido como agrião-do-Pará. É uma planta de clima tropical de largo consumo na região Norte do Brasil, principalmente no Pará. Onde ocorre maior demanda em épocas festivas, para compor os pratos típicos da região tais como, tacacá, vatapa, pato no tucupí e arroz com jambu (Figura 1), fazendo com que aumente sua produção na região nesse período. Com tudo tem-se relatos do seu aparecimento em outros estados do Brasil como Rio de Janeiro (*Acmella ciliata* Kunth), em Minas Gerais sem identificação botânica, em São Paulo ocorre a produção comercial da espécie de *Spilanthes oleracea* (com sementes adquiridas de produtores do Estado do Pará) com fins para indústria de cosméticos, e para restaurantes de comida exóticas (Figura 2).

A divulgação do uso do jambu em nível nacional e mundial muito se deve a iniciativa do chef-de-cuisine Paulo Martins (1946-2010), do conhecido restaurante Lá em Casa, criado em 1972, no qual já serviu dezenas de personalidades nacionais e internacionais como o Papa João Paulo II (1980), o Imperador Akihito (1933) e a Imperatriz Michiko (1934) nas duas visitas que fizeram a Belém (1978, 1997) (HOMMA et al., 2011).



Figura 2: Mapa da distribuição geográfica da Espécie *Spilanthes oleracea* no Brasil

Fonte: Elaboração da autora

Pertence à família Asteraceae, nativa da Amazônia, desenvolve-se bem em climas quentes e úmidos, com temperaturas médias de 25,9 °C, precipitação anual de 2.761 mm ao ano, evapotranspiração potencial de 1.455 mm, umidade relativa do ar 86% e 2.389 horas anuais de luz solar (VILLACHICA et al., 1996).

A planta atinge cerca de 40 cm de altura e é uma planta C3, herbácea, ramificada e semi-carnosa (ALBURQUERQUE, 1989). A raiz é axial com muitas ramificações, a haste é do tipo rastejante ramificada em dicásio, podendo ocorrer em tricásio. As flores são em capítulos globosos, amarelados e longo pedunculados (Figura 3). Sua propagação pode ser por semente ou estaquia. As folhas (figura 4) são compostas, opostas, membranáceas, pecioladas; pecíolos de 20 - 60 mm de comprimento (HIND; BIGGS, 2003).

Em levantamento feito com feirantes regionais do Pará, foi registrado o consumo médio de 15 Kg/dia de jambu pela região metropolitana de Belém. O maior produtor da região metropolitana de Belém produz cerca de 3.600 Kg/mês (AMAZÔNIA HOJE, 2006).

Visando oferecer aos produtores locais uma cultivar com identidade genética definida e com caracteres desejáveis de boa produção de folhas, precocidade e resistência a doenças, foi lançada pela Embrapa Amazônia Oriental, em 1999, a cultivar de jambu Nazaré. A cultivar de jambu Nazaré é recomendada para as condições de clima quente e úmido, com temperatura média de 25 °C, precipitação de 2.761 mm anuais e umidade relativa em torno de 80%. O jambu é uma espécie de polinização aberta. Sendo a cultivar Nazaré resultante do processo de sete ciclos de seleção individual, com teste de progênies. O material que deu origem à cultivar foi coletado em 1994, no município de Santa Izabel do Pará, onde mediante testes iniciais, algumas plantas mostraram-se resistentes a doenças como o carvão e a ferrugem. As progênies oriundas de plantas resistentes foram avaliadas, permitindo encontrar uma progênie com nível desejado de resistência àquelas doenças (POLTRONIERI et al., 1999).

COSTA et al., (2008), realizando um trabalho para verificar o impacto provocado do Círio de Nazaré na produção de jambu, constaram que em uma estimativa de 1.952.163 romeiros, em 2005 e, considerando 5 pessoas por família, tem-se, um universo de 390.432 famílias. Supondo que a metade, aproximadamente 200 mil famílias, tenha condições de preparar um pato no tucupi, utilizar 3 litros de tucupi e 3 maços de jambu, obtêm-se um total de 600 mil maços de jambu e 600 mil litros de tucupi. Como um canteiro padrão nas dimensões de 1,20 m x 25m, produz 250 maços de jambu, serão necessários 2.400 canteiros ou equivalente a 12,5 hectares para ser consumido somente no domingo do Círio.

A cultura do jambu tem o ciclo de 45-70 dias Região Norte, exige pouca tecnologia para o seu manuseio e é muito cultivado entre os pequenos agricultores. Sua germinação ocorre entre 5-7 dias aproximadamente. No Estado de São Paulo, a espécie de jambu tem apresentado, geralmente, ciclo de 90 dias (BORGES, 2009c). Podendo a chegar a um ciclo de 70 dias cultivado em casa de vegetação aclimatizada (BORGES et al., 2010). A *Spilanthes oleracea* se multiplica tanto por sementes como por hastes enraizadas (REVILLA,

2004). Segundo Borges et al., (2012) contem acúmulo de minerais de 471,92 mg planta⁻¹ nitrogênio; 33,63 mg planta⁻¹ fósforo e 710,02 mg planta⁻¹ de potássio.

Com relação às propriedades químicas do jambu, Jacobson (1957) descreveu a presença de uma substancia ativa, o “espilantol” (Figura 5), uma amida também abundante em outras espécies do gênero *Spilanthes*. A composição química desta planta inclui ainda os compostos majoritários trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno e espatulenol (BORGES, 2009). Segundo Armond (2007), em triagem química da parte aérea de plantas de jambu através da técnica de cromatografia de camada delgada, foi confirmada a presença de óleos essenciais em até 0,7%, flavonóides, espilantina, espilantol, spilol, afinina, colina e fitosterina.

Segundo Herdy (1982), o espilantol produz na mucosa oral uma sensação semelhante a dos anestésicos locais, enquanto para Oliver-Bever (1983), pode ser usado como inseticida. Herdy (1982) trabalhando com a ação do espilantol sobre a atividade elétrica do coração do coelho observou que esse princípio ativo poderá servir como modelo arritmogênico para testar drogas antiarrítmicas. Dessa forma, o jambu pode ser usado em diversas formas, contendo inúmeras funções. Trabalhos realizados por Moreira et al., (1987) mostraram que o extrato hexânico das folhas desta planta é capaz de induzir convulsões tônico-clônicas em camundongos quando administrado por via intraperitoneal.

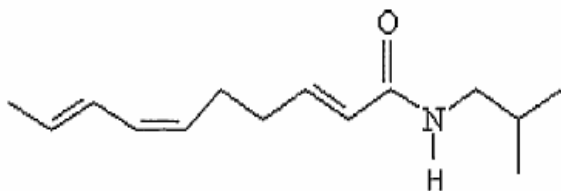


Figura 5: Estrutura Química do Espilantol

Fonte: Ramsewak, Erickson e Nair (1998) e Revilla (2004)

Ensaio farmacológicos têm comprovado que constituintes do óleo essencial de jambu têm sido eficazes em tratamentos de epilepsia e promissores na cosmética como anti-sinais da pele, que atua descontraindo as microtensões da pele, “anti-rugas”(RANI; MURTY, 2006). Herdy e Carvalho (1984) estudaram o efeito do Jambu sobre a atividade elétrica do coração de coelhos (em fitas atriais AE e AD com parte do sistema de

condução AV). Concluíram que esta substância é arritmogênico, pois exacerba os marcapassos normais e ectópicos. Deprime a condução rápida, através de seu efeito despolarizante, favorecendo o aparecimento de potenciais do tipo resposta lenta. Pode ser empregado como arritmogênico para teste de drogas.

Moreira, et al., (1989) demonstraram que o extrato de *Spilanthes acmella* var. *oleracea* é capaz de induzir convulsão generalizada em ratos e pode ser usado como instrumento para o desenvolvimento de modelos de epilepsias.

Chakraborty et al., (2004) realizaram estudo experimental em animais, no qual avaliaram a atividade anti-inflamatória e analgésica do espilantol em edema de pata de rato e observaram que o espilantol tem significativa propriedades anti-inflamatórias e analgésicas.

Ramsewak, Erickson e Nair (1998) demonstraram, em seus estudos, potente atividade larvicida do espilantol contra o *Aedes aegyptii*, podendo ser utilizado como importante ferramenta no controle da Dengue. Pessini et al., (2003) evidenciaram atividade antibacteriana e antifúngica deste composto

Ekanen et al., (2007) investigaram se a atividade da enzima pancreática lipase poderia ser inibida por dois extratos de plantas: a *Spilanthes acmella* e a *Aframomum melegueta*, ajudando, assim a tratar pacientes com obesidade. Observaram que são capazes de reduzir a atividade da enzima em 40% e 90% respectivamente. Concluíram, baseado nos dados do estudo, que ambas contêm inibidores da lipase e são potenciais candidatas para redução do peso e controle da obesidade.

Regadas (2008) verificando efeito do creme de jambu (*Acmella oleracea*) sobre a função sexual masculina e feminina, concluíram que o creme de jambu aumenta a excitação e o desejo sexual durante atividade sexual em mulheres; que aumenta o desejo e a satisfação sexual masculina durante atividade sexual e não houve alteração no tempo ejaculatório dos pacientes que utilizaram o creme.

Coutinho, Aparecido e Figueiredo (2006), avaliando culturas produzidas no Estado de São Paulo (Botucatu), identificaram esta enfermidade (*Thecaphora spilanthes*) que também é conhecida como carvão do jambu (Figura 6). Quando ocorre sobre pecíolo e folhas, provocam distorções, ocasionando o enrolamento do pecíolo e enrugamento do limbo

foliar (Figura 4). As inflorescências quando atacadas mostram-se deformadas, menores e com poucas sementes. A doença não é transmitida por sementes e o fungo é predominantemente de solos.

Os fatores externos podem afetar os teores dos princípios ativos. Já se encontram várias pesquisas que atestam à influência nos teores das substâncias. Altitude, fotoperíodo, temperatura, incidência de luz solar e os relacionados ao solo são exemplos, além das várias etapas de cultivo. Variações nesses fatores podem influenciar no rendimento da biomassa e na qualidade do óleo essencial em plantas aromáticas (FURLAN, 1999). Esse fato foi evidenciado por Borges (2009), quem observou diferenças no teor de metabolitos em jambu quando cultivado sob adubação orgânica e convencional, onde o maior teor foi verificado no cultivo orgânico. Por outro lado, Santos (2006) estudando o efeito dos manejos orgânico e convencional sobre biomassa e óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), constatou que a produção de biomassa não diferiu entre o cultivo orgânico e convencional, porém teor e o rendimento total de óleo essencial foram favorecidos pelo cultivo orgânico.

2.2 Cultivo orgânico

O consumo de produtos livres de agrotóxicos - de alimentos a cosméticos - se transformou num negócio que cresce 20% ao ano e atrai empresas grandes. É um mercado promissor. Muitos consumidores acabam preferindo os orgânicos para compensar a falta de fiscalização no uso de pesticidas e fertilizantes químicos na agricultura convencional (AZEVEDO, 2006). No Brasil, o terceiro maior em área cultivada com orgânicos no mundo, com 1,767 milhão de hectares (antecedido pela Austrália, com 12,02 milhões de hectares e Argentina, com 2,78 milhões de hectares), há um total de 90 mil produtores rurais orgânicos, tanto certificados quanto não-certificados. Quanto à área cultivada, o Brasil supera até mesmo os Estados Unidos, que têm 1,64 milhão de hectares cobertos com lavouras e pecuária orgânicas (MAPA, 2012).

O mercado de produtos orgânicos vem crescendo muito nos últimos anos, sendo uma ótima alternativa para os pequenos agricultores, já que utiliza menor quantidade de insumos agrícolas e apresentam alto valor agregado, devido à preferência dos

consumidores por alimentos mais saudáveis (BORGUINI, 2002). Nos últimos anos, muitos consumidores, independente do preço diferenciado, vem preferindo os produtos de origem orgânica, o que tem induzido muitos agricultores convencionais se converterem em produtores orgânicos certificados, mesmo que obtenham menor produções (LUZ et al., 2007).

Muitos aspectos estão envolvidos na conversão de sistemas convencionais para sistemas orgânicos de produção, em especial os econômicos e políticos que condicionam a adoção da agricultura orgânica junto a diferentes estratos socioeconômicos de agricultores, e que precisam ser considerados quando se pensa na difusão em larga escala dessa forma de produção, exigindo um apoio mais expressivo que considere suas especificidades, por parte da política agrícola do Estado. Historicamente, os primeiros movimentos ligados à agricultura orgânica no Brasil sempre estiveram relacionados à produção de hortigranjeiros. O chamado segmento de FLV (frutas, legumes e verduras) frescos, principalmente hortaliças (legumes e verduras) foi à alavanca das iniciativas pioneiras surgidas no Rio de Janeiro, Brasília, Rio Grande do Sul, São Paulo e Paraná (ASSIS; ROMEIRO, 2007).

O sistema de produção orgânico visa à produção de alimento ecologicamente sustentável, economicamente viável e socialmente justa, capaz de integrar o homem ao meio ambiente. A adoção desse sistema de produção vem crescendo, tanto em área cultivada como em número de produtores e mercado consumidor. O crescimento da agricultura orgânica se deve ao fato da agricultura convencional basear-se na utilização intensiva de produtos químicos, fazendo com que os consumidores vejam neste sistema de produção uma possibilidade de risco à saúde e ao meio ambiente, buscando produtos isentos de contaminação (SANTOS; MONTEIRO, 2004).

Entre as práticas agrícolas, o manejo orgânico de culturas ganhou grande popularidade nas últimas décadas devido à sensibilização dos consumidores para o aumento dos problemas de saúde que surgem a partir de alimentos consumidos de origem vegetal cultivadas em agricultura convencional e intensiva. A crescente demanda por alimentos obtidos com práticas orgânicas resultou em um número considerável de estudos sobre as qualidades nutricionais desses produtos (CITAK; SONMEZ, 2010 e REN et al., 2001). Diferenças fundamentais entre os sistemas de produção orgânico e convencional,

especialmente no manejo da fertilidade do solo, podem afetar a composição nutritiva das plantas. Agricultura convencional utiliza adubos que contêm nitrogênio inorgânico solúvel e outros nutrientes, que estão facilmente disponíveis para as plantas. Na agricultura orgânica, nutrientes são fornecidos através de rotação de culturas, plantas de cobertura, e esterco animal. Até à data, o impacto de agricultura biológica sobre a qualidade dos produtos agrícolas ainda permanece em discussão, devido a uma falta de dados técnicos (PICCHI et al., 2012).

A produção orgânica tem mostrado uma boa vantagem sobre a produção convencional. Costa et al., (2008) verificando o efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.] observaram que entre os adubos testados, o orgânico foi o que produziu melhores resultados no número de perfilhos, produção de biomassa seca da parte aérea e do sistema radicular e rendimento de óleo essencial das plantas de capim-limão. Outros estudos relacionam o cultivo orgânico, com o incremento de substâncias com potencial antioxidante, benéficas a saúde humana (LIMA et al., 2008, LIMA; VIANELLO, 2011, ROSSETTO et al., 2012).

2.3 Adubação convencional

O tradicional uso agrícola dos solos, embora com ampla variação de sistemas de manejo, tem sido genericamente denominado como sistema convencional. O revolvimento contínuo e intenso no preparo, a falta de cobertura do solo e a não-observância da capacidade de uso das terras podem resultar em diminuição da qualidade do solo, entendida, resumidamente, como sua capacidade de manter uma produção de modo sustentável (COSTA et al., 2006).

Agricultura moderna, sobretudo a partir dos anos 50, priorizou o modelo tecnológico com base no uso intensivo da mecanização, adubos minerais de alta solubilidade e agrotóxicos. Esse modelo elevou a produtividade das culturas, mas gerou incontestáveis problemas ambientais, com destaque para a degradação dos solos por erosão, perda de matéria orgânica e compactação, devido à adoção de práticas agrícolas inadequadas (BERTONI e LOMBARDI NETO, 1990; EHLERS, 1996).

A agricultura requer cada vez mais aplicação de conhecimentos no manejo das culturas, visando à obtenção de maiores produtividades. Dentre esses, a avaliação da fertilidade natural dos solos apresenta-se como uma opção importante para a aplicação de fertilizante em quantidade suficiente e adequada ao pleno desenvolvimento das culturas em um sistema de produção, economicamente viável.

A manutenção de resíduos culturais na superfície do solo no sistema de preparo conservacionista proporciona aumento na retenção de água e maior proteção do solo contra o impacto direto da gota das chuvas, em relação a sua incorporação mediante o preparo convencional. No entanto o plantio convencional, desde que bem conduzido, via de regra, tem proporcionado boas condições ao pleno desenvolvimento das plantas (IGUE, 1984),

Caracteriza-se pelo cultivo intensivo, na forma de monocultivo, com auxílio de mecanização, uso de insumos agrícolas, tais como, fertilizantes sintéticos e pesticidas. No entanto, essas práticas convencionais de preparo do solo e de adubação, executadas de forma inadequada, são responsáveis pela “erosão biológica” dos solos agrícolas. Segundo Altieri (2002) as causas dessa degradação, na maioria das vezes, estão relacionadas aos prejuízos que causam aos organismos do solo. A atuação conjunta de várias causas acelera ainda mais a degradação deste ecossistema.

Diferenças fundamentais entre os sistemas de produção orgânico e convencional, especialmente no manejo da fertilidade do solo, podem afetar a composição nutritiva das plantas. Agricultura convencional utiliza adubos que contêm nitrogênio inorgânico solúvel e outros nutrientes, que estão facilmente disponíveis para as plantas. Na agricultura orgânica, nutrientes são fornecidos através de rotação de culturas, plantas de cobertura, e esterco animal. Até à data, o impacto de agricultura biológica sobre a qualidade dos produtos agrícolas ainda permanece em discussão, devido a uma falta de dados técnicos (PICCHI et al., 2012).

Costa et al., (2008) verificando o efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.] observaram que entre os adubos testados, o orgânico foi o que produziu melhores resultados no número de perfilhos, produção de biomassa seca da parte aérea e do sistema radicular e rendimento de óleo essencial das plantas de capim-limão, enquanto Lima et al.,

(2008) analisando diversas espécies vegetais orgânicas e convencionais verificaram maior teor de compostos fenólicos em alimentos orgânicos.

2.4 Antioxidantes

Antioxidantes são importantes na prevenção de doenças, tanto para plantas quanto para animais, inibindo ou atrasando a oxidação das biomoléculas por meio da prevenção da iniciação ou da propagação da cadeia de reações de oxidação. Agentes redutores, cuja função é transferir átomos de hidrogênio, como ácidos ascórbicos são considerados antioxidantes. Alguns antioxidantes também são capazes de quelar íons metálicos como cobre e ferro, os quais catalisam a oxidação lipídica (KAUR; KAPOOR, 2001).

A análise do potencial antioxidante dos vegetais é importante, pois o seqüestro de radicais livres está diretamente relacionado à preservação das membranas celulares e ao processo de detoxificação dos organismos vivos. Estudos nos mecanismos de quimioprevenção têm focalizado a atividade biológica de vários compostos encontrados em frutas e vegetais.

Em plantas, o estresse oxidativo ocorre quando a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) excede a capacidade do sistema para neutralizar e / ou eliminá-los. O desequilíbrio pode resultar de uma falta de capacidade antioxidante causada por perturbações na produção, distribuição, ou por uma superabundância de ROS a partir de um estresse ambiental ou comportamental. Se não controlado corretamente, o excesso de ROS pode levar à lesão de lipídeos celulares, proteínas ou DNA, prejudicando suas funções normais. Os organismos desenvolveram sistemas complexos protegendo-os de ROS, consistindo de várias enzimas e antioxidantes (MICHALAK, 2006).

Como o modo de cultivo pode interferir em compostos denominados antioxidantes, diversos estudos tem sido conduzidos com o objetivo de elucidar esse efeito. Comparando as atividades antioxidantes de hortaliças produzidas por dois diferentes métodos de cultivo, Ren et al., (2001) observaram que o espinafre orgânico apresentou atividade 120% mais alta do que o convencional, enquanto o alho, repolho e couve orgânicos apresentaram atividade antioxidante 20 a 50% superior aos seus correspondentes convencionais. O pimentão verde foi a única hortaliça testada, cujos resultados obtidos não demonstraram nenhuma diferença com relação ao efeito antioxidante decorrente do método de cultivo.

Considerando a preocupação atual com efeitos adversos que os antioxidantes sintéticos podem causar ao organismo, os extratos de plantas com propriedades medicinais podem apresentar-se como uma fonte nova e uma alternativa de antioxidantes naturais. O extrato e o óleo podem ser utilizados como uma fonte acessível de antioxidantes naturais e como um possível suplemento alimentício ou em aplicações farmacêuticas. Além disso, podem ser utilizados como um aditivo contra a deterioração oxidativa (PEREIRA; MAIA, 2007).

O jambu é uma hortaliça promissora, possuindo flavonóides, vitamina C e um forte potencial antioxidante. O cultivo orgânico pode ser indicado para essa espécie, pois além da economia em defensivos e fertilizantes, há aumento do potencial antioxidante, além do baixo impacto no meio ambiente. Entretanto, estudos com essa espécie devem ser aprofundados (BORGES, 2009).

2.5 Compostos fenólicos

Entre os compostos antioxidantes que podem ser influenciados pelo modo de cultivo, os fenóis estão entre os mais estudados. Resultados de pesquisas têm mostrado que os compostos fenólicos geralmente apresentam grande potencial antioxidante por possuírem capacidade de doar elétrons ou hidrogênios, quelar metais e capturar oxigênio singlete (RICE-EVANS et al., 1996), evitando a produção ou diminuindo a quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS). Essa eficiência reside em um mecanismo contra os radicais livres (ROBARDS et al., 1999). E que o aumento do seu conteúdo em frutos está relacionado com aumento no potencial antioxidante (KAPPEL et al., 2008). Esta ação antioxidante de diversos grupos de compostos fenólicos tem sido foco de estudos na procura por fitoquímicos benéficos à saúde (YANISHLIEVA; MARINOVA, 2001).

Os compostos fenólicos são uma das principais classes de metabólitos secundários. Os metabólitos secundários de plantas são os compostos que não são considerados essenciais para a sobrevivência da planta inteira ou de partes da mesma, embora seja necessário para a função da relação da biossíntese da planta viva e o ambiente (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

Dentre os compostos fenólicos presentes em expressivas quantidades em vegetais, seja hortaliças, ou frutas, estão as antocianinas, compostos fenólicos (flavonoides) apontados como substâncias com alta atividade antioxidante (SEVERO et al., 2008). As antocianinas são pigmentos responsáveis por uma variedade de cores atrativas e brilhantes de frutas, flores e folhas, que variam do vermelho alaranjado ao roxo (BOBBIO; BOBBIO, 2003). São compostos pertencentes à classe dos flavonóides, os quais apresentam uma grande capacidade de sequestrar radicais livres existentes no organismo (MEYERS et al., 2003), fato que pode ajudar a prevenir, por exemplo, a ocorrência de doenças degenerativas (HEO; LEE, 2005).

Dentre os compostos fenólicos, os flavonóides compreendem uma das maiores classes de produtos naturais, juntamente com isoprenóides e alcalóides (SHIRLEY, 1996) (Figura 7). Para PIMENTEL et al. (2005), os flavonóides são fenólicos amplamente distribuídos no reino vegetal, representados por diferentes classes de substâncias, entre os quais os flavonóis, flavonas, flavanonas e antocianidinas.

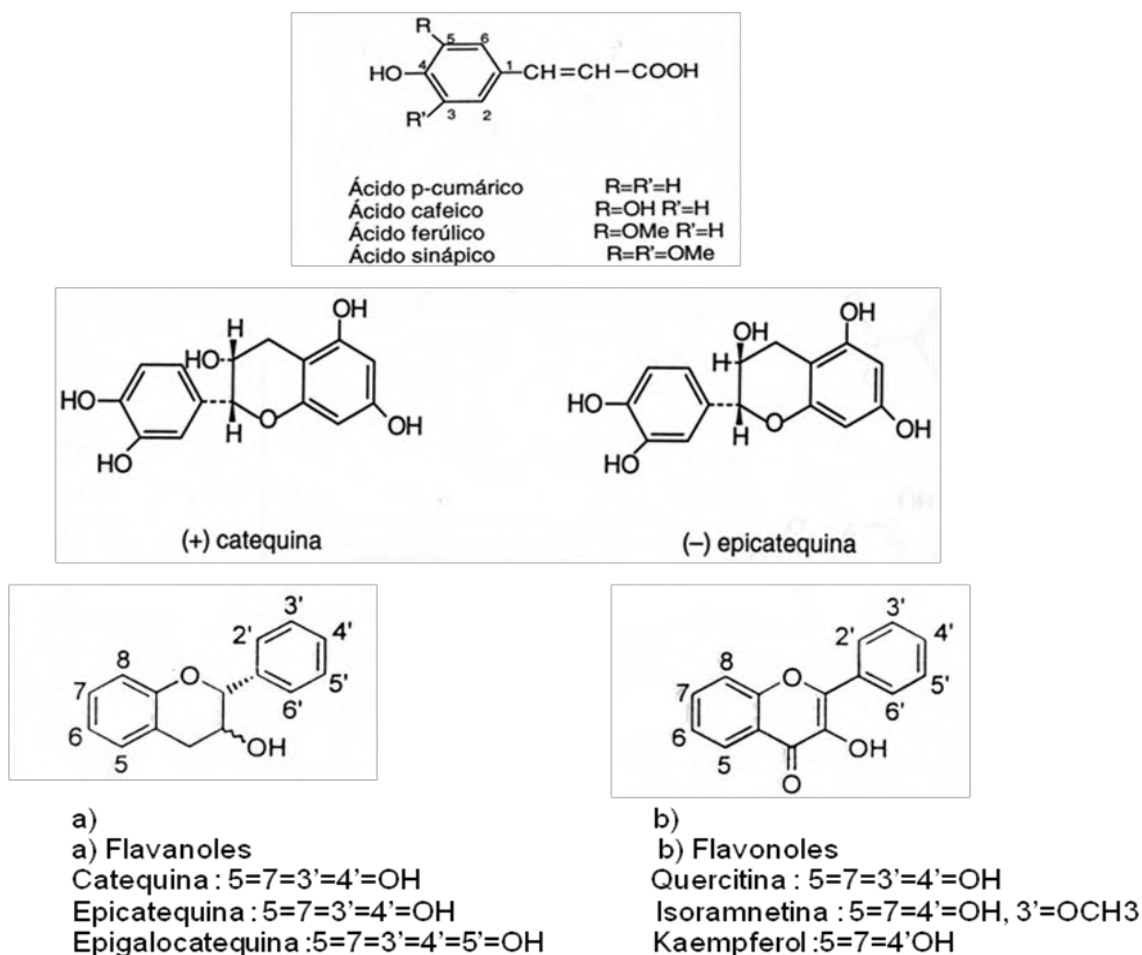


Figura 7: Estruturas química e classificação de alguns compostos fenólicos (Adaptado de ROBARDS et al., 1999)

O interesse nos flavonóides advém do fato de possuírem uma grande diversidade de funções de significado biológico, como compostos de defesa, moléculas sinalizadoras na reprodução, influenciando o crescimento e a função na proteção da planta contra o estresse. Eles também são responsáveis pelas diferentes cores entre as espécies de plantas (SHIRLEY, 1996). Os flavonóides são muito estudados devido a suas atividades antioxidantes, anticarcinogênica, antimicrobiana, ação antiinflamatória e antialérgica (ZUANAZZI, 2000).

Flavonóides são polifenóis bioativos, que ocorrem em alimentos de origem vegetal. Pela natureza de sua estrutura química são antioxidantes, que podem contribuir para a prevenção de arteriosclerose e câncer. Considera-se que a oxidação das

LDLs desempenha importante papel no processo de arterioesclerose (HOLLMAN; KATAN, 1999).

Yao et al. (2004) relatam diversos progressos no que diz respeito à presença de flavonóides nos alimentos e seus benefícios à saúde humana. Segundo esses autores, dentre as vantagens gerais do consumo de alimentos ricos em flavonóides estão a atividade antioxidante e antimutagênica, redução do risco de doenças cardiovasculares, antioxidante que inibe a atividade de radicais livres, citotoxicidade e peroxidação de lipídios, agente antiproliferativo de tumores e protetor contra doenças crônicas como arteriosclerose, assiste na gerência de sintomas da menopausa, fortifica capilares, efeito radioprotetivo, propriedade antimicrobial, entre outros.

Smolen e Sady (2009) estudando diversas fontes e formas de aplicação de nitrogênio em cenoura observaram que este mineral altera o teor de compostos fenólicos, sendo que a aplicação de nitrogênio no solo promoveu incrementos quando comparado com a aplicação foliar.

Diversos estudos tem demonstrado que a agricultura orgânica, caracterizada geralmente, pela restrição do uso de fertilizantes sintéticos e pesticidas, induz a síntese de polifenólicos (LIMA et al., 2008; LIMA et al., 2009). No entanto, Borges (2009) encontrou maiores teores de flavonóides em plantas de jambu cultivado sob adubação convencional.

Em plantas superiores, os principais pigmentos fotossintéticos são as clorofilas (*a* e *b*) e os carotenóides. Os carotenóides são pigmentos presentes nos cloroplastos sempre acompanhando as clorofilas, agindo no combate dos radicais livres produzidos em maior quantidade quando a planta está sob estresse. Estes atuam desativando o oxigênio singleto e tripleto, absorvendo a energia apresentada por estes compostos durante sua formação, e convertendo-os em suas formas básicas, prevenindo, assim, os danos por eles causados à célula (SIMÃO, 2010). A clorofila, principal pigmento responsável pela captação da energia luminosa utilizada no processo de fotossíntese, constitui um dos principais fatores relacionados à eficiência fotossintética de plantas, e conseqüentemente ao crescimento e adaptabilidade a diferentes ambientes e condições adversas ocasionadas pelos variados tipos de estresse (AMARANTE et al., 2007).

Os pigmentos fotossintéticos presentes e sua abundância variam de acordo com a espécie vegetal. A clorofila *a* está presente em todos os organismos que realizam a fotossíntese oxigênica, utilizada para realizar a parte fotoquímica da fotossíntese, enquanto que os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência de energia radiante para os centros de reação. Pigmentos como clorofilas e carotenóides são de grande importância para o processo fotossintético das plantas, participando dos processos de absorção de energia luminosa para posterior transformação da energia em ATP e poder redutor, os quais serão usados na produção de fotoassimilados (MALKIN; NIYOGI, 2000).

Até alguns anos atrás poucos eram os profissionais da Saúde que se preocupavam com o efeito biológico que a clorofila poderia exercer quando ingerida juntamente com a dieta. As clorofilas eram consideradas apenas como os pigmentos responsáveis pela cor verde de plantas, algas e bactérias, tendo como função primordial captar a luz solar para produzir glicose e oxigênio através do processo de fotossíntese, estabelecendo assim o elo para a cadeia alimentar. Por outro lado, a ingestão de vegetais verdes é considerada saudável e este hábito vem sendo incorporado cada vez mais ao estilo de vida moderna, visando ao Bem-Estar e à Promoção da Saúde. É moeda corrente na literatura associar a ingestão de frutos e outras partes vegetais a um menor risco de desenvolvimento de doenças, tais como o câncer e doenças cardiovasculares (LANFER-MARQUEZ, 2003).

Na economia de mercado atual, a qualidade do produto tornou-se cada vez mais importante. Mais de 90% da vitamina C no humano dietas é fornecido por frutas e vegetais. O teor de vitamina C pode ser influenciada por diversos fatores como diferenças genotípicas, estágio de crescimento e práticas culturais (LEE; KADER, 2000; ABD EL-HAMED; ELWAN, 2010). A redução da vitamina C, devido ao fertilizantes pode ser explicado, pois o excesso de uso de fertilizantes nitrogenados aumenta a concentração de NO₃ e simultaneamente diminui a de ácido ascórbico (MOZAFAR, 1993).

A vitamina C é um antioxidante hidrossolúvel. A atividade antioxidante do ácido ascórbico é causada por uma fácil perda de seus elétrons, tornando-o muito efetivo em sistemas biológicos. Por ser um doador de elétron, este serve como um agente redutor para muitas espécies reativas (KAUR; KAPOOR, 2001).

A vitamina C é, geralmente, consumida em grandes doses pelos seres humanos, sendo adicionada a muitos alimentos industrializados. A vitamina C da dieta é absorvida de forma rápida e eficiente pelo organismo por um processo dependente de energia. O consumo de elevadas doses pode levar ao aumento da concentração dessa vitamina nos tecidos e no plasma sanguíneo (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Outras substâncias são discutidas na literatura por apresentar atividade antioxidante, como por exemplo, as poliaminas (LIMA et al., 2006), que estão ligadas a vários processos biológicos, incluindo a divisão celular e crescimento (BEZOLD et al., 2003), morfogênese e diferenciação (PASCHALIDIS et al., 2001). As poliaminas mais comuns são putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm) (Figura 8), ocorrendo nas plantas em formas livres ou ligadas (CREUS et al., 2001). Putrescina é sintetizada pela ornitina descarboxilase, enquanto a espermidina e a espermina são derivadas de PAs putrescina.

Para Sánchez-López et al., (2009), as poliaminas são os principais reguladores do desenvolvimento de células vegetais, no entanto, respostas quanto as suas funções ainda permanecem pouco claras, e os autores atribuem essa falta de conhecimento as dificuldades em analisar as poliaminas.

Castiglione et al., (2009) analisando diferentes clones de álamo com acúmulo de cobre e zinco observaram que as folhas apresentaram alta concentração de poliaminas (putrescina, espermidina, espermina). Conhecer uma possível relação dos teores dessas amins nos alimentos torna-se fundamental, pois certamente, o modo de cultivo pode alterar os níveis dessas substancias, influenciando diretamente na saúde do homem (LIMA et al., 2006).

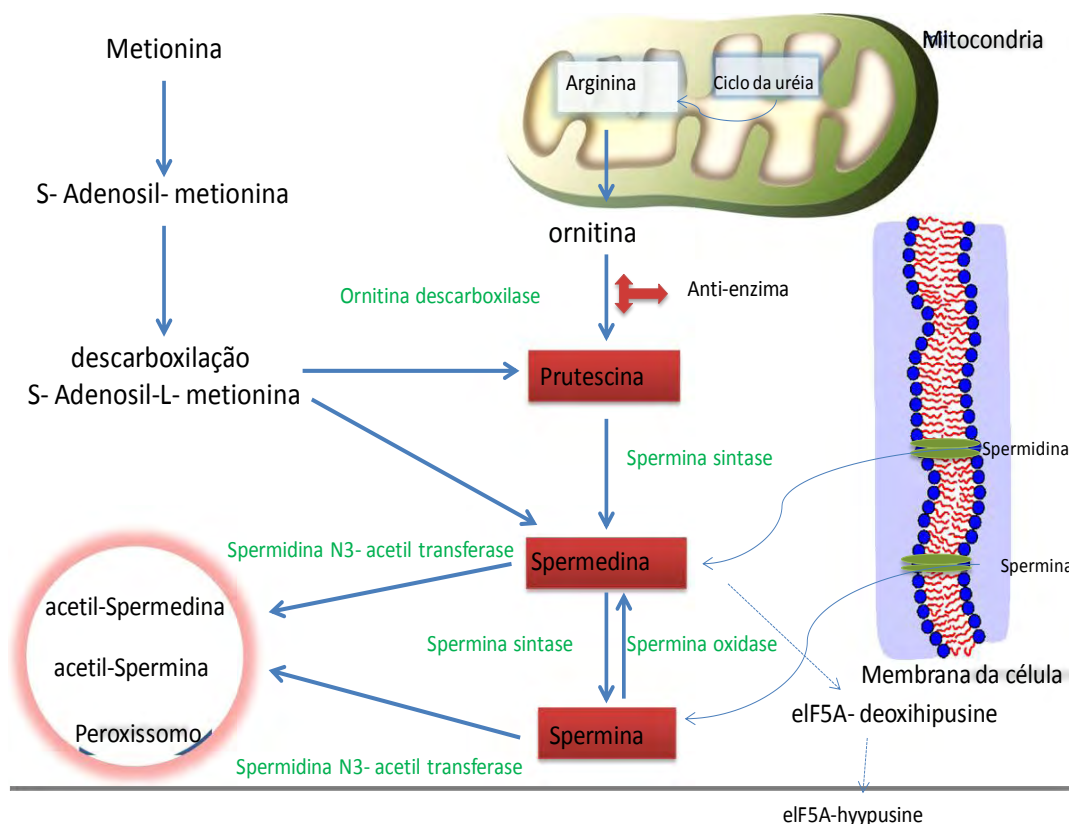


Figura 8: Resumo do metabolismo das PAs. PAs são controlada por catabolismo, síntese e absorção (IACOMINO et al., 2012).

Muitos autores sugerem que essas amins possuem ação antioxidante como uma forma de proteção das plantas (BOUCHEREAU et al., 1999) ou ainda, podem promover efeitos negativos, através da sua oxidação por poliaminas oxidases (TIBURCIO et al., 1990), gerando ROS, incluindo o peróxido de hidrogênio (TOUMI et al., 2008), porém como estão diretamente ligadas a processos de divisão celular e estão presentes em todas as células, o conhecimento do seu conteúdo em alimentos é fundamental (LIMA; VIANELLO, 2011).

2.6 Enzima POD

Algumas práticas agronômicas, tais como irrigação, fertilização e estresse e a salinidade do solo afetam a atividade da polifenoloxidase e peroxidase. O efeito geral é um aumento da actividade de ambas as enzimas em resposta as situações de stress, como o excesso ou deficiência do teor de potássio, a falta de irrigação, as concentrações elevadas de cloreto de de sódio ou de fósforo (THOMAS-BARBERÁN; ESPIN, 2001).

As enzimas peroxidase e polifenoloxidase são responsáveis pelo escurecimento em frutas, vegetais e seus produtos processados, por isso o controle das atividades destas enzimas é de grande importância durante a transformação dessas matérias-primas para a obtenção de produtos processados (CLEMENTE; PASTORE, 1998).

A peroxidase (POD) é do grupo das oxidoredutases, sendo capaz de catalisar um grande número de reações oxidativas em plantas usando peróxido como substrato, ou, em alguns casos, oxigênio como um aceptor de hidrogênio. Em vegetais, a peroxidase induz a mudanças negativas de sabor durante a estocagem. É considerada a enzima vegetal mais estável ao calor e sua inativação tem sido convencionalmente usada como indicador de adequação de branqueamento em processamentos vegetais (FREITAS et al., 2008).

As PODs estão envolvidas em várias funções metabólicas como regulação do alongamento celular, ligação entre os polissacarídeos da parede celular, lignificação, proteção contra patógenos, cicatrização de ferimentos, suberização, oxidação de fenol (LAGRIMINI, 1991), geralmente em resposta a estresses biótico e abiótico (VEITCH, 2004). A enzima pode existir na forma solúvel ou ligada à membrana (ROBINSON, 1991), sendo que as extracelulares atuam na parede das células, participando da biossíntese de lignina e suberina (VAN HUYSTEE, 1987).

2.7 Nitrato

Fertilizantes a base de nitrato muitas vezes, influenciam o excesso de teor de nitrato em partes comestível de vegetais (NEETESON; CARTON, 2001; RAHN, 2002). Outros fatores que influenciam absorção de nitrato incluem o genótipo da planta, a época de cultivo, ambiente e fertilização com enxofre (KONSTANTOPOULOU et al., 2010; ABD EL-HAMED; ELWAN, 2010).

O nitrato acumulado no tecido da vegetal tem recebido atenção especial nos últimos anos, pois se ingerido pelos animais a partir dos alimentos pode ser reduzido a nitrito (NO_2^-) no trato digestivo, e ao chegar à corrente sanguínea oxidando o ferro (Fe^{2+} → Fe^{3+}) da hemoglobina produzindo metahemoglobina. A metahemoglobina torna-se estável e inativa, tornando-se incapaz de transportar oxigênio (O_2) para a respiração celular, acarretando

a doença conhecida como metahemoglobinemia, ou doença do “sangue azul” (WRIGHT; DAVISON, 1964).

A variação do acúmulo de NO_3^- na alface e em outras culturas depende de inúmeros aspectos, como quantidade de nitrogênio no solo (MAYNARD et al., 1976; BYRNE et al., 2002), condições ambientais durante o desenvolvimento da cultura e condições inadequadas após colheita (SICILIANO et al., 1975; YANEVA et al., 1996). Como esses fatores interagem entre si, há dificuldade na interpretação dos resultados.

Análises da planta como um todo ou de parte aérea e raízes separadamente, podem levar a resultados também duvidosos, já que a distribuição de algumas variáveis fisiológicas não é levada em conta. Tem sido demonstrado que algumas plantas utilizam partes da sua estrutura para acumular nitrogênio solúvel na forma de nitrato e N-amino, como por exemplo o caule da alface (COMETTI, 2000), rizoma e raízes em *Paspalum notatum* (BENDIX et al., 1982).

2.8 Atividade Anti-microbiana

O estudo dos mecanismos de defesa das plantas possibilita investigar novas substâncias que preencham os requisitos de eficácia, segurança e seletividade contra patógenos. A exploração de compostos secundários bioativos presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas podem ser eficientes no controle de pragas (SILVA, 2007).

De modo geral, a utilização de plantas medicinais no controle de microorganismos pode ter duas vertentes. Primeiramente, quando é detectada a atividade, os compostos são isolados, identificados e posteriormente sintetizados em larga escala. Em laboratório, a nova substância anti- microbiana, através de transformações químicas, pode ter seus efeitos iniciais otimizados, suprimindo ou minimizando sua toxicidade (quando necessário) em mamíferos ou inimigos naturais. No segundo caso, quando é identificada a atividade inseticida, sua utilização se dá na forma de extrato vegetal bruto. No entanto, a escolha do método está em função da complexidade das estruturas químicas da substância, que poderá permitir ou não sua síntese, da viabilidade econômica e tecnológica (FAZOLIN, 2005). Entretanto, segundo Ming (1996), menos de 1% da flora brasileira foi pesquisada

quimicamente, o que evidencia a importância de trabalhos cujo objetivo é conhecer a composição química de plantas potencialmente anti-microbianas.

A pesquisa da atividade antimicrobiana em plantas com indicativos medicinais, condimentares ou alimentar, dentro do princípio da triagem com droga crua, vem merecendo ênfase, tais como os trabalhos desenvolvidos por Girolometto et al., (2009), onde os autores verificando atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St. -Hil.) constataram que essa planta, representada por folhas e cambitos, apresentam potencial como insumos antisépticos ou desinfetantes, aplicáveis na atenção básica à saúde e à produção em sistemas de agricultura familiar ou de pequeno porte, com ênfase à prevenção e ao controle específico de salmonelose.

Murari et al., (2008) estudando a composição e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus* constataram que os óleos essenciais obtidos dos diferentes órgãos vegetais apresentaram atividade antibacteriana diversa, como a cepa de *B. cereus* ATCC 14579, que foi a mais suscetível à ação antimicrobiana de todos os óleos, demonstrando maior sensibilidade frente ao óleo essencial das folhas. O óleo das folhas de *Senecio crassiflorus* Var. *Crassiflorus* foi o que apresentou maior inibição frente às cepas Gram-positivas testadas.

A utilização de produtos naturais no controle de doenças de plantas vem se tornando um meio eficiente para a redução do uso indiscriminado de defensivos (PURKAYASTHA, 1995). Neste contexto, as plantas medicinais e aromáticas com seus princípios ativos antimicrobianos, tornam-se promissoras no controle de fungos fitopatogênicos, além de não afetarem o meio ambiente. No campo, a produtividade das frutas e hortaliças está relacionada à aplicação de fungicidas, o que pode incrementar o nível de contaminantes químicos indesejáveis no produto final, somando-se o efeito deletério já proporcionado pelas toxinas fúngicas naturais.

Os métodos de controle biológico constituem alternativas viáveis em relação ao químico tradicional, principalmente por não deixarem resíduos tóxicos nas frutas e hortaliças tratadas (WILSON; WISNIEWSKI, 1994). O controle biológico através de metabólitos bacterianos demonstrou perspectivas promissoras para restringir o uso de agrotóxicos químicos (SANHUEZA; KRETZCHMAR; BORSÓI, 1992). Os métodos físicos e

biológicos constituem alternativas viáveis e desejáveis, que vêm ocupando o espaço dominado atualmente pelo produto químico tradicional, principalmente em função de não deixarem resíduos tóxicos nas frutas e hortaliças tratadas (WILSON; WISNIEWSKI, 1994). Os dados vêm reforçando o biocontrole como método alternativo no controle de doenças em pós-colheita de vegetais, capaz de minimizar o impacto ambiental, devendo-se ainda, reduzir o custo para valores equivalentes ao controle químico (TAVARES, 1996).

Atualmente, existe mercado promissor para os bioinseticidas e inseticidas naturais porque esses produtos podem ser utilizados no manejo integrado de pragas em cultivos comerciais e também na agricultura orgânica por não apresentarem resíduos e riscos à saúde humana, não agredir o meio ambiente, além de ser um produto de preço acessível. Os princípios ativos dos inseticidas naturais são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas sendo acumulado em pequenas porções nos tecidos vegetais (LIMA, 2007).

Com a crescente demanda por produtos orgânicos, novas tecnologias de controle de doenças pós-colheita adequadas a esse produto também devem ser objetos de pesquisa. O uso de revestimentos comestíveis para a conservação pós-colheita associado à inseticidas naturais pode ser uma alternativa para o objeto de estudo. Nesse caso, o revestimento associado com fungicidas naturais em geral tem sido aplicado isoladamente ou combinado a suspensão de um agente espessante, que após aplicação no produto forma uma película ao seu redor, agindo como barreira para trocas gasosas e perda de vapor d'água, modificando a atmosfera, retardando o amadurecimento do fruto e inibindo o desenvolvimento de podridões (PEREIRA et al., 2006).

Cada vez mais, vem aumentando o interesse pela utilização de extratos vegetais e óleos essenciais para o controle de pragas e dentre os fatores que contribuem para isso, está à preocupação da população em consumir produtos isentos de resíduos de agrotóxicos, e é claro a preocupação com a preservação ao meio ambiente e também com a qualidade de vida dos agricultores que são diretamente responsáveis pela produção. Mas, para isso, é importante que as pesquisas avancem com o intuito de mostrar a eficiência dos extratos vegetais e óleo essencial no controle de pragas.

2.9 Nectarina

A nectarina é um fruto climatério da espécie *Prunus persica* var. *nectarina*, pertence a Família Rosacea e é originária da China. São frutas muito apreciadas pelo sabor, aparência e pelo seu valor econômico no âmbito da cadeia produtiva.

O cultivo de nectarina tem grande importância na Espanha. No entanto se sabe muito pouco com relação ao comportamento fisiológico e bioquímico dessa espécie quando processada minimamente, assim como sobre as técnicas adequadas para assegurar para o consumidor suas qualidades tanto sensoriais como também microbiológica (ARTÉS et al., 2009).

2.10 Processamento mínimo

A procura de produtos prontos para o consumo, com qualidade de frescos e contendo apenas ingredientes naturais tem aumentado constantemente devido aos novos estilos de vida dos consumidores. A demanda pelo consumo de produtos minimamente processado (MPR) e alimentos in natura tem crescido na ordem de 2,5 a 5,0% ao ano (ROMBALDI et al., 2007).

Os produtos MPR são conceituados como frutos e hortaliças modificados fisicamente, mas que mantêm o seu estado in natura (CANTWELL, 2000). O propósito desses alimentos é proporcionar ao consumidor produtos que aliam praticidade e comodidade, dispensando, na maioria das vezes, a operação de preparo antes de serem consumidos (MORETTI, 2001). Artés (1999) propõe a denominação de produtos vegetais processados em fresco aos elaborados a partir de frutas, hortaliças, que sofreram vários tratamentos em seu acondicionamento e preparação para consumo, sendo seu diferencial que produto processado permanece vivo.

A preparação de produtos vegetais processados baseia na aplicação de tratamentos simples ou combinados que mantenha a qualidade com eficácia dos vegetais, diante das alterações, principalmente as de origem física ou mecânica, como desidratação, contusões, entre outros, as alterações microbiológicas causadas por fungos, leveduras e bactérias, escurecimento bioquímicas e enzimáticas, a oxidação de lipídios, aroma, sabor e

textura, e distúrbios nutricionais como a perda de vitaminas. (ARTS et al., 1999, ARTES e OFÍCIOS, 2000).

Este segmento de indústria alimentícia vem proporcionando ao consumidor um produto prático e conveniente, com frescor e qualidade semelhante ao do produto intacto (KLUGE; VITTI, 2004). De acordo com DELLA CRUZ (2004), este tipo de produto possibilita maior rendimento e boa qualidade.

Além das vantagens de conveniência e qualidade proporcionadas por este tipo de produto, a possibilidade de processamento nas regiões produtoras, traz uma nova opção para os produtores, pois permitem maior aproveitamento da produção e agregam valor aos produtos (DURIGAN, 2000).

Apesar de apresentarem benefícios que incentivem sua comercialização, algumas desvantagens devem ser levadas em conta, como sazonalidade, exigência de refrigeração adequada, perecibilidade e contaminação (DELLA CRUZ, 2004). O desafio para a inclusão das frutas no mercado de produtos minimamente processados está relacionado à limitada vida útil dos mesmos, devido principalmente ao excessivo amolecimento e escurecimento da superfície cortada (GIL et al., 1998; GORNY et al., 2002).

Os cortes ou danos no tecido da planta promovem a liberação de nutrientes e enzimas intracelulares que favorecem a atividade enzimática e a proliferação de microrganismos no produto (ZAGORY, 1999; MASIHI et al., 2002). A atividade microbiana em produtos minimamente processados pode ser influenciada pelo metabolismo do tecido da planta, pela atmosfera modificada, pela permeabilidade do filme de embalagem e pela temperatura de estocagem.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), os efeitos que os gases atmosféricos (O_2 e CO_2) exercem sobre os vegetais frescos ainda não são completamente entendidos. O oxigênio atua como substrato e o dióxido de carbono como produto do processo respiratório e ambos modulam, direta ou indiretamente, um grande número de sistemas enzimáticos. De acordo com Soares e Geraldine (2007), é importante evitar baixos níveis de O_2 e níveis elevados de CO_2 no interior das embalagens, que levam à respiração anaeróbica e ao desenvolvimento de odores indesejáveis, ocasionando rápida deteriorização do produto.

Vários estudos têm demonstrado que a radiação ultravioleta, um tipo de radiação não-ionizante com comprimento de onda entre 100 e 280 nm, constitui-se num método de conservação que contribui para a preservação de alimentos (STEVENSON, et al., 2005; LÓPEZ-RUBIRA, et al., 2005; GONZÁLES-AGUILAR, et al., 2007). Além disso, a radiação ultravioleta age como um agente estressor abiótico, capaz de ativar mecanismos de defesa dos tecidos vegetais (MERCIER; KUC 1997).

Em um trabalho com UV-C, González-Aguilar et al. (2004) concluíram que tratamentos por 3, 5 e 10min reduziram significativamente a injúria por refrigeração após 14 e 21 dias de armazenamento a 5°C, aumentando em sete dias o prazo de validade de pêssegos, cv. Jefferson armazenados a 20 °C, além de induzir manutenção da firmeza em comparação ao controle e daqueles expostos a tempos maiores de tratamento (15 e 20min).

Aplicação de radiação (ionizante) em frutas e hortaliças é utilizado para desinfestação de insetos e controle de doenças e para retardar a maturação e crescimento de germinação. A irradiação tem sido proposta como método para a obtenção de frutas e hortaliças minimamente processadas livres de patógenos que possam diminuir a qualidade dos produtos vegetais (GUNES et al., 2000). Vários autores afirmam que, além do controle microbiológico, a radiação reduz significativamente a taxa de respiração e produção de etileno em cenoura (CHERVIN et al., 1992; HAGENMAIER; BAKER, 1998) e alface (HAGENMAIER; BAKER, 1998). Charles et al. (2008) demonstraram que a radiação UV-C induz mecanismos de defesa frente à micro-organismos em tomate, podendo contribuir para a melhoria da qualidade funcional desse fruto. No entanto, estudos em maçã minimamente processada indicaram que os resultados obtidos durante a irradiação são afetados pelo grau de maturidade e que esse tratamento induz aumento da respiração (GUNES et al., 2000).

CAPITULO I

ÍNDICES MORFO-FISIOLÓGICOS E PRODUTIVIDADE ECONÔMICA DE CULTIVARES DE JAMBU INFLUENCIADA PELA ADUBAÇÃO ORGÂNICA E MINERAL

Luciana da Silva Borges¹, Romy Goto², Giuseppina Pace Pereira Lima³

3.1 RESUMO

O jambu pertence à família Asteraceae nativa da Amazônia, de clima tropical, no momento essa a planta está sendo considerada como uma hortaliça promissora, devido suas qualidades farmacológicas. Apesar dessa novidade, a hortaliça continua invisível nas estatísticas de produção e de mercado no Pará. Realizou-se essa pesquisa com o objetivo de comparar a produtividade econômica e o desenvolvimento fenológico de duas cultivares de jambu, através dos índices morfo-fisiológicos de crescimento de duas cultivares de jambu influenciada pela adubação orgânica e adubação mineral. O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental São Manuel (São Manuel-SP), pertencente à Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP, campus de Botucatu. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em esquema fatorial (2 x 2), sendo duas adubações (orgânica e mineral) e duas cultivares (Jambuarana e Nazaré), com 6 repetições. Foram avaliados as seguintes características: Altura de planta (cm), Área foliar (cm²), Massa de matéria fresca (g), Massa de matéria seca (g), Índice de área foliar (IAF), Razão de Área Foliar (RAF), Área Foliar Específica (AFE), Razão de Peso das Folhas (RPF), Quantidade de água na parte aérea (QAPA) (g por conjunto de plantas), Peso específico foliar (PEF) (g cm⁻² por conjunto de plantas) e Produtividade econômica. Todos os dados obtidos foram analisados estatisticamente

¹ Doutoranda em Agronomia- Horticultura, Deptº de Produção Vegetal, Setor Horticultura, Universidade Estadual Paulista(UNESP), Botucatu, SP. Email: luagro06@yahoo.com.br

² Profª Deptº de Produção Vegetal, Setor Horticultura, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP. Email: romy@fca.unesp.br

³ Profª. Deptº de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu, SP. E-mail: gpplima@ibb.unesp.br

através da análise de variância. E realizou-se o teste de Tukey (1%) para a comparação de médias. As análises foram feitas no “software” SISVAR. Nas condições em que foi executado este experimento, pode-se verificar que a cultivar Jamburana apresenta bom desenvolvimento fitotécnico e produtividade econômica na adubação mineral e melhor índice morfo-fisiológico cultivada sob adubação orgânica, demonstrando que essa adubação aumenta a eficiência agronômica dessa cultivar.

Palavra- chave: *Spilanthus oleracea*, Biomassa, Área foliar, Produtividade, fenologia

3.2 ABSTRACT

MORPHO-PHYSIOLOGICAL INDICES AND ECONOMIC PRODUCTIVITY OF JAMBU CULTIVARS INFLUENCED BY THE ORGANIC AND MINERAL FERTILIZERS

The jambu belongs to the family Asteraceae, tropical crop, nowadays, this plant has been considered as a promising vegetable crop, because to its pharmacological properties. Despite this novelty, the vegetable remains invisible in the statistics of production and market in the State of Pará, Brazil. This research was carried out with the aim of comparing the economic productivity and phenological development by the morpho-physiological growth indexes of two cultivars of jambu organic manure and mineral fertilizers. The experiment was carried out at the São Manuel Experimental Farm (São Manuel-SP), which belongs to the Faculdade de Ciências Agrônomicas - UNESP, campus Botucatu. The experimental design was a factorial randomized blocks (2 x 2) with two fertilization (organic and mineral) and two cultivars (Jambuarana and Nazareth), with six replications, two fertilization (organic and mineral) and two cultivars (Jambuarana and Nazareth). The following characteristics were evaluated: Plant height (cm), Leaf area (cm²), Fresh mass (g), Dry mass (g), Leaf area index (LAI), Leaf area ratio (LAR) , Specific leaf Area (SLA), Leaf Weight Ratio (LWR), Amount of water in the plant (QAPA) (g per plant set), Leaf specific weight (LSW) (g cm⁻² per plant set) and Economic productivity. All data were statistically analyzed by analysis of variance and the Tukey test (1%) for mean comparison, with the software SISVAR. In the conditions of this experiment was carried out, it was possible to verify that the cultivar Jamburana had not only a good agronomic development and economic productivity under organic fertilization but also the best morpho-physiological indexes, showing that this kind of fertilization increases the agronomic effectiveness of this cultivar.

Key words: *Spilanthus oleracea*, Biomass, Leaf area, productivity, phenology

3.3 INTRODUÇÃO

O jambu (*Spilanthes oleracea*) pertence à família Asteraceae, nativa da Amazônia, de clima tropical. Essa planta é uma hortaliça bastante cultivada e consumida na região Norte do Brasil, principalmente no Pará, sendo sua maior demanda nos períodos festivos, tais como o Círio de Nazaré e as festas de fim de ano. Popularmente essa planta também é utilizada como erva medicinal, pois segundo os dizeres populares, suas folhas e flores podem ser recomendadas para elaboração de infusões no tratamento de anemia, dor de dente e garganta, sendo sugerido como antibiótico e anestésico. Apesar dessas novidades, a hortaliça continua invisível nas estatísticas de produção e de mercado no Pará. Segundo Borges et al., (2012a), o jambu tem uma produtividade de 3,37 kg m⁻².

De acordo com Borges et al., (2012b), comparando as adubações orgânica e mineral em plantas de jambu, verificou-se que as plantas responderam mais a translocação dos nutrientes: fósforo (P), magnésio (Mg), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu) e ferro (Fe) nas inflorescências e fósforo (P), cálcio (Ca), manganês (Mg), enxofre (S), boro (B), cobre (Cu) e ferro (Fe) nas folhas na adubação orgânica, demonstrou a eficiência de utilização dos nutrientes dessa fonte de adubação, indicando que esta foi uma característica determinante na resposta do acúmulo de nutrientes nas folhas e inflorescências de jambu. As plantas de jambu são mais responsivas à adubação mineral para a translocação de nitrogênio (N) e manganês (Mn), tanto para a folha como para as inflorescências.

No Estado de São Paulo, a produção de jambu já está direcionada para extração do óleo essencial, pois segundo Lorenzi e Matos (2002) o jambu possui em torno de 0,7 % de óleo essencial, que está sendo fornecido diretamente para as indústrias de cosméticos, devido sua qualidade farmacológica. Esse efeito farmacológico se deve as suas substâncias químicas, dentre as quais, o espilantol, trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno e espatulenol (BORGES et al., 2012c). Li-Chen et al., (2008) verificaram o efeito antiinflamatório do espilantol, sugerindo a utilização dessa substância para desenvolvimento de drogas antiinflamatórias.

Essa planta, por apresentar essas propriedades químicas, vem despertando o interesse das empresas farmacêuticas e de cosméticos que as utilizam como matéria prima para seus produtos, e têm optado por plantas cultivadas de forma orgânica, uma vez que esses produtos

estarão isentos dos resíduos químicos dos defensivos. Outra forma de utilização são nos restaurantes de comida exóticas utilizando a inflorescência de jambu para compor seus pratos diferenciados na gastronomia.

A pesquisa e o desenvolvimento agrícola nos últimos 50 anos vem focada principalmente no aumento da produtividade através da intensificação do uso de insumos para maximizar a renda de agricultor em primeiro lugar e, em segundo lugar minimizar a escassez de alimentos e fome (ANDOW et al., 2009; BENBROOK, 2009). No entanto os custos ambientais dessa política, tais como o empobrecimento do solo e poluição da água (TEGTMEIER e DUFFY, 2004) só recentemente se tornaram aparentes, e isso levou ao início de uma sensibilização e conseqüentemente de uma mudança filosófica orientadas por práticas mais sustentáveis de produção (ALEXANIAN, METERA e SCHULER, 2009). A agricultura e suas interações com o ambiente começaram a surgir mais fortemente nos domínios político, económico e sociais, refletindo a crescente importância da sustentabilidade para os consumidores (POINCELOT et al., 2006), que inclui a produção orgânica de alimentos.

No Brasil, o sistema orgânico de produção está regulamentado pela Lei Federal nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que contém normas disciplinares para a produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e certificação da qualidade dos produtos orgânicos. O Brasil é forte na produção orgânica de açúcar, soja, café, amêndoas, mel, frutas e hortaliças para o mercado interno. Óleos essenciais orgânicos estão em alta, com o crescimento do mercado de cosméticos orgânicos.

A preferência no mercado por produtos oriundos da adubação orgânica deve ser atribuída à ideia de que estes alimentos possam estar livres de muitos agrotóxicos capazes de induzir uma série de doenças na população, que podem ser desencadeadas pelos organoclorados, fosforados, carbamatos, ou seja, um coquetel de pesticidas que são utilizados de maneira incorreta e abusiva na agricultura.

Por intermédio da análise quantitativa de crescimento vegetal é possível avaliar as condições morfo-fisiológicas da planta em diferentes intervalos do ciclo a fim de quantificar o desenvolvimento vegetal. Essa técnica é considerada, portanto, uma ferramenta valiosa no estudo do desempenho vegetal sob diferentes práticas agrícolas, possibilitando a avaliação de seus efeitos sobre o crescimento e o grau de tolerância das plantas (VIANA et al., 2004).

Realizou-se essa pesquisa com o objetivo de comparar a produtividade econômica e o desenvolvimento fenológico, através dos índices morfo-fisiológicos de crescimento de duas cultivares de jambu influenciada pela adubação orgânica e mineral. Resultados de pesquisas com a espécie de jambu na literatura com relação ao objetivo proposto nesse trabalho são ainda incipientes e preliminares. Todavia, vem se observando extraordinária expansão da área cultivada com essa espécie em todo o Brasil, devido ao surgimento de novas áreas de produção em outros estados e países. O processo de patenteamento para novos produtos no exterior e uso na gastronomia nacional e internacional estão transformando o jambu em uma hortaliça promissora.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em túnel construído com uma estrutura metálica em arco, com 60 m de comprimento e 6 m de largura, totalizando uma área de 360 m², apresentando pé direito de 2 m (Figura 1 e 2). A parte superior foi revestida com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD), transparente aditivado anti-UV, com 0,1 mm de espessura, na Fazenda Experimental São Manuel (São Manuel-SP), pertencente à Faculdade de Ciências Agronômicas - UNESP, campus de Botucatu. As coordenadas geográficas aproximadas são: de latitude 22° 44' 50'' sul e longitude 48° 34' 00'' oeste de Greenwich, com altitude em torno de 765 m.

O clima da região, segundo Espindola, Tosin e Paccola (1974), é do tipo mesotérmico, Cwa (subtropical úmido com estiagem no período de inverno). A precipitação média anual é de 1534 mm, apresentando média para o mês mais chuvoso (janeiro) de 242 mm, e de 38 mm para os meses mais secos (julho e agosto). A temperatura média anual é de 21°C. Os dados climáticos foram obtidos no Departamento de Ciências Ambientais (FCA/UNESP–Botucatu/SP) e estão apresentados na Figura 3.

O solo da área é Latossolo Vermelho Amarelo fase arenosa (EMBRAPA, 1999). Antes da realização do experimento avaliaram-se as características químicas do mesmo através de amostras obtidas a partir de amostras simples, componentes de uma amostra composta retirada das áreas experimentais, na profundidade de 0-20 cm (Tabela 1), as quais foram analisadas conforme metodologia de Raij et al., (2001).

Tabela 1: Análise do solo antes do início do experimento.

Amostra	pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	M g	SB	CTC	V	S
	CaCl ₂	g/dm ³	mg/dm ³	-----mmol _c /dm ³ -----							%	mg/dm ³
Solo	5,3	8	25	---	16	1,2	13	5	19	35	54	---
Amostra	Boro	Cobre		Ferro		Manganês					Zinco	
Solo	0,16	1,4		40		11,9					2,2	

Ca-Cálcio; **Mg**-Magnésio; **Al**-Alumínio; **H+Al**-Acidez Potencial; **SB**-Soma de Bases; **CTC**-Capacidade de Troca de Cátions (CTC total); **V**-Saturação em Bases; **M.O**-Matéria Orgânica; P resina- Fósforo; S- enxofre. Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo – DRN/Ciência do Solo – FCA/ UNESP.

Para o fornecimento de água no experimento, foi adotado um sistema de irrigação por gotejamento, por meio de fitas gotejadas distribuídas em três linhas de irrigação por canteiro, que foram instaladas na superfície do solo entre as linhas de plantas, e com emissores espaçados em 20,0 cm. As fitas gotejadas apresentavam as seguintes características: diâmetro interno de 16 mm; pressão de serviço de 71 kPa; vazão por gotejador de 1,5 L.h⁻¹. Durante todo o ciclo, a irrigação foi realizada duas vezes ao dia, principalmente após o transplante.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em esquema fatorial (2 x 2), sendo duas adubações (orgânica e mineral) e duas cultivares (Jambuarana (Figura 4) e Nazaré (Figura 5)) com 6 repetições. A unidade experimental foi constituída por 18 plantas de jambu.

A semeadura foi realizada em agosto de 2010, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax®. Em cada célula foram colocadas cinco sementes de jambu. A emergência ocorreu aos sete dias, sendo realizado o desbaste deixando uma plântula por célula (Figura 6, 7 e 8).

O transplante foi realizado aos 40 dias após a semeadura, manualmente, quando as mudas apresentavam seis folhas definitivas, em quatro canteiros de 6 m⁻², colocando-se 18 plantas por linha, sendo que cada canteiro constou de cinco linhas. O espaçamento utilizado foi de 20 x 25 cm, que permitiu o cultivo de 90 plantas. As capinas foram realizadas a cada dez dias, desde o início da instalação da cultura.

Para adubação orgânica, aplicou-se 8 kg m^{-2} de esterco de curral no plantio (Tabela 2) e para a adubação de cobertura, foram realizadas aplicações parceladas de 1 kg m^{-2} de torta de mamona aos 55, 70 e 80 dias após o transplante de plantas.

Tabela 2: Características do composto orgânico (esterco bovino) utilizado no experimento. São Manuel - SP. 2010

Fertilizante	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Umidade	MO	C	Ca	Mg	S
% na matéria seca									
Esterco	1,47	1,54	1,38	14,30	41,00	22,80	1,20	0,40	0,30
	Fe		Cu	Mn	Na		Zn	pH	C/N
mg/Kg de matéria seca									
Esterco	18650		200	364	2580		386	7,80	16/1

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo – DRN/Ciência do Solo – FCA/UNESP.

Para a adubação mineral utilizou-se 120 g m^{-2} de nitrato de amônia, 200 g m^{-2} de superfosfato simples e 50 g m^{-2} de cloreto de potássio no plantio. Para a adubação de cobertura, aplicou-se 50 g m^{-2} de NPK na formulação de (15-15-20), sendo 15 partes de nitrogênio, 15 partes de fósforo e 20 partes de potássio, aos 55, 70 e 80 dias após o transplante.

A colheita foi feita pela manhã, aos 90 dias após a semeadura, na abertura do botão floral. Os ramos foram cortados a sete cm do solo, para serem avaliados as seguintes características:

3.4.1 Altura de planta (cm):

A altura das plantas foi determinada com auxílio de trena, medindo-se a planta do colo até o ápice, em seis plantas por parcela, aos 90 dias após a semeadura.

3.4.2 Área foliar (cm²):

Foi determinada com o uso de um integrador de área foliar (LI-COR, LI 3000).

3.4.3 Massa de matéria fresca (g):

A massa fresca foi determinada pela pesagem em balança digital, da parte aérea das plantas.

Logo após essas análises, procedeu-se a lavagem desse material em água corrente e em água com detergente, passando em seguida por duplo enxágue em água deionizada para

retirada de impurezas. As plantas foram acondicionadas em sacos de papel, identificadas com os respectivos tratamentos e submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 40 °C por 48 horas, até se obter massa constante. Depois da retirada desse material da estufa de secagem determinou-se :

3.4.4 Massa seca (g):

A massa seca foi determinada pela pesagem em balança digital.

3.4.5 Índice de área foliar (IAF): Segundo Benincasa (2003)

Determinado através da razão entre os valores da área foliar total e área de solo ocupada pelas plantas, obtidos em cada amostragem para as diferentes cultivares: **IAF** = AF_{total}/AS

Como foi utilizado o espaçamento de 20 x 25 cm o valor de AS (área do solo) calculada foi de 20 cm²/ planta

3.4.6 Razão de Área Foliar (RAF): Segundo Benincasa (2003).

Determinada através da razão entre os valores da área foliar total e massa seca total, obtidos em cada amostragem para as diferentes cultivares: **RAF** = AF_{total}/MS_{total} . (dm² g⁻¹)

3.4.7 Área Foliar Específica (AFE): Segundo Benincasa (2003).

Este parâmetro foi determinado calculado a razão entre a área foliar e a massa seca das folhas: **AFE** = AF/MS_{folhas} (dm² g⁻¹)

3.4.8 Razão de Peso das Folhas (RPF): Segundo Benincasa (2003).

A razão de peso de folhas é calculada pela razão entre a massa seca de folhas e a massa seca total: **RPF**= MS_{folha}/MS_{total} (g g⁻¹)

3.4.9 Quantidade de água na parte aérea (QAPA) (g por conjunto de plantas): Segundo Benincasa (2003).

A quantidade de água na parte aérea foi obtida através da diferença entre a massa de matéria fresca e seca da parte aérea das plantas avaliadas: **QAPA**= $MF - MS$ (g)

3.4.10 Peso específico foliar (PEF) (g cm⁻² por conjunto de plantas):

O peso específico foliar foi estimado segundo Benincasa (2003) através da divisão da massa seca da parte aérea pela área foliar.

$$PEF = MS/AF \text{ (g dm}^{-2}\text{)}$$

3.4.11 Produtividade Econômica:

Foi calculada através da massa fresca pelo número de plantas por metro quadrado. É a produtividade que é comercializada, neste caso, folha e inflorescência.

Todos os dados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise de variância e o teste de Tukey (1%) para a comparação de médias. As análises foram feitas no “software” SISVAR (FERREIRA, 2000).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na Tabela 3 interação para as características de altura, massa fresca e seca de folha e massa seca de inflorescência, assim como para produtividade econômica das folhas de jambu, demonstrando dessa maneira que tanto o fator adubação como o fator cultivar influenciaram nas qualidades fitotécnicas das plantas.

Tabela 3: Comparação de biomassa e produtividade econômica, entre cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.

Cultivar	Altura --cm--	MFTf --g--	MSTf --g--	MFTI --g--	MSTI --g--	Prod. folha kg m ⁻²	Prod. inflo. kg m ⁻²
A. Orgânica							
Jambuarana	27,24aB	169,62bB	10,52aB	71,99 aA	20,36aA	2,61aA	1,03a A
Nazaré	21,50bB	86,67bB	10,45aB	47,19bA	7,96bA	1,310bB	0,72bA
A. Mineral							
Jambuarana	37,36aA	210,13aA	30,51aA	67,57 aA	9,79aB	2,98aA	1,01a A
Nazaré	29,31bA	206,98aA	24,87bA	50,90bA	8,92aA	2,96aA	0,77bA
Cultivar	**	**	**	**	**	**	**
Adubação	**	**	**	ns	**	**	ns
Int. (AxC)	**	**	**	ns	**	**	ns
CV(%)	12,63	17,89	22,25	16,38	24,90	19,22	17,24

MFTf: massa fresca total folha, MSTf: massa seca total folha, MFTI: massa fresca total inflorescência, MSTI massa seca total inflorescência, Prod. folha: produtividade folha, Prod. inflo: Produtividade de inflorescência. Letras minúsculas comparam médias das cultivares dentro de cada adubação. Letras maiúsculas comparam médias entre adubações para cada cultivar. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey à 1% de probabilidade.

Com isso realizou-se análise de desdobramento para verificar qual fator representava estatisticamente melhor o resultado para cada característica. Quanto à altura das plantas, constatou-se que a cv. Jambuarana foi superior em relação à cv. Nazaré, tanto na adubação orgânica como na adubação mineral, sendo essa última adubação mais adequada neste trabalho para obtenção de plantas de jambu com maiores médias de altura (37,36 cm) (Tabela 3). Esses valores estão próximos dos encontrados por Borges et al. (2012a) e do citado por Lorenzi e Matos (2002) que preconizam que o jambu atinja de 30 a 40 cm de altura. Esses valores estão acima dos encontrados por Borges et al. (2010), que trabalhando com plantas de jambu cv. Jambuarana com doses de silício, obtiveram plantas com 24,8 cm de altura em média. Segundo esses mesmos autores, dentre os minerais, o nitrogênio está relacionado com desenvolvimento, crescimento e diferenciação celular, pois como observa-se pela metodologia, verifica-se a aplicação de nitrato de amônia no experimento, isso justificaria essa interação na altura das plantas de jambu. Para os autores, esses resultados tornam-se importantes sob o ponto de vista de um provável monitoramento da absorção e acúmulo dos nutrientes durante todo o ciclo da espécie.

Para a massa fresca de folha, observa-se pelo desdobramento que dependente da cultivar, não ocorre efeito significativo dentro da adubação mineral, no entanto, observa-se na adubação orgânica que a cv. Jambuarana se sobressai em relação à cv. Nazaré, apresentando média de 169,62 g e 86,67 g, respectivamente, de massa fresca. Borges et al., (2010), obtiveram médias de MF de 134,41g em plantas de jambu, cultivadas com adubação silicatada em casa de vegetação, este valor está abaixo do encontrado para a cultivar Jambuarana nesse experimento.

Para massa seca, ocorre o inverso do apresentado para massa fresca, onde na adubação orgânica não ocorre efeito significativo para as cultivares. Essa contradição pode ser justificada pelos dados de água na planta apresentados nesse trabalho (Tabela 4), em que a cv. Jambuarana tem maior valor de acúmulo de água em relação a cv. Nazaré. Em síntese, a cv. Jambuarana acumulou muito mais água que a cv. Nazaré e pelo processo de secagem perdeu-se essa água, chegando a igualdade de massa seca. Sendo que o valor de MS da cv. Jambuarana nesse experimento foi de 30,51g, valor esse acima do encontrado por Borges et al. (2010) trabalhando com a mesma cultivar, que foi de 16,62 g de MST.

Para a massa fresca das inflorescência, a cv. Jambuarana foi superior a cv. Nazaré, tanto na adubação orgânica como na adubação mineral. Porém não ocorrendo efeito significativo das adubações para as cultivares testadas (Tabela 3).

Com relação a massa seca da inflorescência, houve efeito significativo para as cultivares, assim como para as adubações, na qual a cv. Jambuarana foi superior a cv. Nazaré na adubação orgânica em comparação com adubação mineral (Tabela 3). Com esse resultado, sugere-se para obtenção de inflorescência, que segundo Borges et al., (2012), possui alto teor de espilantol, o cultivo em adubação orgânica. Sendo o produto oriundo nesse cultivo mais aceitável pela indústria de cosméticos, na qual as inflorescências de jambu torna-se importantes.

Para Produtividade econômica da folha, observa-se na Tabela 3 que a cv. Jambuarana apresentou efeito significativo em relação a cv. Nazaré na adubação orgânica, apresentando valor de $2,61 \text{ kg/m}^{-2}$ de produtividade econômica, porém não ocorreu efeito significativo das cultivares na adubação mineral. Borges et al., (2012a), obtiveram médias de produtividade de jambu de $3,37 \text{ kg m}^{-2}$ em adubação mineral e $2,40 \text{ kg m}^{-2}$ em adubação orgânica, trabalhando com diferentes doses de nitrogênio. De acordo com Coutinho et al., (2006), a parte de maior uso dessa espécie, são as folhas para o uso culinário.

Para a produtividade econômica das inflorescências, constata-se que a cultivar Jambuarana foi superior a cultivar Nazaré, tanto na adubação orgânica como na adubação mineral. Dados referentes a produtividade de inflorescências de jambu são inexistentes ou não publicados até o momento.

Tabela 4: Índices morfo-fisiológicos de crescimento em cultivares de jambu sob adubação orgânica e mineral.

Cultivar	AF	AFE	RAF	RPF	QAPA	IAF	PEF
	cm ²	cm ² g ⁻¹	cm ² g ⁻¹		g		g cm ²
A. Orgânica							
Jambuarana	2725,05aA	282,94aA	96,69aA	0,34bB	216,33aA	3,60aA	0,011aB
Nazaré	1576,61bA	150,49bA	89,60aA	0,58aB	115,87bB	2,36bA	0,010aA
A. Mineral							
Jambuarana	950,52aB	34,81aB	25,83aB	0,74aA	236,13aA	3,35aA	0,048aA
Nazaré	998,79aB	32,35aB	30,82aB	0,69aA	215,80bA	2,54bA	0,031bB
Cultivar	**	**	ns	**	**	**	**
Adubação	**	**	**	**	**	ns	**
Int. (Ax C)	**	**	ns	**	**	ns	**
CV(%)	17,25	18,84	9,98	17,45	15,92	16,62	35,51

Área foliar (AF), Área foliar específica (AFE), Razão de área foliar (RAF), razão de peso foliar (RPF), quantidade de água na parte aérea (QAPA), índice área foliar (IAF) e peso específico da folha (PEF). Letras minúsculas comparam médias das cultivares dentro de cada adubação. Letras maiúsculas comparam médias entre adubações para cada cultivar. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey à 1% de probabilidade.

Na Tabela 4, verifica-se interação significativa entre o fator cultivar e o fator adubação para as características de Área foliar (AF), Área foliar específica (AFE), razão de peso foliar (RPF), índice área foliar (IAF) e peso específico da folha (PEF). Enquanto que para as características de razão de área foliar (RAF) e quantidade de água na parte aérea (QAPA), observa-se um efeito significativo na adubação para RAF e na cultivar para QAPA. Cancellier et al. (2010), não observaram influência nos índices morfo-fisiológico em alfaces cultivadas com diferentes doses de potássio.

Realizou-se uma análise de desdobramento para verificar qual fator representava estatisticamente melhor o resultado para cada característica, onde para área foliar e AFE constatou-se que a cultivar Jambuarana foi superior a cultivar Nazaré na adubação orgânica, apresentando 2725,05 cm² g⁻¹ e 282,94 cm² g⁻¹, respectivamente. E a adubação orgânica

apresentou superioridade para duas cultivares testadas em relação a adubação mineral, demonstrando assim que adubação orgânica é mais adequada neste trabalho para obtenção de plantas de jambu com maiores médias de AF e AFE (Tabela 4). Borges et al. (2010) obtiveram médias de 1527,64 cm² de área foliar em plantas de jambu (cv. Jambuarana) cultivadas com silício, valor esse abaixo do encontrado neste trabalho. Este fato provavelmente ocorreu pela maior transpiração das plantas em virtude da maior incidência da radiação solar e temperaturas (Figura 1), traduzindo em maior fotossíntese e conseqüentemente maior produção de biomassa. Esses mesmos autores encontraram valor de AFE de 278,81 cm² g⁻¹, valor esse próximo do encontrado nessa pesquisa.

Para RAF, verifica-se efeito significativo entre as adubações, onde a adubação orgânica foi superior em relação à adubação mineral, apresentando média 96,69 cm² g⁻¹ para cv. Jambuarana e 89,60 cm² g⁻¹ para cv. Nazaré, cultivadas nessa adubação. Como a RAF é basicamente um componente fisiológico, já que é a razão entre o peso de matéria seca retida nas folhas e o peso de matéria seca acumulada na planta toda, isto é, expressa a fração de matéria seca não exportada das folhas para o resto da planta (Benincasa, 2003). Isso mostra que a quantidade de matéria seca na folha de jambu cultivada sob adubação orgânica foi maior, uma vez que não foi translocado para as outras partes da planta, ou seja, a exportação foi menor e conseqüentemente o crescimento das plantas de jambu foi menor, fato demonstrado pelos dados de altura (Tabela 3) já discutido nesse trabalho. Borges et al. (2010) obtiveram média de RAF de 71,26 cm² g⁻¹ em plantas de jambu (cv. Jambuarana), cultivadas com diferentes doses de silício. Em plantas de rúcula cultivadas com silício, Guerrero et al. (2011) obtiveram média de 194,1 cm² g⁻¹ de RAF.

Para RPF, a cv. Nazaré foi superior em relação à cv. Jambuarana na adubação orgânica, enquanto que na adubação mineral não houve efeito significativo entre as cultivares (Tabela 4). Borges et al. (2010) obtiveram média de 0,32 g g⁻¹ de RPF em plantas de jambu, sendo que nesse trabalho foram encontrados médias de RPF de 0,58 g g⁻¹ para cv. Nazaré e de 0,34 g g⁻¹ para cv. Jambuarana. Para Falqueto et al. (2009), os aumentos na razão de massa foliar refletem maior alocação de assimilados para as folhas em desenvolvimento, tidas como drenos metabólicos, e o decréscimo desta razão ao longo do desenvolvimento da planta reflete a mobilização de compostos fotoassimilados para outros órgãos da planta. Isto é,

provavelmente a translocação de fotoassimilados na cv. Nazaré ocorre com maior intensidade que cv. Jamburana, sendo que nesta provavelmente ao longo do desenvolvimento da planta ocorre a mobilização de compostos fotoassimilados para outros órgãos da planta.

Com relação a característica de QAPA e IAF, houve efeito significativo entre as cultivares, onde a cv. Jambuarana foi superior a cv. Nazaré, independente da adubação utilizada. Borges et al. (2010) obtiveram média de QAPA de 106,81 g em plantas de jambu cultivadas em ambiente protegido. Guerrero et al. (2011) obtiveram médias de QAPA de 20,8g em plantas de rúcula cultivadas com silício. Valores esses abaixo do encontrado neste trabalho que foram de 216,33g (A. Orgânica) e 236,13g (A. Mineral) de QAPA na cv. Jambuarana.

Para a característica de PEF houve efeito significativo na qual a cultivar Jambuarana foi superior a cultivar Nazaré na Adubação mineral. Em trabalhos com plantas de jambu, Borges et al. (2010) obtiveram média de 0,004 g cm² de PEF, no entanto nesse trabalho obteve-se media de 0,048 g cm² de PEF para a cultivar jamburana. Guerrero et al. (2011) obtiveram média de 0,005 g cm² de PEF em rúcula.

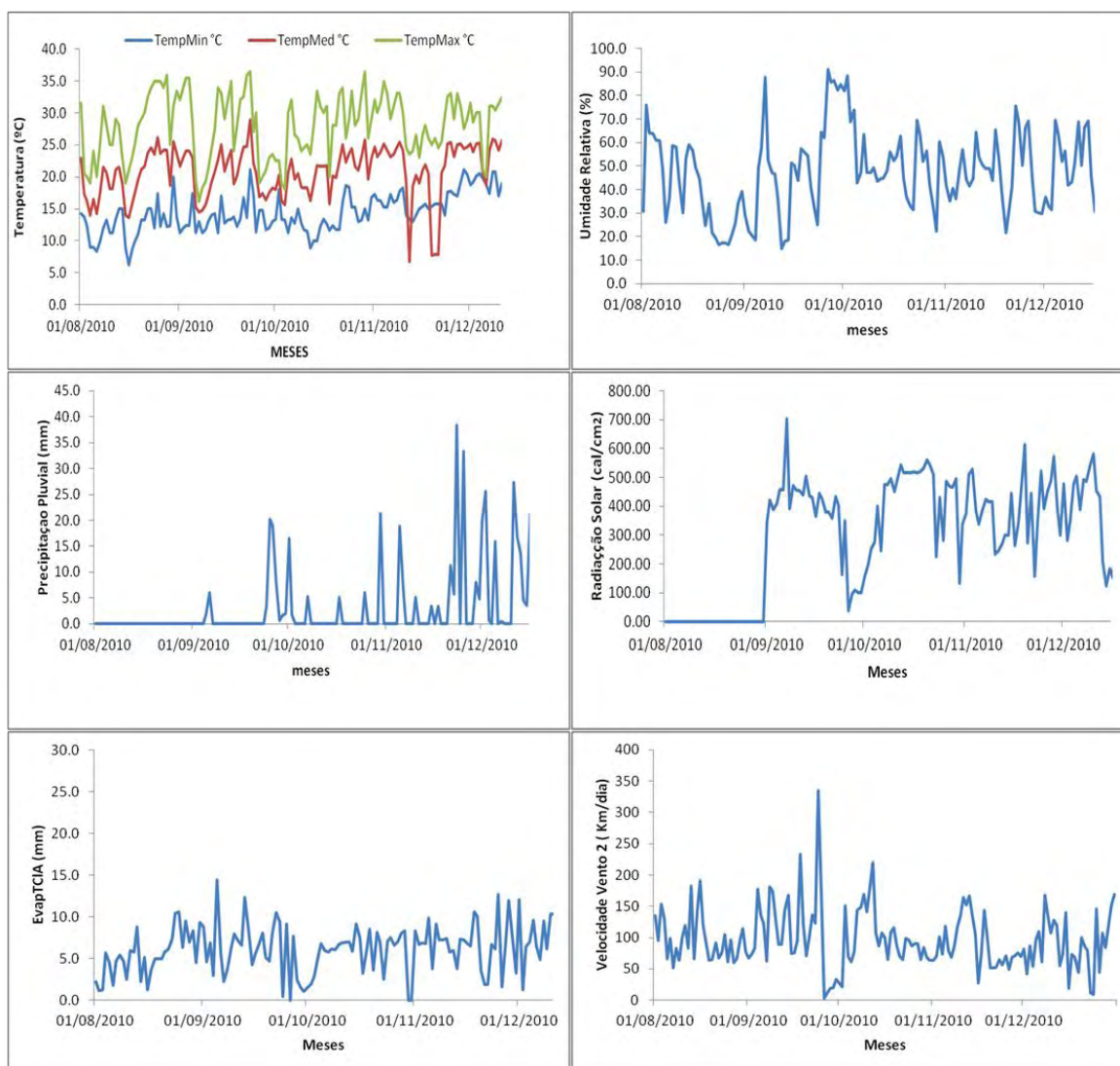


Figura 3: Dados Climatológicos: Temperatura (°C), Umidade Relativa (%), Precipitação Pluvial (mm), Radiação Solar (cal/cm^2), EvapTCIA (mm) e Velocidade de Vento 2 (Km/dia) da área experimental de agosto a dezembro de 2010.

Os dados climáticos de precipitação, umidade relativa, temperatura média, velocidade do vento e Evap TCIA coletados durante o período de estudo estão apresentados na Figura 1. De acordo com a Figura 3, durante 80 dias de cultivo as condições climáticas foram favoráveis para o cultivo da jambu. Sendo que a temperatura média observadas no experimento de agosto a novembro mantiveram-se acima da faixa de 15 a 20 °C, citada por Cardoso e Garcia (1997), como médias de temperatura ótimas para o bom desenvolvimento vegetativo e florescimento do jambu. No momento da colheita observa-se diminuição da temperatura, nos meses de

novembro e dezembro a temperatura ficou na faixa de 10 a 5°C, porém não se observou nenhuma anormalidade nas plantas de jambu nesse período.

As precipitações foram maiores no período da colheita, que ocorreu no mês de dezembro, no entanto nos outros meses a precipitação foi bem baixa, e consequente uma umidade relativa baixa também como verifica-se na Figura 3. Segundo Cardoso e Garcia (1997), o jambu desenvolve-se bem em temperaturas elevadas e umidade relativa do ar em torno de 90%. Para esses mesmos autores, no período chuvoso, as chuvas fortes e excessivas favorecem o aparecimento de doenças, induzem estragos nas plantas e provocam a lavagem dos nutrientes do solo, resultando em baixa produtividade.

As plantas de jambu foram cultivadas em ambiente protegido do tipo túnel, que justificaria o fato do excesso de precipitação pluvial e temperatura baixa no período da colheita não ter prejudicado as plantas de jambu. No entanto seria necessária investigação mais precisa desse ponto, pois as relações entre as variáveis meteorológicas e a produção agrícola são complexas, pois podem afetar o crescimento e o desenvolvimento das plantas sob diferentes formas, nas diversas fases do ciclo da cultura. Assim, modelos agrometeorológicos relacionados com crescimento, desenvolvimento e produtividade das culturas em diferentes ambientes podem fornecer informações que permitem ao setor agrícola tomar decisões importantes. Pois esse tipo de informação quando utilizada coerentemente, torna-se uma ferramenta importante para técnicos e produtores no planejamento e na avaliação de diversas hortaliças.

3.6 CONCLUSÃO

Nas condições deste experimento, pode-se verificar que a cv. Jamburana apresenta bom desenvolvimento fitotécnico e produtividade econômica na adubação mineral e melhores índices morfo-fisiológicos na adubação orgânica, demonstrando que essa adubação aumenta a eficiência agrônômica dessa cultivar.

3.7 AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado a primeira autora.

3.8 REFERÊNCIA

- ALEXANIAN, S., METERA, D., SCHULER, T. (2009). Setting the stage. In B. D. McIntyre, H. R. Herren, J. Wakhungu, & R. T. Watson (Eds.), *Agriculture at a crossroads. International assessment of agricultural knowledge, science and technology for development* (pp. 1–19). Washington, DC: Island Press.
- ANDOW, D., BIELEK, P., BROWN, R., GREGORIOU, C., KAMMILI, T., LOYAT, J. Options for action. In B. D. McIntyre, H. R. Herren, J. Wakhungu, & R. T. Watson (Eds.), *Agriculture at a crossroads. International assessment of agricultural knowledge, science and technology for development*. Washington, DC: Island Press. p. 209-275. 2009.
- BENBROOK, C. The impacts of yield on nutritional quality: Lessons from organic farming. *HortScience*, 44(1), 12–14. 2009.
- BENINCASA, M.M.P. *Análise de crescimento de plantas (8ações Básicas)*. Ed. 2. Rev.Ampl. Jaboticabal: FUNEP, 2003, 41p.
- BORGES LS; GOTO R; LIMA GPP. Produtividade e acúmulo de nutrientes em plantas de jambu, sob adubação orgânica e mineral. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.xx, p. xxx-xxx. 2012a.
- BORGES LS; GUERRERO AC; GOTO R; LIMA GPP. Exportação de nutrientes em plantas de jambu, sob diferentes adubações. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.xx, p. xxx-xxx. 2012b.
- BORGES, L.S. ; VIANELLO, F. ; MARQUES, M. O. M. ; LIMA, G. P. P. Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization and Essential Oil of *Spilanthes oleracea*. **American Journal of Plant Physiology**, 2012c.v.7. p. 135-142.
- BORGES, L. S.; GUERRERO, A. C.; FERNANDES, D. M. Adubação foliar com silício no crescimento de plantas de jambu. **Cultivando o Saber**. Cascavel, v.3, n.1, p.160-170, 2010.

CANCELLIER, L.L, ADORIAN, G.C, RODRIGUES, H.V.M.;SIEBENEICHLER, S.C.; LEAL, T.C.A.B. **Doses de potássio nas respostas morfofisiológicas de alface.** *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 23, n. 4, p. 21-27, out.-dez., 2010.

COUTINHO, L.N., APARECIDO, C.C., FIGUEIREDO, M.B. Galhas e deformações em Jambu (*Spilanthus oleraceae* L.) causadas por *Tecaphora spilanthus* (Ustilaginales). **Summa Phytopathology**, v.32, n.3, p.283-5. 2006.

CARDOSO, M. O.; GARCIA, L. C. Jambu. In: CARDOSO, M. O. (Coord.). **Hortaliças não convencionais da Amazônia.** Manaus: EMBRAPA, CPAA, 1997. p. 133-140.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos.** Brasília: EMBRAPA, 1999. 412 p.

ESPINDOLA, C. R.; TOSIN, W. A. C.; PACCOLA, A. A. Levantamento pedológico da Fazenda Experimental São Manuel. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 14., Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1974. p. 650-651. 1973.

FALQUETO, A.R., CASSOL, D., MAGALHÃES JUNIOR, A.M., OLIVEIRA, A.C., BACARIN, M.A . Crescimento e partição de assimilados em cultivares de arroz diferindo no potencial de produtividade de grãos. **Bragantia** 68: 563-571. 2009.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In...**45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, 2000. p.255-258.

GERRERO, A.C., BORGES, L.S., FERNANDES, D.M. Efeito da aplicação foliar de silício em rúcula cultivada em dois tipos de solos. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 591-596. 2011.

LI-CHEN, W., NIEN-CHU, F., MING-HUI, L., INN-RAY, C., SHU-JUNG, H., CHING-YUAN, H., SHANG-YU, H. Anti-inflammatory Effect of Spilanthol from *Spilanthus acmella* on Murine Macrophage by Down-Regulating LPS-Induced Inflammatory Mediators. **Journal Agric. Food Chemitry.** v. 56, p.2341–2349. 2008.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil:** nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 396 p.

Poincelot, R. P., Francis, C. A., Bird, G. W. (2006). Overview of the educational social contract: Building a foundation for sustainable agriculture. In C. A. Francis, R. P. Poincelot, &

G. W. Bird (Eds.), Developing and extending sustainable agriculture a new social contract (pp. 1–24). Bringhamton, NY: Haworth Food & Agricultural Product Press™.

RAIJ, B van., ANDRADE J.C., CANTARELLA, H., QUAGGIO, J.A. 2001. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agronômico. 285 p.

TEGTMEIER, E. M., DUFFY, M. D. External costs of agricultural production in the United States. **International Journal of Agriculture and Sustainability**, 2(1), 1–19. 2004.

VIANA, S.B.A, FERNANDES, P.D., GHEYI, H.R., SOARES, F.A.L, CARNEIRO, P.T. Índices morfofisiológicos e de produção de alface sob estresse salino. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.** vol.8 n.1. Campina Grande. 2004.

CAPITULO II

COMPOSTOS FENÓLICOS, POLIAMINAS E ATIVIDADE DA PEROXIDASE EM DUAS CULTIVARES DE JAMBU (*SPILANTHES OLERACEA*), CULTIVADAS SOB ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CONVENCIONAL

Luciana da Silva Borges⁴, Marizete Cavalcante de Souza Vieira⁵, Fabio Vianello, Giuseppina Pace Pereira Lima²

4.1 RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar o teor de compostos fenólicos, carotenóides, vitamina C e poliaminas, e a atividade da peroxidase em duas cultivares de jambu (*Spilanthes oleracea*), ou seja, Jambuarana e Nazaré. Além disso, as folhas e inflorescências foram estudados para avaliar a contribuição relativa destes tecidos no potencial antioxidante do jambu. Descobrimos que a agricultura orgânica induz níveis mais altos de compostos fenólicos totais e carotenóides em folhas da cv. Jambuarana, e de espermidina e espermina em folhas e inflorescência de ambas as cultivares estudadas. Por outro lado, uma tendência clara foi mostrado de que a agricultura biológica induziu um maior teor de flavonóides em plantas de Jambu. A Adubação convencional levou ao acúmulo de nitrato em inflorescências e maior conteúdo de nitrogênio orgânico total em folhas de jambu e inflorescência. Além disso, a fertilização convencional induziu níveis mais elevados de vitamina C em folhas de cv. Jambuarana. O tipo de fertilizante não afetou a atividade da enzima peroxidase, a qual só pode ser tomada como um possível marcador para diferenciar cultivares Jambu.

Palavra Chave: *Spilanthes oleracea*, compostos fenólicos, poliaminas, peroxidase

4.2 SUMMARY:

PHENOLIC COMPOUNDS, POLYAMINES AND PEROXIDASE ACTIVITY IN TWO CULTIVARS OF JAMBU (*SPILANTHES OLERACEA*), CULTIVATED ACCORDING TO ORGANIC AND CONVENTIONAL FERTILIZATION.

⁴ Departamento de Produção Vegetal, FCA, UNESP, Campus de Botucatu, SP, Brazil.

⁵ Departamento de Química e Bioquímica, IB, UNESP, Campus de Botucatu, SP, Brazil.

The present study was aimed to determine the content of phenolic compounds, carotenoids, vitamin C and polyamines, and the activity of peroxidase in two cultivars of jambu (*Spilanthes oleracea*), namely *Jambuarana* and *Nazareth*. Furthermore, leaves and inflorescences were studied to estimate the relative contribution of these tissues in the antioxidant potential of jambu. We found that organic farming induced higher levels of total phenolics and carotenoids in *Jambuarana* leaves, and of spermidine and spermine in leaves and flowers of both the cultivars analyzed. Furthermore, a clear trend showing that organic farming induced a higher content of flavonoids in jambu plants was noted. Conventional fertilization led to nitrate accumulation in inflorescences and to higher total organic nitrogen content in jambu leaves and flowers. Moreover, conventional fertilization induced higher levels of vitamin C in leaves of cv. *Jambuarana*. The type of fertilizer did not affect the activity of the enzyme peroxidase, which can be taken only as a possible marker for differentiate Jambu cultivars.

Keyword: *Spilanthes oleracea*, phenolic compounds, polyamines, peroxidase

4.3 INTRODUÇÃO

O jambu (*Spilanthes oleracea*) pertence à família Asteraceae, nativa da Amazônia, de clima tropical. Essa planta é uma hortaliça bastante cultivada e consumida na região Norte do Brasil, principalmente no Pará. Segundo Lorenzi e Matos (2002), o jambu possui em torno de 0,7 % de óleo essencial, que está sendo fornecido direto para as indústrias de cosméticos, pela sua qualidade farmacológica. Esse efeito farmacológico se deve as suas substâncias químicas, dentre as quais, o no óleo é descrita a presença de trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno e espatulenol e espilantol (BORGES et al., 2012). Essa planta por apresentar propriedades químicas, vem despertando o interesse das empresas farmacêuticas e de cosméticos que as utilizam como matéria prima para seus produtos. Apesar dessas novidades, a hortaliça continua invisível nas estatísticas de produção e de mercado no Brasil.

Nos últimos anos, a procura por alimentos cultivados com ausência de pesticidas e com maior teor de substâncias benéficas á saúde tem crescido em todo o mundo e os consumidores tem buscado na agricultura orgânica esse tipo de alimento, mesmo que o preço seja mais alto (HOEFKENS et al., 2010). Como consequência, a agricultura orgânica tem-se expandido rapidamente. Entre 1999 a 2008, a área total de cultivo orgânico no Mundo

triplicou. No ano de 2008, aproximadamente 35 milhões de hectares se encontravam sob manejo orgânico no mundo (FiBL; IFOAM SURVEY 2010). O Brasil tem se destacado na produção de vegetais orgânicos, superando diversos países, com 1,5 milhão de hectares (MAPA, 2012).

Vários estudos mostram que o modo de cultivo orgânico interfere no teor de diversos compostos como os níveis de nitrato (CITAK; SONMEZ, 2010), cujo valor deve variar entre 1 a 10.000 mg kg⁻¹ (XIMENES et al., 2000), assim como nos níveis de compostos denominados antioxidantes (LIMA; VIANELLO, 2011; NAWROCKI, THROUP-KRISTENSEN; JENSEN, 2011), porém controvérsias tem sido apresentadas na literatura (HOEFKENS et al., 2010, SMITH-SPANGLER et al., 2012). Além do modo de cultivo, outros fatores podem interferir na composição fitoquímica, como condições climáticas, diferentes cultivares, entre outros. Pensa-se que, na ausência de pesticidas, as plantas podem conter níveis mais elevados de componentes antioxidantes, como resultado de maior síntese de fitoquímicos ativos produzidos na defesa contra estresses bióticos e abióticos (TAROZZI et al., 2006). Evidências se baseiam na hipótese de que antioxidantes contidos em frutas e vegetais podem ajudar a prevenir ou afetar o desenvolvimento de certas doenças. Há forte evidência com estudos *in vitro* do papel desses antioxidantes, principalmente em doenças cardiovasculares, câncer e condições neurológicas (WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011).

Entre os compostos antioxidantes mais conhecidos estão os compostos fenólicos, ácido ascórbico e os carotenóides, bem como uma série de outros compostos com atividade antioxidante encontrados em vegetais. Os efeitos biológicos dos compostos fenólicos estão ligados a eventos de citotoxicidade e a sua capacidade para interagir com enzimas através de complexação proteica. Além disso, os flavonóides atuam como eliminadores de radicais livres tais como as espécies reativas de oxigênio (ROS) e também impedem a sua formação por quelatão de metais de transição (POURCEL et al., 2006).

A vitamina C é um dos mais importantes antioxidantes encontrados em vegetais, sendo importante tanto para a nutrição humana, como para a indústria de alimentos (HERNANDEZ et al., 2006; RIOS; PENTEADO, 2003). Essa vitamina tem sido um dos compostos que tem sua presença aumentada em função da adubação orgânica (LIMA;

VIANELLO, 2011; CITAK; SONMEZ, 2010). Outra substância com ação antioxidante e que pode ter sua quantidade aumentada em função da adubação são os carotenóides (REIF et al., 2012; TAIE et al., 2010). Além de fazer parte do aparato fotossintético, tem ação contra espécies reativas de oxigênio. Nem só β -caroteno e sua habilidade em interagir com radicais livres, incluindo radicais peroxil (KIOKIAS et al., 2008) tem sido estudado, outros carotenóides tem mostrado o potencial de eliminar radicais livres ou oxigênio singleto e tem sido associado com menor incidência a certos tipos de câncer, assim como aumenta a proteção contra problemas cardiovasculares (REISCHE et al., 2002).

Entre as substâncias com potencial antioxidante, as poliaminas também estão relacionadas com vários processos biológicos, incluindo a divisão celular e crescimento (BEZOLD et al., 2003), morfogênese e diferenciação (PASCHALIDIS et al., 2001). Essas substâncias podem ser uma forma de proteção das plantas (BOUCHEREAU et al., 1999) ou ainda, podem promover efeitos negativos, através da sua oxidação por poliaminas oxidases (TIBURCIO et al., 1990), gerando ROS, incluindo o peróxido de hidrogênio (TOUMI et al., 2008).

Assim, como o cultivo orgânico pode interferir na composição de antioxidantes, porém, como há ainda muita controvérsia e podem ocorrer diferenças entre as cultivares, esse estudo objetivou determinar o conteúdo de compostos fenólicos, carotenóides, vitamina C e poliaminas, além da atividade da peroxidase em duas cultivares de jambu. Folhas e inflorescências foram estudadas para estimar a contribuição relativa desses tecidos no potencial antioxidante de jambu.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Obtenção da planta

O experimento foi conduzido em túnel construído com estrutura metálica em arco, com 60 m de comprimento e 6 de largura, totalizando uma área de 360 m², apresentando pé direito de 2 m. A parte superior foi revestida com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) transparente aditivado anti-UV, com 0,1 mm de espessura, em coordenadas geográficas latitude 22° 44' 50'' sul e longitude 48° 34' 00'' oeste de Greenwich, com altitude em torno de 765 m.

4.4.2 Cultivo do jambu

A semeadura foi realizada em agosto de 2010, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax®. Em cada célula foram colocadas cinco sementes de Jambu cv. Jambuarana ou Nazaré. A emergência ocorreu aos sete dias, sendo realizado o desbaste deixando uma plântula por célula. O transplante foi realizado aos 40 dias após a semeadura, manualmente, quando as mudas apresentavam-se com seis folhas definitivas, em quatro canteiros de 6 m², colocando-se 18 plantas por linha e cada canteiro constou de cinco linhas. O espaçamento utilizado foi de 20 x 25 cm. As capinas foram realizadas a cada dez dias, desde o início da instalação da cultura.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em esquema fatorial (2 x 2), com 6 repetições, sendo duas adubações (orgânica e mineral) e duas cultivares de jambu (Jambuarana e Nazaré).

Para adubação orgânica aplicou-se 8 kg/m² de esterco de curral no plantio e para adubação em cobertura foram realizadas aplicações parceladas de 1 kg/m² de torta de mamona aos 55, 70 e 80 dias após o transplante de plantas de jambu. Para a adubação mineral utilizou-se 120 g/m² de nitrato de amônia, 200 g/m² de superfosfato simples e 50 g/m² de cloreto de potássio no plantio e para a adubação em cobertura aplicou-se 50 g/m² de NPK na formulação de (15:15:20), sendo 15 partes de nitrogênio, 15 partes de fósforo e 20 partes de potássio, aos 55, 70 e 80 dias após o transplante.

A colheita foi feita pela manhã, aos 90 dias após a semeadura, na abertura do botão floral. Os ramos foram cortados a sete cm do solo. As plantas de jambu foram lavadas, separadas em folhas e inflorescência e congeladas em nitrogênio líquido e mantidas em freezer -80° C, para as avaliações bioquímicas.

4.4.3 Teor de Vitamina C

A determinação do ácido ascórbico pelo método de Tillmans foi feita por titulometria, baseando-se na redução do corante 2,6 diclorofenol-indofenol pelo ácido ascórbico. O ácido ascórbico foi colocado para reagir com o indicador oxidado o 2,6 diclorofenol-indofenol de forma a produzir um composto incolor (IAL, 2005).

4.4.4 Fenóis totais

A análise de fenóis totais foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico com o uso do reativo de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI Jr., 1965). Amostras do material seco e moído foram pesadas e colocadas em tubos de centrifuga, contendo acetona 50%. Em seguida foram levados para banho ultrassônico por 20 minutos e posteriormente centrifugados a 6.000 x g (HETTICH ZENTRIFUGEN MIKRO 220R) durante 10 minutos e o sobrenadante foi recolhido. O precipitado foi re-extraído e os sobrenadantes combinados. Alíquotas de 0,1 mL do sobrenadante foram transferidas para tubos de ensaio, juntamente com 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,5 mL de solução saturada de Na_2CO_3 . Após 1 hora de reação (completa precipitação do carbonato) a leitura de absorbância foi realizada a 725 nm (PHARMACIA BIOTECH ULTROSPEC 2000) e os resultados expressos em μg fenóis g^{-1} massa seca, em equivalente de ácido gálico.

4.4.5 Flavonóides Totais

A extração para análise dos teores dos flavonóides totais foi feita de acordo com o método de Awad et al. (2000), segundo as adaptações realizadas por Popova et al. (2004). Amostras de material fresco foram maceradas em nitrogênio líquido, pesadas e adicionado metanol acidificado 10%. Posteriormente, foram levadas para banho ultrassônico durante 30 minutos e adicionado cloreto de alumínio 5%, centrifugadas por 20 minutos a 10000 x g (JOUAN MR 18 12). Em seguida, as amostras foram filtradas e a leitura de absorbância realizada a 425 nm. Os resultados foram expressos em μg flavonóides g^{-1} massa fresca, em equivalente de rutina.

4.4.6 Carotenóides

A extração dos carotenóides totais foi realizada na matéria fresca segundo o método validado por Sims e Gamon (2002) que se basearam no coeficiente de absortividade molar (máxima capacidade de absorção de luz em determinados comprimentos de onda e solvente, determinada pela varredura em cromatógrafo líquido de alta pressão, em vários comprimentos de onda). Os pigmentos analisados pelos autores foram clorofilas, antocianinas e carotenóides em solução tamponada de acetona e também em metanol. A quantidade de material foi adaptada de acordo com as características do vegetal. As amostras pulverizadas e pesadas, foram homogeneizadas em mini-turrax (MARCONI) com 3 mL de uma solução gelada de acetona/Tris-HCl (80:20, v:v, pH 7,8 0,2M), durante 1'. A extração foi conduzida em gelo e protegida da luz. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 2000 rpm por 5 min o sobrenadante foi

imediatamente conduzido para leitura em espectrofotômetro UV/VIS (Amersham-Pharmacia-Biotech) na região do visível a 663 (clorofila a), 647 (clorofila b), 537 (antocianina) e 470 (carotenóides) nanômetros. Os valores de absorbância foram convertidos em μg de carotenóides totais. g^{-1} com base nas fórmulas deduzidas pelos autores: Carotenóides ($\mu\text{mol. mL}^{-1}$) = $\{A_{470} - [17,1.(Cl_a + Cl_b)] - 9,479.\text{antocianina}\} / 119,26$. Clorofila a ($\mu\text{mol. mL}^{-1}$) = $0,01373(A_{663}) - 0,000897(A_{537}) - 0,003046(A_{647})$. Clorofila b ($\mu\text{mol. mL}^{-1}$) = $0,02405(A_{647}) - 0,004305(A_{537}) - 0,005507(A_{663})$.

4.4.7 Atividade antioxidante (:DPPH)

Para determinação da atividade antioxidante foi utilizada a metodologia de Brand-Williams et al. (1995) modificado por Rosseto et al. (2009). A solução de DPPH foi preparada a $2,10^{-4} \text{ g mL}^{-1}$ (0,0100 mg de DPPH em 50 mL de etanol a 99,8%). Para a extração foram pesados 0.300 g da amostra fresca de jambu e diluídas em 10 mL de etanol a 99,8% em tubo para centrífuga. As amostras foram centrifugadas a $2.000 \times g$ (HETTICH ZENTRIFUGEN MIKRO 220R) por 10 minutos a 5°C . Alíquota de 0,500 μL do sobrenadante foi combinado com 3 mL de etanol P.A. Adicionados 300 μL de DPPH $2 \times 10^{-4} \text{ g.mL}^{-1}$, após a homogeneização, os tubos de ensaios foram armazenados no escuro por 60 minutos. Um controle negativo foi feito com o DPPH a 0,3mM em etanol para observar o decaimento do radical contra os antioxidantes doadores. A leitura obtida a 517 nm, foi convertida em porcentagem de atividade antioxidante pela fórmula:

$$\% \text{ DPPH reduzido} = \left(\frac{\text{Abs Branco} - \text{Abs Amostra}}{\text{Abs Branco}} \right) \cdot 100$$

Uma curva de calibração foi preparada com 20, 40, 80, 120 e 160 μmol de Trolox e os resultados foram expressos em μM equivalentes de TROLOX / mg/ g^{-1} amostra (TEAC).

4.4.8 Teores de Poliaminas

Para o teor de poliaminas, foi usado o método descrito em Lima et al. (2009). As amostras congeladas em nitrogênio líquido foram maceradas até obtenção de um pó fino. Após pesagem, o material fresco foi homogeneizado por um minuto, em ácido perclórico gelado 5 % (v/v), usando turrax (Marconi). Após centrifugação por 20 minutos a 4°C , ao sobrenadante foram adicionados cloreto de dansila (400 μL) (Sigma-Aldrich) e carbonato de sódio saturado (200 μL) (Merck). Após 16 horas em temperatura ambiente, foi adicionada prolina (100 μL) (Sigma-Aldrich) e a mistura foi mantida por 30 minutos no escuro, à temperatura ambiente. Tolueno

(Merck) 0,5 mL foi usado para extrair as poliaminas dansiladas e alíquotas sendo 30 µl de amostra e 5 µl do padrão foram aplicadas em placas de cromatografia de camada delgada (placas de vidro recobertas por sílica Gel 60G – MACHEREY-NAGEL (20 x 20 cm) e submetidas à separação em cubas de vidro, contendo clorofórmio: trietilamina (10:1) (Merck). Padrões de putrescina, espermidina e espermina (Sigma-Aldrich) foram submetidos ao mesmo processo. As poliaminas foram quantificadas, por comparação com os padrões, também aplicados nas placas, por espectroscopia de emissão de fluorescência (excitação em 350 nm e medida de emissão em 495 nm), no “Video Documentation System”, utilizando o programa “Software Image Máster”, versão 2.0 da “Amersham Pharmacia Biotech” 1995, 1996. Os teores de poliaminas livres foram expressos em µg g⁻¹ de matéria fresca.

4.4.9 Nitrato

O conteúdo de nitrato foi determinado por um ‘ion compact meter’ HORIBA (Japan) (C-141, Japão) e os resultados foram expressos em mg/L⁻¹.

4.4.10 Nitrogênio total

Cerca de 100 mg de amostras secas e moídas foram utilizadas para determinação do teor de nitrogênio orgânico total (N) através da metodologia de Kjeldahl descrita pela AOAC (1995).

4.4.11 Atividade da peroxidase (POD)

Amostras pulverizadas em nitrogênio líquido foram analisadas quanto a atividade da peroxidase (EC1.11.1.7) de acordo com método descrito por Lima al. (1999). Foram utilizados, para determinação da atividade de peróxido de hidrogênio, aminoantipirina e fenol, sendo os resultados expressos em (µmol de H₂O₂ decomposto g⁻¹ min⁻¹).

Todos os dados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise de variância. E realizou-se o teste de Tukey (1%) para a comparação de médias. As análises foram feitas no “software” SISVAR (FERREIRA, 2000).

4.5 RESULTADO E DISCUSSÃO

Sob adubação convencional, as folhas de jambu das duas cultivares (Jambuarana e Nazaré) apresentaram os maiores valores para atividade antioxidante e vitamina C (Tabela 1). Geralmente, no cultivo orgânico não é utilizado fertilizante químico, como uréia, nitrato de amônio, entre outros, fontes de N. Segundo Lee e Kader (2000), a crescente aplicação de

fertilizantes nitrogenados tende a diminuir o teor de ácido ascórbico na maioria das hortaliças, diferente do encontrado nesse trabalho, demonstrando que a aplicação de N em dose adequada, pode favorecer o teor dessa vitamina, isto é, pode ocorrer uma correlação positiva entre teor de vitamina C e suprimento de N (MULLER; HIPPE, 1987). Em revisão comparando o cultivo orgânico e o convencional, Smith-Spangler et al. (2012) afirmam que não há diferença significativa no conteúdo de vitamina C em vegetais orgânicos e convencionais, diferente dos nossos resultados e tantos outros artigos. Assim como outros compostos, evidentemente, muitos fatores podem alterar o conteúdo de vitamina C, não podendo então, esse fato ser generalizado. Estas diferenças podem ser atribuídas às condições de crescimento, localização do cultivo, cultivares, entre outras (LEE; KADER, 2000).

Tabela 1: Atividade antioxidante (TEAC mg/ g⁻¹), fenóis (mg 100 g⁻¹), flavonóides (mg 100 g⁻¹), carotenóides (mg 100 g⁻¹), vitamina C (mg 100 g⁻¹), nitrato (mg/L⁻¹) e nitrogênio (%) em folhas de duas cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.

Cultivar	Atividade	Fenóis	Flav.	Carot.	Vit. C	Nitrato	N
A. Orgânica							
Jambuarana	0.20 bA*	588.65aA	9.32 aA	53.61 aA	13.21 bA	1566.66 aB	0.29 bA
Nazaré	0.20 bA	559.96aA	8.79 aA	49.82 aA	13.09 bA	2100.00 aA	0.25 bB
A. Mineral							
Jambuarana	0.40 aA	508.95 bA	9.55 aA	37.89 bA	19.96 aA	1733.33 aA	0.59 aA
Nazaré	0.31 aB	439.95 bB	6.09 bB	36.41 bA	15.95 aB	1833.33 aA	0.32 aB
Cultivar	**	**	**	ns	**	ns	**
Adubação	**	**	**	**	**	ns	**
Int. (AxC)	**	**	**	ns	**	ns	**
CV(%)	5.39	6.98	6.39	10.32	5.24	10.30	4.92

* Letras minúsculas comparam médias entre adubações para cada cultivar . Letras maiúsculas comparam médias das cultivares dentro de cada adubação. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey à 1% de probabilidade. (N=4). Flav.: Flavonoide. Carot.: Carotenoide. Vit. C: Vitamina C. N: Nitrogênio.

Tabela 2: Atividade antioxidante (TEAC mg/ g⁻¹), fenóis (mg 100 g⁻¹), flavonóides (mg 100 g⁻¹), carotenóides (mg 100 g⁻¹), vitamina C (mg 100 g⁻¹), nitrato (mg/L⁻¹) e nitrogênio (%) em inflorescência de duas cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.

Cultivar	Potencial	Fenóis	Flav.	Carot.	Vit. C	Nitrato	N
A. Orgânica							
Jambuarana	0.20 aA*	292.81 aA	4.10 aA	424.77 aA	9.62 aA	1525.00 bB	0.23 bB
Nazaré	0.20 aA	303.95 aA	3.87 aA	379.69 aA	10.83 aA	1950.00 bA	0.29 bA
A. Mineral							
Jambuarana	0.20 aA	307.59 aA	4.17 aA	255.11 bA	9.45 aA	1725.00 aB	0.53 aB
Nazaré	0.16 bB	271.50 aB	3.80 aA	252.67 bA	8.33 bB	2100.00 aA	0.61aA
Cultivar	**	**	ns	ns	**	**	**
Adubação	**	ns	ns	**	**	**	**
Int. (AxC)	**	ns	ns	ns	ns	ns	NS
CV(%)	3.29	6.91	8.59	9.44	12.86	4.47	6.23

* Letras minúsculas comparam médias entre adubações para cada cultivar . Letras maiúsculas comparam médias das cultivares dentro de cada adubação. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey à 1% de probabilidade.(N=4). Flav.: Flavonoide. Carot.: Carotenoide. Vit. C: Vitamina C. N: Nitrogênio.

Os nossos resultados não são únicos, pois muitos outros mostram a mesma tendência, como estudos que demonstram maior teor dessa vitamina em cultivo convencional (HAKALA et al., 2003; CARDOSO et al., 2011). Os valores encontrados de vitamina C para jambu foram menores que outras hortaliças, como espinafres cultivados de modo convencional ou orgânico, além da diferenciação dos resultados obtidos entre o cultivo orgânico e mineral (CITAK; SONMEZ, 2010).

As inflorescências (Tabela 2) cv. Nazaré sob adubação mineral contém os menores teores de vitamina C e menor atividade antioxidante. Por outro lado, enquanto nas folhas há uma nítida tendência de maior teor de compostos fenólicos nas duas cultivares sob adubação orgânica, nas inflorescências esse resultado não se repete.

A maior atividade antioxidante observada nas folhas das plantas de cultivo mineral pode ser atribuída ao teor de vitamina C e numa análise geral dos dados obtidos, as folhas da cultivar Jambuarana tem maior potencial para produção de compostos com atividade

antioxidante, comparada com a cultivar Nazaré, entretanto a análise das inflorescências não mostra uma tendência definida, a não ser para os teores de carotenóides. A capacidade antioxidante de tecidos vegetais pode ser atribuída a alguns fitoquímicos, incluindo carotenóides, ácido ascórbico, compostos fenólicos (WANG; LIN, 2000) e a vitamina C é um dos mais importantes antioxidantes encontrados em vegetais (ODRIOZOLA-SERRANO et al., 2007).

Nesse estudo, o teor de nitrato em folhas (Tabela 1) não mostrou diferença significativa entre adubação e entre as cultivares. Nas inflorescências (Tabela 2), os níveis foram maiores no cultivo convencional. Como nas inflorescências, os teores de N foram maiores em adubação convencional, este efeito poderia ser um indicativo do acúmulo de nitrato, entretanto esse resultado não ocorreu quando se analisa os teores de N em folhas de jambu, nas duas variedades. Maiores teores de nitrato têm sido descritos em plantas cultivadas sob adubação mineral (WINTER; DAVIES, 2006), provavelmente pela adubação utilizada, ou seja, geralmente, os fertilizantes são usados durante todo o ciclo de cultivo, promovendo um aumento nos níveis de certos elementos. Mozafar (1993) concluiu que aumento nas taxas de N no solo resulta numa diminuição nos níveis de vitaminas e fitonutrientes, com o aumento dos teores de $\text{NO}_3\text{-N}$.

O interesse em consumir vegetais com maior teor de vitamina C e baixo nitrato é na saúde. A vitamina C age como cofator de diversas enzimas e em processos envolvendo expressão gênica e também com isoenzimas que são capazes de catalisar a formação de óxido nítrico (NO) a partir de nitratos orgânicos e essa vitamina tem apresentado potencial preventivo no desenvolvimento de tolerância a nitrato (HINZ ; SCHROËDER, 1998). O nitrato oriundo de vegetais consumidos na alimentação pode ser convertido em nitrito, óxido nítrico e outros produtos de reações secundárias, podendo exercer efeitos protetores no sistema cardiovascular (LUNDBERG et al., 2006).

O cultivo em meio orgânico induziu maiores valores de fenóis em folhas (Tabela 1). O fato de o cultivo orgânico excluir o uso de pesticidas sintéticos e fertilizantes solúveis, justificaria os resultados das folhas de jambu orgânico quanto ao teor dos compostos fenólicos, pois essas substâncias geralmente apresentam incremento na síntese em resposta ao ataque de patógenos, e nesse caso, o uso de alguns insumos agrícolas estaria protegendo a

planta, evitando os danos induzidos por fatores bióticos, como microorganismos e outros patógenos. Por outro lado, as inflorescências não apresentaram diferença nos níveis de fenóis, entretanto, tanto as folhas, como as inflorescências da cultivar Nazaré, cultivadas sob adubo mineral apresentaram valores inferiores a ‘Jambuarana’.

Não ocorre diferenciação significativa para os teores de flavonóides totais nas inflorescências (Tabela 2), enquanto que nas folhas de jambu cultivado sob fertilização convencional, maiores teores desse composto é observado somente na cv Jambuarana (Tabela 1). De acordo com os resultados obtidos por Arbos et al. (2010) com relação a quantificação dos compostos fenólicos influenciado pelo modo de cultivo, o teor dessas substâncias reconhecidas pela sua ação protetora ao organismo humano, as hortaliças folhosas (rúcula, almeirão e alface) provenientes de cultivo orgânico apresentaram valores superiores aos obtidos das hortaliças convencionais. Muitos autores afirmam que o cultivo orgânico, como um fator pré-colheita, influencia potencialmente os níveis de alguns antioxidantes, principalmente compostos fenólicos totais e flavonóides (ASAMI et al., 2005, FALLER; FIALHO, 2009). Entretanto, neste trabalho, em relação aos flavonóides nas folhas e inflorescências, não há uma tendência nítida que os vegetais cultivados em cultivo orgânico, apresentem maiores valores.

Foi detectado maior teor de carotenóides totais nas folhas (Tabela 1) e inflorescências (Tabela 2) do cultivo orgânico. Provavelmente, esse efeito pode ser atribuído aos fertilizantes usados. Controvérsias são encontradas na literatura, alguns estudos mostram que aumento do teor de nitrogênio promove efeito negativo na concentração de carotenóides em *Thymus vulgaris* (tomilho) (BARANAUSKIENE et al., 2003), uma hortaliça produtora de óleo essencial; entretanto, pode induzir aumento no teor de β -caroteno em espinafre (KANSAL et al., 1981). Os carotenóides estão associados aos cloroplastos e sua ação como transportador de energia e como uma molécula antioxidante, pode sofrer influência da adubação. O modo de cultivo interfere no teor de carotenóides (REIF et al., 2012) e um efeito promotor da fertilização orgânica no conteúdo de clorofilas e carotenóides pode ser atribuído ao fato do nitrogênio ser um constituinte da molécula da clorofila (TAIE et al., 2010). Além disso, nitrogênio é constituinte de aminoácidos que juntamente com os lipídeos, agem como composto estrutural dos cloroplastos (Al-TARWNEH, 2005). Por outro lado, o conteúdo de

carotenóides em vegetais pode variar largamente em razão da variedade, condições de cultivo, clima e idade (BOTELHO et al., 2003; BARANAUSKIENE et al., 2003), o que pode ter também influenciado nos valores obtidos.

Além dos compostos já descritos terem mostrado alterações, as poliaminas parecem terem sido afetadas pelo modo de cultivo. A adubação orgânica influenciou apenas o teor de putrescina (Tabela 3) das folhas da cultivar Jambuarana, enquanto que nas inflorescências, não ocorre diferença entre os tipos de adubação ou cultivares quando se analisa essa diamina. Em folhas de jambu, na cv. Nazaré, os níveis de espermidina foram menores sob adubação convencional, enquanto que sob cultivo orgânico, as inflorescências de ambas cultivares mostraram maiores teores de espermidina, semelhante ao encontrado para os teores de espermina em folhas e inflorescências.

Tabela 3: Teor de poliaminas entre cultivares de jambu, sob adubação orgânica e mineral.

Cultivar	Put	Spd	Spm	Put	Spd	Spm
	Folha			Inflorescência		
	A. Orgânica					
Jambuarana	1.706 aA	0.773 aB	1.823 aB	1.1966 aA	0.563 aB	1.330 aB
Nazaré	1.176 aB	1.246 aA	4.050 aA	1.270 aA	1.013 aA	2.083 aA
A. Mineral						
Jambuarana	1.280 bA	0.620 aA	0.796 bA	1.210 aA	0.297 bB	0.986 bB
Nazaré	1.236 aA	0.943 bA	1.363 bA	1.233 aA	0.890 bA	1.533 bA
Cultivar	**	ns	**	ns	**	ns
Adubação	**	**	**	ns	**	**
Int. (Ax C)	**	**	**	ns	**	**
CV(%)	8.84	13.22	10.39	4.13	10.79	6.26

Letras minúsculas comparam médias entre adubações para cada cultivar. Letras maiúsculas comparam médias das cultivares dentro de cada adubação. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey à 1% de probabilidade. (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm)

Acredita-se que as poliaminas atuam na proliferação e diferenciação celular (BARDÓCZ et al., 1996), além da sua ação como antioxidante (LIMA; VIANELLO, 2011). Por isso a relação putrescina/(espermidina + espermina) é geralmente correlacionada com o alongamento celular, pois de acordo com a literatura, a transformação de putrescina para

espermidina e finalmente, para espermina, é importante no controle da divisão celular (GALSTON; KAUR-SAWHNEY, 1995). Dessa forma, a alta relação indica menor crescimento e, portanto, jambu produzido no cultivo orgânico tenderia a mostrar maiores produtividades. Nesse estudo, levando em consideração as adubações e cultivares utilizadas, essa relação não pode ser considerada válida. A produtividade não mostrou diferenças significativas entre os modos de produção para folhas de Jambuarana ($2,61 \text{ kg m}^{-2}$) orgânica e convencional ($2,98 \text{ kg m}^{-2}$), nem para as inflorescências ($1,03 \text{ kg m}^{-2}$ na adubação orgânica e $1,01 \text{ kg m}^{-2}$ na adubação convencional). Apenas as folhas da cultivar Nazaré apresentaram maior produtividade ($2,96 \text{ kg m}^{-2}$ na adubação convencional e $1,31 \text{ kg m}^{-2}$ na orgânica), enquanto as inflorescências convencionais ($0,77 \text{ kg m}^{-2}$) não diferiram daquelas cultivadas sob adubação orgânica ($0,72 \text{ kg m}^{-2}$).

Diversos estudos relatam que a redução desta relação poderia ser um fator de proteção das plantas contra condições adversas (BOUCHEREAU et al., 1999; CAPELL et al., 2004), enquanto outros estudos apontam que o acúmulo de putrescina poderia causar efeitos negativos no desenvolvimento das plantas, incluindo perdas de proteínas, despolarização das membranas e necrose (TIBURCIO et al., 1990).

Esse efeito negativo no desenvolvimento de plantas causado por algumas enzimas que oxidam poliaminas induz a formação de ROS (espécies reativas de oxigênio) por diaminas oxidases ou outras aminas oxidases, as quais danificariam as membranas (TOUMI et al., 2008). Essas ROS incluem peróxido de hidrogênio, substrato da enzima peroxidase, que pode muitas vezes, ter ação semelhante a poliamina oxidase (PAPADAKIS; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2005).

Como a adubação orgânica geralmente induz aumento nos níveis de compostos antioxidantes, que podem proteger a planta contra muitas ROS geradas durante o metabolismo, a atividade da peroxidase esperada no cultivo orgânico seria diferente do cultivo mineral. Em folhas, a peroxidase não mostra variações significativas entre as adubações, somente entre as cultivares (Figura 1A). Por outro lado, nas inflorescências (Figura 1B), sob adubação mineral, as folhas de Jambuarana apresentam maior atividade da peroxidase, onde ocorrem os menores teores das poliaminas espermidina e espermina. Nesse estudo, a atividade da peroxidase analisada foi suficiente para diferenciar apenas as cultivares, isto é, as folhas da

cultivar Jambuarana mostram maior valor, o que poderia estar relacionado com os outros dados obtidos, como os níveis de compostos fenólicos, carotenóides e vitamina C, um aparato antioxidante diferenciado em relação a cultivar Nazaré, o que nos levaria a supor, maior resistência a fatores adversos do meio. Outros estudos também relacionam maior atividade de enzimas oxidativas, como a classe das peroxidases com a interrupção de cascatas de eventos durante processos de oxidação e detoxificação de ROS em células (LEE et al., 2007), entretanto, em certos casos, uma simples enzima antioxidativa não fornece proteção suficiente contra danos promovidos por estresse (TORSETHAUGEN et al., 1997) ou mesmo informações sobre o processo de oxidação ou do sistema de proteção contra a produção de ROS.

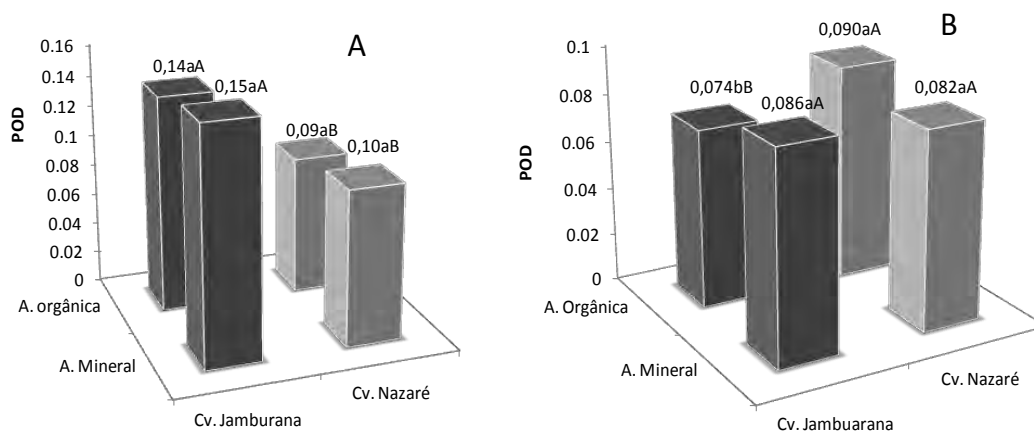


Figura1: Atividade enzimática da POD em folhas (A) e Inflorescências (B) de duas cultivares de Jambu, sob adubação orgânica e mineral. Letras minúsculas comparam adubações e letras maiúsculas comparam cultivares.

4.6 CONCLUSÃO

Numa possível diferenciação entre modo de cultivo e entre cultivares de jambu conclui-se que o cultivo orgânico induziu maiores teores de fenóis totais em folhas e de carotenóides, espermidina e espermina em folhas e inflorescências das duas cultivares analisadas. Não há tendência nítida do cultivo orgânico induzir maiores teores de flavonóides.

O acúmulo de nitrato ocorreu em inflorescências de jambu sob cultivo convencional e o teor de Nitrogênio foi maior sob adubação convencional em folhas e inflorescências.

Cultivo convencional induziu maiores teores de vitamina C em folhas da cv. Jambuarana.

O tipo de adubação não influenciou a enzima peroxidase, que pode ser tomada apenas como possível marcador para cultivares de Jambu.

4.7 AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado à primeira autora.

4.8 REFERENCIAS

ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 30, 501-506. 2010.

AOAC. **Official Methods of Analysis**. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA., 1995.

Al-TARWNEH, A. A. **The effects of two types of organic manure and NPK on growth, yield and quality of lettuce and strawberry**. Mu'tah University. M. Sc. Thesis. 2005.

AWAD, M. A., DE JAGER, A., VAN WESTING, L. M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. **Scientia Horticulturae**, 83, 249-263. 2000.

ASAMI, D.K.; HONG, Y.J.; BARRETT, D.M.; MITCHELL, A.E. Comparison of the total phenolic and AA content of freeze-dried and air-dried marionberry strawberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, pp. 1237–1241. 2005.

BARDÓCZ, S.; WHITE, A.; GRANT, G.; BROWN, D.S.; DUGUID, T.J.; PUSZTAI, A. Uptake and bioavailability of dietary polyamines. **Biochemical Society Transactions**, 24, 226. 1996.

BARANAUSKIENEŲ, R.; VENSKUTONIS, P.R.; VISYKELIS, P.; DAMBRAUSKIENE, E. Influence of Nitrogen Fertilizers on the Yield and Composition of Thyme (*Thymus vulgaris*). **J. Agric. Food Chem.**, 51, 7751-7758. 2003.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I.-The quantitative analysis of phenolic constituents. **Lebensm Wiss Technology**, 28, 25-30. 1995.

BEZOLD, T.N.; LOY, J.B.; MINOCHA, S.C. Changes in the cellular content of polyamines in different tissues of seed and fruit of a normal and a hull-less seed variety of pumpkin during development. **Plant Science**, v.164, p.743–752, 2003.

BORGES, L.S. ; VIANELLO, F. ; MARQUES, M. O. M. ; Lima, Giuseppina P. P. Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization and Essential Oil of *Spilanthes oleracea*. *American Journal of Plant Physiology*, 2012.

BOUCHEREAU, A. et al. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Science**, v.140, p.103- 125, 1999.

BOTELHO, R.V.; PIRES, E.J.P.; TERRA, M.M.; CARVALHO, C.R.L. Efeitos do thidiazuron e do ácido giberélico nas características dos cachos e bagas de uvas ‘Niagara Rosada’ na região de Jundiaí- SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.96-99, 2003.

CARDOSO, P.C.; TOMAZINI, A.P.B.; STRINGHETA, P.C.; RIBEIRO, S.M.R.; PINHEIRO-SANT’ANA, H.M. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry**, 126, 411–416. 2011.

CAPELL T.; BASSIE L.; CHRISTOU P. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. **Proceedings of National Academy of Sciences**, 101:9909-9914. 2004.

CITAK, S.; SONMEZ, S. Influence of organic and conventional growing conditions on the nutrient contents of white head cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata) during two successive seasons. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58 (3), pp. 1788–1793. 2010.

FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. **Food Research International**, 42, 210–215. 2009.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000. São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FiBL–IFOAM Survey. Organic Agriculture Worldwide: The main results of the. 2010. <http://www.biofach.fibl.org/fileadmin/documents/de/biofach/2010/fibl-ifoam-2010-world-of-organic-presentation-biofach.pdf>. Acesso em 10/10/2012.

GALSTON, A.W.; KAUR-SAWHNEY R. Polyamines as endogenous growth regulators. **In:** Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology (2nd edn). Davies PJ (Ed). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 158-178, 1995.

HAKALA, M.; LAPVETELÄINEN, A.; HUOPALAHTI, R.; KALLIO, H.; TAHVONEN, R. Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, 16:67-80. 2003.

HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry** 96: 654 – 664, 2006.

HINZ B.; SCHRÖDER H. Vitamin C attenuates nitrate tolerance independently of its antioxidant effect. **FEBS Lett.** 428:97–99.1998.

HOEFKENS, C.; SIOEN, I.; BAERT, K.; MEULENAER, B.; HENAUW, S.; VANDEKINDEREN, I.; DEVLIEGHERE, F.; OPSOMER, A.; VERBEKE, W.; VAN CAMP, J. Consuming organic versus conventional vegetables: The effect on nutrient and contaminant intakes. **Food and Chemical Toxicology**. 48. 3058–3066. 2010.

KANSAL, B. D.; SINGH, B.; BAJAJ, K. L.; KAUR, G. Effect of different levels of nitrogen and farmyard manure on yield and quality of spinach (*Spinacea oleracea* L.). **Plant foods for human nutrition (formerly qualitas plantarum)**. Volume 31, N. 2 , 163-170. 1981.

KIOKIAS, S., VARZAKAS, T., OREOPOULOU, V. In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 48, 78-93. 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Brasil - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. IV ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

LEE, S.K.; KADER, A.A. Pre-harvest and post-harvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biol. Technol.** 20, 207-220. 2000.

LEE, SANG-HOON.; AHSANA, N.; KI-WON LEE, DO-HYUN KIM, DONG-GI LEE, SANG-SOO KWAK, SUK-YOON KWON, TAE-HWAN KIM, BYUNG-HYUN LEE. Simultaneous overexpression of both CuZn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses. **Journal of Plant Physiology**. 1626- 1638. 2007.

LIMA, G.P.P et al. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**, v.56, p.21-25, 1999.

LIMA, G. P. P. et al. Nutritional composition and phenolic compounds and nitrate content in eatable vegetables obtained by conventional and certified organic grown culture. **International Journal of Food Science & Technology**, 2009.

LIMA, G.P.P.; VIANELLO, F. 2011. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. **International Journal of Food Science & Technology**, 1:1-13. 2011.

LORENZI H.; MATOS F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 396 p. 2002.

LUNDBERG, J. O., FEELISCH M., BJÖRNE, H.; , JANSSON, E.A.; WEITZBERG, E. Cardioprotective effects of vegetables: Is nitrate the answer?. **Nitric Oxide**. 15 (2006) 359–362.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). <http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/organicos>. acesso em 12/10/2012.

MOZAFAR, A. Nitrogen fertilizers and the amount of vitamins in plants: A review. **J. Plant Nutr.** 1993, 16, 2479–2506.

MULLER, K.; HIPPE, J. Influence of differences in nutrition on important quality characteristics of some agricultural crops. **Plant and Soil**, v. 100, n. 1-3, p. 35-45, 1987.

NAWROCKI, A.; THORUP-KRISTENSEN, K.; JENSEN, O.N. Quantitative proteomics by 2DE and MALDI MS/MS uncover the effects of organic and conventional cropping methods on vegetable products. *J Proteomics*. 18;74(12):2810-25. 2011.

PASCHALIDIS, K.A.; AZIZ, A.; GENY, L.; PRIMIKIRIOS, N.I.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Polyamines in grapevine. In KA Roubelakis-Angelakis, ed, *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, The Netherlands, pp 109–152. 2001.

PAPADAKIS, A.K.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Polyamines inhibit NADPH oxidase-mediated superoxide generation and putrescine prevents programmed cell death syndrome induced by the polyamine oxidase-generated hydrogen peroxide. **Planta**, v.220, p.826-837, 2005.

POURCEL, L.; ROUTABOUL, J.; CHEYNIER, V.; LEPINIEC, L.; DEBEAUJON, I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*, 12: 1 1360-1385. 2006.

POPOVA, M.; BANKOVA, V.; BUTOYSKA, D.; PETKOV, V.; NIKOLOVA-DAMYANOVA, B.; SABATINI, A.G.; MARCAZZAN, G.L.; BOGDANOV, S. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemical Analysis**, 15, 235–240. 2004.

RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C. Vitamina C. In Penteado, M. V. C., **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. p. 201-225. São Paulo: Manole. 2003.

REIF, C.; ARRIGONI, E.; NEUWEILER, R.; BAUMGARTNER, D.; NYSTRÖM, L.; HURRELL, R.F. Effect of sulfur and nitrogen fertilization on the content of nutritionally relevant carotenoids in spinach (*Spinacia oleracea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2012.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. **Food Chemistry**, London, v. 105, n.3, p.1151-1158, 2007.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants. In C. Akoh, & D. Min (Eds.). **Food lipid chemistry, nutrition and biotechnology**.489-502. New York: Marcel Dekker. 2002.

ROSSETTO, M. R. M., VIANELLO, F., ROCHA, S. A., LIMA, G. P. P. Antioxidant substances and pesticide in parts of beet organic and conventional manure. **African Journal of Plant Science**, 3, 245-253.2009.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am J Enol Vit**, 16, pp. 144–158. 1965.

SIMS, D. A., GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of Environment**, v. 81, p. 337– 354, 2002.

SMITH-SPANGLER, C.; BRANDEAU, M. L.; HUNTER, G. E.; BAVINGER J. C.; PEARSON, M.; ESCHBACH, P. J.; SUNDARAM, V.; LIU, H.; SCHIRMER, P.; STAVE, C.; OLKIN, I.; BRAVATA, D. M. Are Organic Foods Safer or Healthier Than Conventional Alternatives?. **Annals of Internal Medicine**, 157, 1-19. 2012.

WANG, S.Y.; LIN, H.S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.2, p.140-146, 2000.

WINTER, C. K.; DAVIS, S. F. Organic foods. **Journal of Food Science**, 71(9), R117–R124, 2006.

WOOTTON-BEARD, P.C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion, measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin Ciocalteu methods. **Food Res Int**. 44:217-224. 2011.

TAIE, H. A., SALAMA, Z. A. R., RADWAN, S. Potential Activity of Basil Plants as a Source of Antioxidants and Anticancer Agents as Affected by Organic and Bio-organic Fertilization. **Not. Bot. Hort. Agrobot.** 38 (1) , 119-127. 2010.

TAROZZI, A.S., HRELIA, C., ANGELONI, F., MORRONI, P., BIAGI, M., GUARDIGLI, G., CANTELLI-FORTI, P., HRELIA, P. Antioxidant effectiveness of organically and non-organically grown red oranges in cell culture systems. **Eur. J. Nutr.** 45, 152–158. 2006.

TOUMI, I.; M. GARGOURI, M.; NOUAIRI, I.; MOSCHOU, P. N.; BEN SALEM-FNAYOU, A.; MLIKI, A.; ZARROUK, M.; GHORBEL, A. Water stress induced changes in the leaf lipid composition of four grapevine genotypes with different drought tolerance. **Biol Plant.** 161–164. 2008.

TIBURCIO, A.F.; KAUR-SAWHNEY, R.; GALSTON, A.W. Polyamine metabolism. In: Intermediatory Nitrogen Metabolism. **The Biochemistry of Plants.** Mifflin B.J. and Lea P.J (Ed). Academic Press. 283-325, 1990.

TORSETHAUGEN G.; PITCHER L.H.; ZILINSKAS B.A.; PELL E.J. Overproduction of ascorbate peroxidase in the tobacco chloroplast does not provide protection against ozone. **Plant Physiol.** 114:529–37. 1997.

CAPITULO III

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE JAMBU (CV. JAMBUARANA E NAZARÉ) EM ADUBAÇÃO ORGÂNICA E CONVENCIONAL E SEU POTENCIAL ANTIFÚNGICO.

Luciana da Silva Borges, Clarissa Hamaio Okino, Kelly de Nazaré Nunes, Rosangela Assis Jacques, Giuseppina Pace Pereira Lima

5.1 RESUMO

Nesta pesquisa, objetivou-se a obtenção e caracterização do óleo essencial de jambu cultivado de modo orgânico e convencional e seu possível efeito fungicida. O óleo essencial de folhas e inflorescências de duas cultivares (Jambuarana e Nazaré) foi obtido pela técnica de “arraste a vapor d’água”, usando um aparelho de Clevenger modificado e submetido, posteriormente, à análise por CG acoplada a um espectrômetro de massas CG-EM, a fim de analisar sua composição química. Além disso, foi testada a atividade antifúngica sobre *Aspergillus niger*. O óleo de *Spilanthes oleracea* mostra diferenças entre as cultivares e entre os órgãos estudados, em função de sua fenologia. O maior potencial antifúngico observado foi obtido de inflorescências da cv. Nazaré orgânica. Esta espécie é promissora produtora de óleos essenciais de alto valor agregado.

Palavra- Chave: *Spilanthes oleracea*, CG/MS, óleo essencial, *Aspergillus niger*.

5.2 ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF JAMBU (CV JAMBUARANA AND NAZARETH) AND ITS ORGANIC AND CONVENTIONAL ANTIFUNGAL POTENTIAL

This research aimed to obtaining and characterization of essential oil jambu grown organically and conventional fungicide and its possible effect. The essential oil from leaves and flowers of the two cultivars (Jambuarana and Nazareth) was obtained by the technique of "drag the water vapor", using a modified Clevenger apparatus and subjected subsequently analyzed by GC coupled to a mass spectrometer GC-MS in order to analyze their chemical composition. Furthermore, we tested the antifungal activity against *Aspergillus niger*. The oil *Spilanthes*

oleracea shows differences among cultivars and among the organs studied, due to its phenology. The highest antifungal potential of inflorescences observed was obtained from cv. Nazareth organic. This species is promising producer of essential oils with high added value.

Keyword: *Spilanthes oleracea*, CG / MS, essential oil, *Aspergillus niger*

5.3 INTRODUÇÃO

O jambu (*Spilanthes oleracea*) pertence à família Asteraceae, nativa da Amazônia, de clima tropical. Essa planta é uma hortaliça bastante cultivada e consumida na região Norte do Brasil, principalmente no Pará. Segundo Lorenzi e Matos (2002), o jambu possui em torno de 0,7 % de óleo essencial, que está sendo fornecido direto para as indústrias de cosméticos, pela sua qualidade farmacológica. Esse efeito farmacológico se deve as suas substâncias químicas, dentre as quais, trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno, espatulenol e espilantol (BORGES et al., 2012). Essa planta por apresentar propriedades químicas, vem despertando o interesse das empresas farmacêuticas e de cosméticos que as utilizam como matéria prima para seus produtos.

Substâncias presentes em óleos essenciais de diversas plantas podem apresentar atividade fungicida (ZUZARTE et al., 2012) e o aumento da incidência de infestações causadas por fungos em alimentos tem levado a uma busca constante por alternativas naturais eficazes que possam oferecer melhores opções de tratamento. Alimentos, processados ou crus são materiais vulneráveis a contaminação por fungos, em particular por *Aspergillus* spp., a maior causa de contaminação de alimentos em países tropicais (WHITFIELD, 2004).

Deste modo, um estudo detalhado sobre a atividade antifúngica do óleo essencial de espécies *Spilanthes oleracea* (Jambu) é importante para sua validação como substância que pode ser usada na indústria de alimentos, como possível coadjuvante na sanitização. Com isso, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição química do óleo essencial de diferentes partes de duas cultivares de jambu cv. Jambuarana e cv. Nazaré, cultivadas de modo orgânico ou convencional, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa e avaliar seu potencial antifúngica sobre *A. niger*.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Obtenção da planta

O experimento foi conduzido em túnel construído com estrutura metálica em arco, com 60 m de comprimento e 6 de largura, totalizando uma área de 360 m², apresentando pé direito de 2 m. A parte superior foi revestida com filme de polietileno de baixa densidade (PEBD) transparente aditivado anti-UV, com 0,1 mm de espessura, em coordenadas geográficas latitude 22° 44' 50'' sul e longitude 48° 34' 00'' oeste de Greenwich, com altitude em torno de 765 m.

5.4.2 Cultivo do jambu

A semeadura foi realizada em agosto de 2010, em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, contendo o substrato comercial Plantmax®. Em cada célula foram colocadas cinco sementes de Jambu cv. Jambuarana ou cv. Nazaré. A emergência ocorreu aos sete dias e o desbaste deixou uma plântula por célula. O transplante foi realizado aos 40 dias após a semeadura, manualmente, quando as mudas apresentavam-se com seis folhas definitivas, em quatro canteiros de 6m², colocando-se 18 plantas por linha e cada canteiro constou de cinco linhas. O espaçamento utilizado foi de 20 x 25 cm.

Para adubação orgânica aplicou-se 8 kg/m² de esterco de curral no plantio e para adubação em cobertura foram realizadas aplicações parceladas de 1kg/m² de torta de mamona aos 55, 70 e 80 dias após o transplante de plantas de jambu. Para a adubação mineral utilizou-se 120 g/m² de nitrato de amônia, 200 g/m² de superfosfato simples e 50 g/m² de cloreto de potássio no plantio e para a adubação em cobertura aplicou-se 50 g/m² de NPK na formulação de (15, 15, 20), aos 55, 70 e 80 dias após o transplante.

A colheita foi feita pela manhã, aos 90 dias após a semeadura, na abertura do botão floral. Os ramos foram cortados a sete cm do solo. As plantas de jambu foram lavadas, separadas em folhas e inflorescência, levadas ao laboratório para secagem em estufa de circulação forçada de ar, a 40 °C, até peso constante e em seguida foram moídas em moinho de aço-inóx, tipo Wiley.

5.4.3 Extração do óleo essencial

As folhas e as inflorescências secas foram moídas e submetidas, separadamente, a hidro-destilação em aparelho de Clevenger por duas horas, para a obtenção dos óleos essenciais. Os óleos obtidos foram separados da fase aquosa por partição líquido-líquido com diclorometano (Figura 1 e 2).

5.4.4 A separação e a quantificação: Análise cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As análises empregando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas no cromatógrafo gasoso (GC-QP2010 PLUS, Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado com espectrômetro de massas (QP 2010 PLUS), usando uma coluna capilar de sílica fundida OV-5 (5% de fenil-dimetilpolysiloxano), (60 m de comprimento x 0,25 mm diâmetro, 0,10 μm de espessura de filme), sob as seguintes condições: gás carregador de hélio (99,999% e velocidade de fluxo de 1,0 mL min^{-1}); volume de injeção de 1 μL , modo splitless, com temperatura de forno inicial de 40 a 280 $^{\circ}\text{C}$ até 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Temperaturas do injetor, detector de quadrupolo e da linha de transferência foram de 280 $^{\circ}\text{C}$. Os parâmetros de varredura do MS incluíram voltagem de ionização de impacto de elétron de 70 eV, uma faixa de massa de 45 a 700 m/z e um intervalo de varredura de 0,2 s. Os índices de retenção foram calculados usando uma mistura de n-alcanos ($\text{C}_8\text{-C}_{28}$) como referência externa (Figura 3).

5.4.5 Identificação das substâncias:

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 2.0) e índice de retenção de Kovats (ADAMS, 2001).

5.4.6 Atividade antimicrobiana in vitro

Óleo essencial do jambu foi levado ao laboratório de microbiologia do Departamento de Química e Bioquímica, do IBB, UNESP, campus de Botucatu, para verificação da sua atividade antifúngica.

5.4.7 Obtenção de isolados do patógeno

Placas de Petri contendo ágar Müeller-Hinton foram inoculadas com fungo *Aspergillus niger*. As colônias fúngicas foram transferidas para placas de Petri, contendo meio de cultura BDA, com auxílio de estilete, em câmara de fluxo e condições assépticas (TUIE, 1969) (Figura 4).

Alíquotas do óleo essencial (5 µL) do jambu foi incorporado sobre superfície do ágar das placas inoculadas para a constituição dos tratamentos (Figura 5). As placas foram incubadas em câmara de crescimento com temperatura controlada para 25 ± 1 °C, em ausência de luz. As avaliações do experimento foram realizadas diariamente, através de observação do crescimento micelial.

5.5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.5.1 Quantificação e qualificação do óleo essencial

No óleo de ambas cultivares, dos dois modos de cultivo, tanto em folhas, como inflorescências, verificou-se a presença de 27 compostos, perfazendo um total de 64,82 %. Na tabela 1 estão apresentados os dados médios da composição química obtida nos órgãos das cultivares estudadas, dos dois modos de cultivo. Na análise por CG-MS, verifica-se que os compostos majoritários foram cis- β -guaieno, carotol, β -acarenol, dictamnole, flavenosa, drima-7,9(11)-dieno e leptospermone. Esses resultados diferem de outros relatos com jambu (BORGES et al., 2012; DIAS et al., 2012). Outros estudos prévios, com outras espécies, mostram que a composição do óleo é dependente de fatores abióticos e bióticos (BERTOLI et al., 2003; CAKIR et al., 2005).

Tabela 1: Composição química de óleo essencial de *Spilanthes oleraceae*.

Picos	Compostos	t ret	Área %	Índice calculado	IK lit.
1	Evadone	33,750	0,10	1341	(1340)
2	Dictamnol	37,506	4,95	1429	(1430)
3	γ -Elemene	37,967	0,26	1440	(1437)
4	Dehydro aromadrendane	38,921	0,49	1463	(1463)
5	Drima-7, 9(11)-diene	39,382	3,09	1474	(1473)
6	Germacrene D	40,039	0,29	1490	(1485)
7	Cis –beta guaiene	40,138	13,06	1493	(1493)
8	Valencene	40,331	0,90	1497	(1496)
9	Epizonarene	40,509	0,38	1502	(1502)
10	α - Cadinene	41,942	0,93	1539	(1539)
11	Flavesone	42,205	4,76	1546	(1547)
12	Nerolidol	42,901	1,11	1563	(1563)
13	Ledol	43,071	1,17	1568	(1569)
14	Viridiflorol	44,034	0,79	1593	(1593)
15	Carotol	44,134	8,86	1595	(1595)
16	Guaiol	44,263	0,37	1599	(1601)
17	Leptospermone	45,134	3,06	1622	(1623)
18	β- acorenol	45,772	7,04	1639	(1637)
19	Helifolenol D	47,316	2,27	1681	(1682)
20	Acorenone B	47,925	1,77	1698	(1698)
21	Capalponone	54,608	1,38	1894	(1894)
22	Toterene	55,417	1,75	1920	(1923)
23	Pimaradiene	56,355	0,64	1950	(1950)
24	Palmitic acid	56,760	1,27	1962	
25	Laurenan-2-one	61,409	1,04	2116	(2016)
26	Incensole	62,619	1,93	2158	(2159)
27	C25H52	71,703	1,16	2500	
Total			64,82		

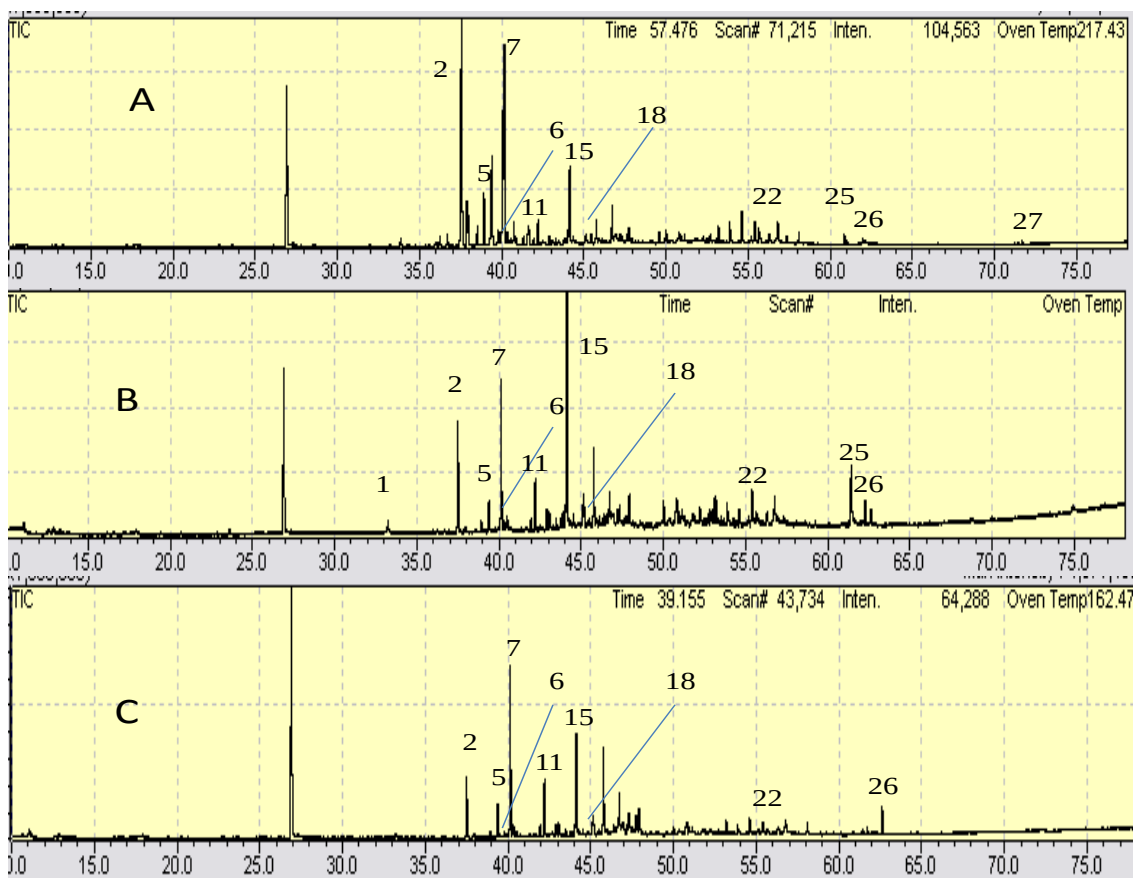


Figura 6: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu convencional, cv. Jambuarana. **(1)** Evadone, **(2)** Dictamnol, **(5)** Drima-7, 9(11)-diene, **(6)** Germacrene D, **(7)** Cis -beta guaieene, **(11)** Flavesone, **(15)** Carotol, **(17)** Leptospermone, **(18)** β -acorenol, **(22)** Toterene, **(25)** Laurenan-2-one, **(26)** Incensole, **(27)** C25H52.

Comparando as figuras 6 e 7, onde se tem os cromatogramas dos óleos obtidos das inflorescências da cv. Jambuarana nota-se que o modo de cultivo orgânico ou convencional pode ter induzido diferenciação, assim como entre os órgãos analisados. A substância Evadone (pico 1) ocorre nas folhas, mas não foi verificado nas inflorescências e talos cv. Jambuarana. Maior pico, conseqüentemente, maior teor de Dictamnol (pico 2) ocorre nas inflorescências, seguida das folhas e talos cultivados de modo convencional (Figura 6). Como sugerido por Mapeli et al., (2005), as plantas devem ser comparadas e contrastadas, porque nutrientes em excesso, ou deficiência, pode intervir na produção de biomassa e a quantidade de seus princípios ativos.

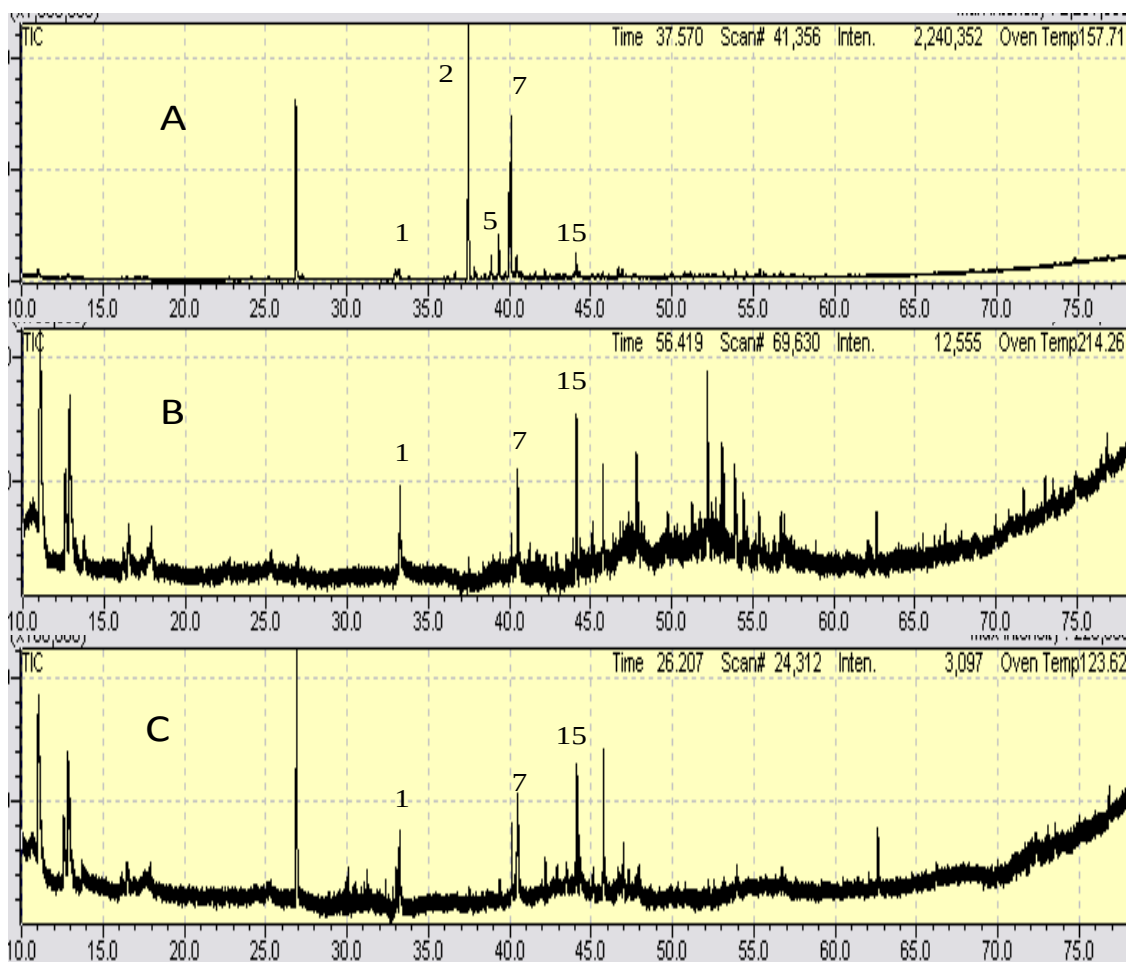


Figura 7: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu orgânico, cv. Jambuarana. **(1)** Evadone, **(2)** Dictamnol, **(5)** Drima-7, 9(11)-diene, **(7)** Cis –beta guaiene, **(15)** Carotol.

A substância Evadone, pico 1, ocorre nas folhas e talos, e em menor intensidade nas inflorescência na cv. jambuarana em adubação orgânica. Enquanto que a substância Dictamnol, pico 2, apresentou maior pico nas inflorescências, e não foi observado nas folhas e talos da cv. Jambuarana orgânica (Figura 7). Germacreno D, pico 6 (Figura 7), não foi identificado nas órgãos vegetais da cv. Jambuarana, cultivadas sob adubação orgânica. Dados de literatura indicam que altas temperaturas, como as utilizadas na extração dos óleos essenciais por hidrodestilação, podem levar à degradação do germacreno D ou induzir um rearranjo molecular, originando outros compostos de natureza sesquiterpenoídica, considerados artefatos (RADULOVIC, et al., 2007). Segundo Blank et al., (2005), a qualidade do óleo

essencial é muito importante para o mercado de importação / exportação e sua análise química é necessária. Dessa forma, os tipos de cultivo serão importantes para a presença de algum composto, como o Germacreno D, que não ocorre em jambu orgânico.

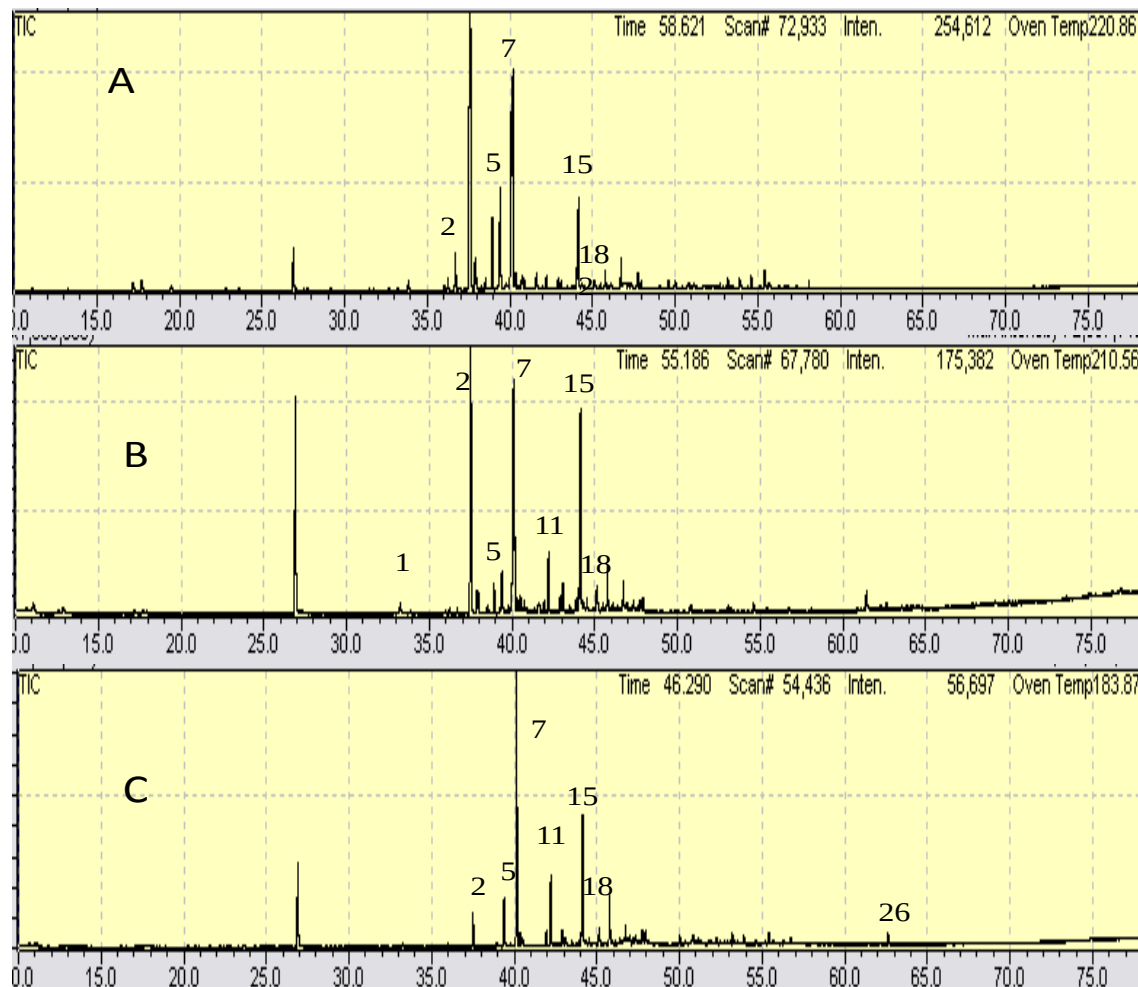


Figura 8: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu convencional, cv. Nazaré. (1) Evadone, (2) Dictamnol, (5) Drima-7, 9(11)-diene, (7) Cis -beta guaiene, (11) Flavesone, (15) Carotol, (17) Leptospermone, (18) β -acorenol, (26) Incensole.

Ocorrem compostos no óleo da folha cv. Nazaré em adubação orgânica, que não aparecem nas inflorescência e talos, como o Evadone, pico 1 (Figura 8). Os óleos essenciais são, de uma maneira geral, uma mistura muito complexa de hidrocarbonetos, álcoois e aromáticos, encontrados em todo tecido vivo de plantas, em geral concentrados na casca, nas flores, nas folhas, nos rizomas e nas sementes (ARAÚJO, 1995; BURT, 2004). Embora todos

os órgãos de uma planta possam acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização, como por exemplo, o óleo das cascas da canela é rico em aldeído cinâmico, enquanto que o das folhas e das raízes desse mesmo vegetal são ricos em eugenol e cânfora, respectivamente. Também a composição química de um óleo volátil, extraído de um mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, pode variar significativamente, de acordo com a época de coleta, condições climáticas e de solo (SIMÕES; SPITZER, 1999). Também são muito conhecidos desde a Antigüidade por possuir atividade biológica, por suas propriedades antibacteriana, antifúngica e antioxidante (CAKIR et al., 2005).

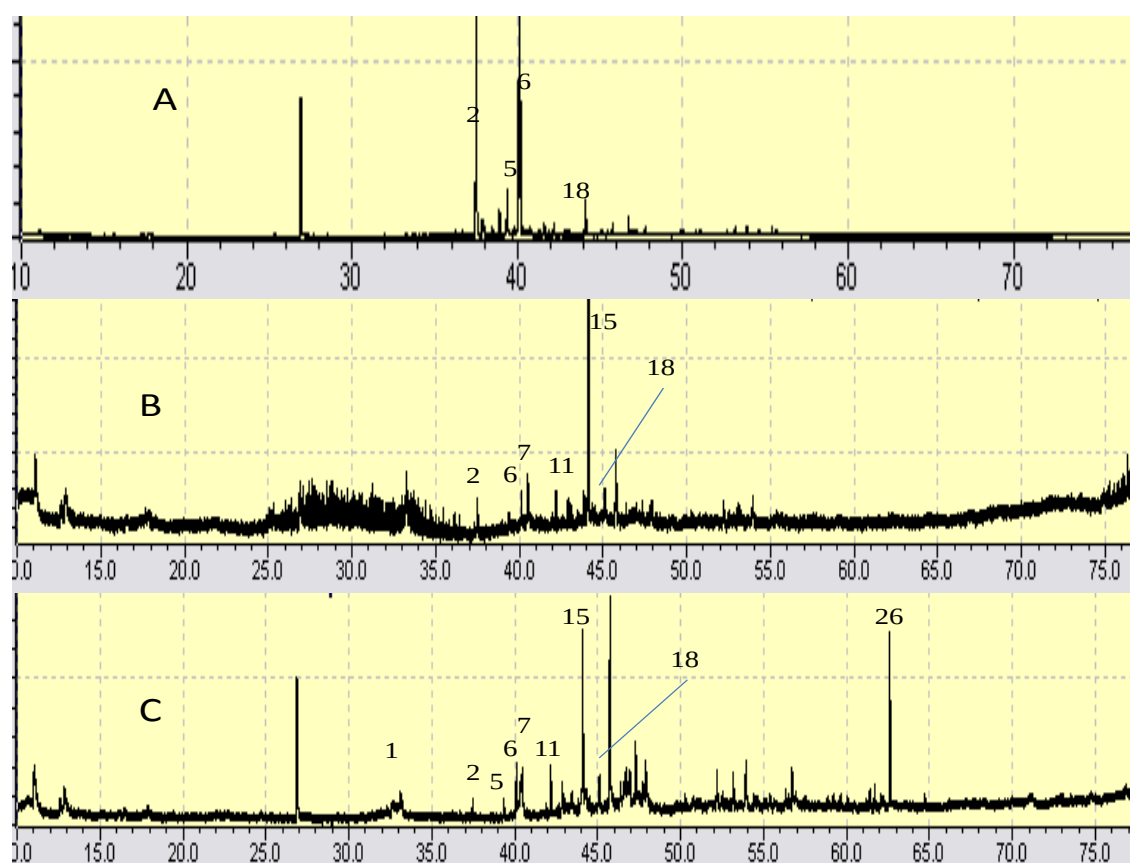


Figura 9: Cromatogramas do íon total dos óleos obtidos das amostras de Inflorescência (A), Folha (B) e Talo (C) de jambu orgânico, cv. Nazaré. (1) Evadone, (2) Dictamnol, (5) Drima-7, 9(11)-diene, (6) Germacrene D, (7) Cis -beta guaiene, (11) Flavesone, (15) Carotol, (18) β -acorenol, (26) Incensole.

Em jambu cv. Nazaré cultivado de modo orgânico, Germacreno D, pico 6, ocorre em maior intensidade nas inflorescência, seguida das folhas e talos. O composto Dictamol, pico 1, apresenta maior intensidade nas inflorescências e folhas, menor intensidade nos talos, enquanto que Evadone (pico 1) ocorre nos talos e não é observado nas inflorescência e nas folhas, enquanto que o Incensole (pico 26) é observado somente nos talos (Figura 9 A,B,C).

Verifica-se que de uma forma geral que as cultivares Jambuarana e Nazaré, cultivadas tanto na adubação orgânica e convencional, possuem, na maioria das vezes, os mesmos compostos, mas diferem nas quantidades. Sodré et al. (2012) verificaram que o óleo essencial de *Melissa officinalis* L. destilado a partir de folhas frescas e secas e cultivada com diferentes doses de esterco bovino e fertilizante mineral, apresentou os mesmos compostos, mas diferentes porcentagens de alguns compostos foram observados. Ming (1992) explica que a fertilização não pode ser dissociada de outros componentes que interferem na planta em desenvolvimento e na produção de óleo essencial e o conteúdo e além de fatores gerais, há fatores ambientais, tais como o microrganismos do solo e estresses sofridos pelas plantas, que podem interferir na rota biosintética dos compostos.

5.5.2 Potencial antifúngico

O óleo essencial das inflorescência da cv. Nazaré orgânica destaca-se por demonstrar maior atividade contra o fungo *Arpergillus nigris* 24 hs após sua incubação (Figura 10), quando comparados com as folhas e talos da mesma cultivar cultivada de modo convencional e também quando comparada com a cv. Jambuarana, produzidas de forma orgânica e convencional. Esse resultado pode ser atribuído ao composto Germacreno D, que apresenta em maior intensidade nas inflorescências (Figura 9A). Esse composto por ser um hidrocarboneto, apresenta características lipofílicas acentuadas e de acordo com Burt (2004), os óleos essenciais compreendem um grande número de componentes e seu modo de ação envolve vários alvos. Os óleos essenciais podem ser uma excelente opção na busca de novo produtos antifúngicos. Sendo uma mistura de vários compostos, eles não agem em alvos específicos nas células de fungos, e, portanto, nenhuma resistência ou adaptação aos óleos tem sido relatada (CARSON, MEE; RILEY, 2002).

Além disso, é provável que vários compostos presentes em óleos essenciaiss têm um papel importante na penetração celular, ou como atração lipofílica ou hidrofílico, fixação em

paredes de células e / ou membranas, e distribuição celular (BAKKALI et al., 2008). A maioria dos autores considera a lipofilia de seus constituintes como a propriedade que explicaria a atividade antimicrobiana, característica que permitiria a partição destes compostos nos lipídeos da membrana celular e da mitocôndria, aumentando sua permeabilidade e levando ao extravazamento do conteúdo celular (COWAN, 1999). Isso possivelmente justificaria a atividade antifúngica dos óleos essencial obtido nas inflorescências da cv. Nazaré.

A atividade antimicrobiana dos óleos e de alguns de seus componentes já está bem estabelecida. Estes freqüentemente apresentam a propriedade de inibir o crescimento de bactérias e fungos, uma vez que servem de defesa contra o ataque de microrganismos nos vegetais (MAGWA et al., 2006; SKOCIBUŠIC et al., 2006).

Segundo outros autores, componentes dos óleos essenciais também podem agir sobre proteínas celulares localizadas nas membranas citoplasmáticas, entre elas as ATPases, através de sua acumulação na dupla camada lipídica e conseqüente destruição da interação lipídeoproteína. Alternativamente, é possível uma interação direta de compostos lipofílicos com porções hidrofóbicas das proteínas (JUVEN et al., 1994; SIKKEMA et al., 1995). Entretanto, devido ao grande número de diferentes grupos químicos presentes nos óleos essenciais, é provável que sua atividade antimicrobiana não possa ser atribuída a um mecanismo de ação específico (SKANDAMIS; NYCHAS, 2001; CARSON et al., 2002).

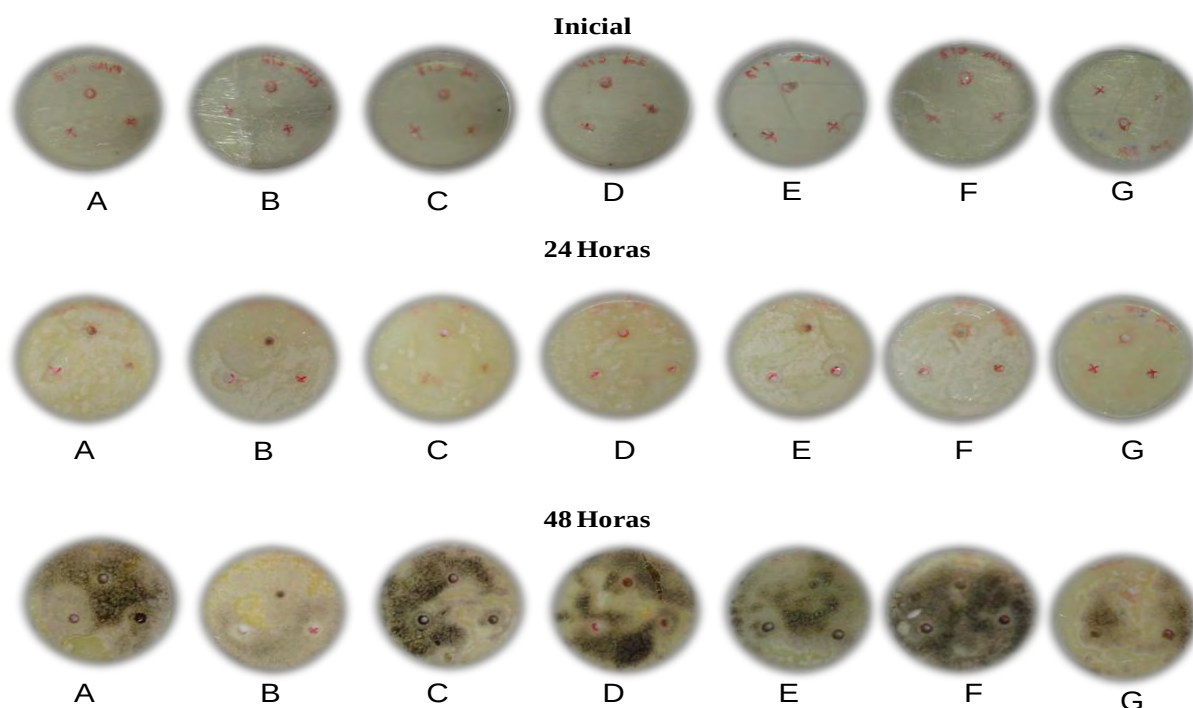


Figura 10: Atividade antifúngica do óleo essencial de jambu, cv. Jambuarana e cv. Nazaré, produzida em adubação orgânica e convencional. (A) Adubação mineral, cv. Jambuarana folha; (B) Adubação mineral, cv. Nazaré folha; (C) Adubação mineral, cv. Jambuarana inflorescência; (D) Adubação mineral, cv. Nazaré inflorescência; (E) Adubação mineral, cv. Jambuarana planta; (F) Adubação orgânica, cv. Jambuarana folha e (G) Adubação orgânica, cv. Nazaré inflorescência.

5.3 CONCLUSÃO

O óleo de *Spilanthes oleracea* mostra diferenças entre as cultivares e entre os órgãos estudados, em função de sua fenologia. O maior potencial antifúngico observado foi obtido de inflorescências da cv. Nazaré orgânica. Esta espécie é promissora produtora de óleos essenciais de alto valor agregado.

5.4 AGRADECIMENTOS

A CAPES, pela concessão da bolsa de doutorado a primeira autora, a profa. Dra. Luciana Fleuri pela colaboração nas análises microbiológicas, a Carolina Shoucer pela colaboração na análise do óleo essencial.

5.5 REFERÊNCIA

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy**. (2001). Carol Stream, IL, Allured Publishing Corporation, 804 p.

ARCTANDER, S.; **Perfume and Flavor Chemicals (Aroma Chemicals)**, Allured Publishing Corporation: USA, 2000.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática – Óleos Essenciais**. Ed. Viçosa, MG: Impr. Univ. UFV, 1995, 601 p.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BLANK, A. F.; FONTES, S. M.; OLIVEIRA, A. S.; MENDONÇA, M. C.; SILVA-MANN, R.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 780-784, 2005.

BERTOLI, A.; MENICHINI, F.; MAZZETTI, M.; SPINELLI, G.; MORELLI, I. Volatile constituents of the leaves and flowers of *Hypericum triquetrifolium* Turra†. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 91-94, 2003.

BORGES, L.S. ; Vianello, F. ; MARQUES, M. O. M. ; Lima, Giuseppina P. P. Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization and Essential Oil of *Spilanthes oleracea*. *American Journal of Plant Physiology*, 2012.

SKANDAMIS, P.N.; NYCHAS, G.J.E. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 6, p. 1011–1022, 2001.

BARATTA, M.T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; RUBERTO, G.; **Flavour Fragr. J.** 1998, 13, 235.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 94, p. 223-253, 2004.

CAKIR, A.; KORDALI, S.; KILLIE, H.; KAYA, E. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. **Biochemical systematic and ecology**, v. 33, p. 245-256, 2005.

CARSON, C. F.; MEE, B. J.; RILEY, T. V. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. **Antimicrobial Agents & Chemotherapy**, v. 46, p. 1914-1920, 2002.

COWAN, M.M. Plants products as antimicrobial agents. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 12, p. 564-582, 1999.

DIAS, A.M.A.; SANTOS, P.; SEABRA, I.J.; JUNIOR, R.N.C.; BRAGA, M.E.M.; SOUSA, H.C. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The journal of supercritical fluids**, v. 61, p. 62-70, 2012.

JUVEN, B. J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **J Appl Bacteriol**, v. 76, p. 626–631, 1994.

LORENZI H.; MATOS F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 396 p. 2002.

MAGWA, M.L.; GUNDIDZA, M.; GWERU, N.; HUMPHREY, G. Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. **J Ethnopharmacol**, v.103, p. 85-89, 2006.

MAPELI, N.C.; VIEIRA, M.C.; HEREDIA, Z.N.A.; SIQUEIRA, J.M. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Hortic Bras**, v.23, p.32-37, 2005.

MING, L.C. 1992. **Influencia de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill). N.E. br Verbenaceae**. Curitiba,

206 p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná, 1992.

RADULOVIĆ, N.; LAZAREVIĆ, J.; RISTIĆ, N.; PALIĆ, R. Chemotaxonomic significance of the volatiles in the genus *Stachys* (Lamiaceae): essential oil composition of four Balkan *Stachys* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p.196-208, 2007.

SKOCIBUŠIĆ, M.; BEZIC N.; DUNKIC, V. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. **Food Chem**, v.96, p. 20-28, 2006.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J.A.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 59, p.201-222, 1995.

SIMÕES, C.M.O; SPITZER V. Óleos voláteis. **In:** SIMÕES CMO. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Ed. Universidade-UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC. p. 387-415. 1999.

SORENSEN, J. 2000. *Melissa officinalis*. **Int J Aromather.** 10: 7-15.

SODRÉ, A.C.B.; LUZ, J.M.Q.; HABER, L.L.; MARQUES, M.O.M.; RODRIGUES, C.R.; BLANK, A.F. Organic and mineral fertilization and chemical composition of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.**, v. 22, n.1, p. 40-44, 2012.

ZUZARTE, M.; GONÇALVES, M.J.; CRUZ, M.T.; CAVALEIRO, C.; CANHOTO, J.; VAZ, S.; PINTO, E.; SALGUEIRO, L. Lavandula luisieri essential oil as a source of antifungal drugs. **Food Chemistry**, v.135, p. 1505-1510, 2012.

WHITFIELD, F. B. Microbiologically derived off-flavours. **In** B. Baigrie (Ed.), Taints and off-flavours in foods. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited. 2004.

CAPITULO IV

UV-C RADIATION AND HIGH OXYGEN LEVELS FOR KEEPING OVERALL QUALITY OF FRESH-CUT NECTARINE

Luciana da Silva Borges⁶, Javier Navarro⁷, Romy Goto¹, Francisco Artés-Hernández², Giuseppina Pace Pereira Lima⁸ and Francisco Artés^{2*}

6.1 ABSTRACT

Little information about the physiological and biochemical changes of fresh-cut nectarine is available, as well as the suitable techniques for maintenance of its quality and safety. In order to improve the shelf life of fresh-cut nectarine 'R48', the fruits were submitted to UV-C radiation and/or high O₂ levels, in single or combined treatments, followed by modified atmosphere packaging at 5°C, during 10 days. After washing and cutting, the fruits were chopped and the following treatments were applied: Control; 1% citric acid + 1% calcium chloride as antibrowning (AB) agent; 4 KJ m⁻² UV-C; 8 KJ m⁻² UV-C; 12 KJ m⁻² UV-C; AB + $\cong$ 95 kPa O₂ (High O₂); AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂; AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ and AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂. The pH, titratable acidity (TA), soluble solids content (SSC), firmness, color, CO₂ and O₂ levels, sensory quality and microbial counts were monitored. The UV-C and high O₂ treatments did not affect negatively the SSC, TA and pH, neither the sensory quality of nectarine pieces. It could be concluded that the treatment AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ did not affect the sensory quality of minimally processed nectarine, after 7 days of storage. Throughout the chilling storage, the growth of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocitogenes* was not detected in the different treatments. Under combined UV-C radiation and high O₂, no growth of mesophilic bacterial populations was found. This later gives to the fresh-cut nectarine 'R48' the possibility to be marketed for 10 days, keeping adequate overall quality and safety. The results reached with the combined treatment, not early studied, suggest its viability for application on a commercial scale.

⁶ Departament of Plant Production – Horticulture Sector, UNESP– Botucatu- - Caixa Postal 237, CEP: 18603-970, Botucatu (SP). Email: luchorti@fca.unesp.br; romy@fca.unesp.br

^{7*}Correspondence to: Francisco Artés. Postharvest and Refrigeration Group, Department of Food Engineering, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48, E-30203 Cartagena, Murcia, Spain. E-mail: fr.artes@upct.es

⁸ Department of Chemistry and Biochemistry, Institute of Biosciences, Universidade do Estado de Sao Paulo, UNESP, CP 510, CEP 18.618-000, Botucatu, Sao Paulo, Brasil. E-mail: gpplima@ibb.unesp.br

Keywords: *Prunus persica* var. *nectarine*; minimal processing; quality attributes; microbial counts; safety.

6.2 INTRODUCTION

The demand for fruit and vegetable products ready for consumption, with fresh quality and containing only natural ingredients, commonly named fresh-cut products (FCP), has steadily increased due to new life styles of consumers. In Brazil, the demand of plant derived FCP has increased in the order of 2.5 to 5% a year (Rombaldi *et al.*, 2007). The FCP are fruits and vegetables physically modified, but which maintain their status *in fresh*. They provide safe fresh food for consumers that combine high overall quality with convenience, eliminating, in practically all cases, the operation of preparation before integral consumption (Artés, 2000; Artés *et al.*, 2009; Moretti, 2001).

The cuts or damages infringed to plant tissue during minimal processing promote the release of intracellular enzymes and nutrients that encourage the enzymatic activity and proliferation of microorganisms (Zagory, 1999; Artés, 2000; Masih *et al.*, 2002). The microbial activity in FCP may be influenced by the metabolism of plant tissue, the atmosphere surrounding the commodity, the permeability of packaging film and the storage temperature. Other important possible problems associated with FCP are the development of off-odors, discoloration, and tissue softening. For avoiding or at least limiting quality attributes losses, the physiological disorders and diseases in FCP, there is an increased interest in using the physical treatments, as alternatives to the agro-chemicals (Artés *et al.*, 2007). Several physical techniques like heat, chilling or UV-C radiation, in association with the conventional or improved modified atmosphere packaging (MAP), are sustainable treatments able to accomplish quality requirements of FCP (Artés *et al.*, 1999; Allende and Artés, 2003; Vicente *et al.*, 2006; Koukounaras *et al.*, 2008).

The UV-C radiation is effective for mold disinfection and preservation of the fruits and vegetables, due to its germicide properties (basically destroying the microbial DNA and the protein denaturation) being lethal to most types of microorganisms, leading to a longer shelf life of FCP (Allende and Artés, 2003; Aguayo *et al.*, 2007). It also has the advantage of not producing any by-product adverse for the human consumption and for the environment.

Moreover, it does not stimulate the synthesis of unwanted by-products that might change sensorial characteristics of the final products (Guerrero-Beltrán et al., 2004). The equipment for UV-C application is relatively inexpensive and easy to use, although it must be subject to certain safety precautions (Bintsis et al., 2000).

The MAP decreases microbial growth and reduces cross-contamination, thus improving food safety. The MAP efficiency requires that the recommended steady state atmosphere must be reached the most quickly as possible at a chilling temperature (Artés et al., 2006b). It must be avoided excessive low O₂ and high CO₂ levels within the packages, leading to the anaerobic respiration with development of off-odors, resulting in deterioration of the FCP (Artés, 2000; Soares and Geraldine, 2007). The active modification of the atmosphere by high O₂ levels (about 90 kPa) seems to be effective in inhibiting the enzymatic browning, preventing the anaerobic fermentation, texture and aroma loss, and lowering or inhibiting the growth of aerobic and anaerobic microorganisms (Day, 2001). Some other works have shown the beneficial effect of combination of high O₂ and CO₂ levels around FCP for keeping their overall quality (Artés et al., 2007).

The nectarine (*Prunus persica* var. *nectarine*) is a climacteric fruit greatly appreciated by its flavor, appearance and economic value within the supply chain. It is a very important crop in several countries, including Brazil and Spain, being highly perishable, and creating serious difficulties when minimally processed. However little information about the physiological and biochemical changes of fresh-cut nectarine, as well as on sustainable techniques to ensure its suitable overall quality and safety for consumption.

The aim of the work was to study the single and combined effect of UV-C and high O₂ MAP on fresh-cut nectarine, in order to improve their overall quality and safety while reaching a commercially acceptable shelf life. From the best of our knowledge, this combined treatment is firstly reported here for FC nectarine.

6.3 MATERIALS AND METHODS

6.3.1 Plant material

Nectarine ‘R48’ cv. fruits were manually harvested at the Frutas Esther S.A commercial farm, located in Cieza (Murcia), in the southeastern Mediterranean area of Spain. Immediately after harvesting, the fruits were transported about 80 km in an air conditioned car to the Pilot Plant of the Technical University of Cartagena and stored at 0/1°C and 90% HR. The next day the nectarine was minimally processed as described below.

The nectarine fruits were carefully selected to obtain uniformity in the whole lot. All fruits with lesions or cracks were discarded and only intact fruits were processed. The physical characteristics of nectarines were monitored in a sample of 20 whole fruits, randomly selected (Table 1).

Table 1: Initial characterization of the whole nectarine fruit

Weight g	VD cm	LD cm	L*	Chrome	Hue angle ° Hue	TA Citric acid/100g	SSC °Brix	pH
183.74	6.89	7.06	85.94	9.38	23.65	0.085	11.85	3.70

VD: Vertical diameter; LD: Longitudinal diameter; L*: Luminosity; TA: Titratable acidity; SSC: Soluble solids content

The minimal processing of nectarines took place in a cleaned and disinfected cold room at 8°C. For external disinfection, all fruits were washed in a 100 mg L⁻¹ NaClO at pH 6.5 water solution for 2 min, as commonly used by the FC industry. Then, the fruits were dried on absorbent paper and placed in a clean plastic box. For the removal of the stone from fruit a cotton gin of fruit of ϕ 30 mm was used and cuts were made with an apple cutter in which eight pieces of 1.5 cm were obtained. Then, the pieces were immersed in an anti-browning solution (1% citric acid and 1% CaCl₂) for 10 min.

6.3.2 UV-C radiation

The UV-C equipment used consisted of two banks of 15 stainless steel reflectors, each with unfiltered germicidal emitting lamps (TUV 36W/G36 T8, Philips, Eindhoven, and The

Netherlands). One bank was suspended horizontally over the radiation vessel and the other was placed below it. The nectarine pieces were placed between the two lines of UV-C lamps at 15 cm above and below over a 35 μm thick bioriented polypropylene (BOPP) film. This film was placed over a steel frame supporting polystyrene net that minimized blockage of the UV-C radiation. The treatment chamber was covered with a protective reflecting inner layer that enhanced homogeneous distribution of the emitted light and allowed indirect illumination of practically all sides. In order to determine the UV-C radiation intensity of the lamps and to verify the influence on blockage of the polystyrene net, a VLX 254 radiometer (Vilber Lourmat, Marne la Vallée, France) was used. The applied UV-C intensity was calculated as the mean of 18 UV-C readings on each side of the net. Thus both sides received the same UV-C intensity. The UV-C light intensity was kept constant and the applied dose was varied by altering the exposure time at the fixed distance (Artés-Hernández *et al.* 2009). The UV-C doses applied (4, 8 and 12 KJ m^{-2}) were selected based on previous reports and our preliminary experiments.

6.3.3 MAP treatments

For every treatment and immediately after the application of the UV-C radiation, 200 g of nectarine pieces were placed in PP baskets of about 750 mL capacity and thermally sealed at the top with a BOPP film of 30 μ thickness (for the treatments in air to generate a passive MAP) and with a BOPP of 50 μ (for high O_2 treatments by injecting O_2 in each basket to reach about 95 kPa O_2 in order to generate an active MAP).

The following treatments were applied: Control; 1% citric acid + 1% CaCl_2 as antibrowning (AB); 4 KJ m^{-2} UV-C; 8 KJ m^{-2} UV-C; 12 KJ m^{-2} UV-C; AB + $\cong$ 95 kPa (High O_2); AB + 4 KJ m^{-2} UV-C + High O_2 ; AB + 8 KJ m^{-2} UV-C + High O_2 , and AB + 12 KJ m^{-2} UV-C + High O_2 . Three replicates of one basket per processing treatment and storage duration (0, 4, 7 and 10 days) were prepared. All baskets were then stored at 5°C in the dark.

6.3.4 Firmness, soluble solids content (SS), titratable acidity (TA) and pH determinations.

Firmness was determined in two parts of the pulp of each nectarine piece by mean of a texturometer (Abbe 1S, Barcelona, Spain) expressing the results in Newtons (N). The

nectarine juice was obtained by squeezing the pieces (Tristar SC-2282, Barcelona, Spain) and then the juice analyzed for SSC, pH, and TA. SSC were determined in a hand refractometer (Atago Co. Ltd, Tokyo, Japan), calibrated and adjusted to room temperature, expressing the results as °Brix. In 50ml of nectarine juice, the pH was determined by mean of a digital pH meter (Crison 501, Barcelona, Spain). The TA was determined by titrating 5 mL of juice diluted with 45 mL of distilled water to pH 8.2 with 0.1 N NaOH and was expressed as g cítric acid/L (Artés-Hernández *et al.* 2009).

6.3.5 Atmosphere changes

The O₂ and CO₂ partial pressures within the MAP baskets were analyzed every two days by removing 1 mL gas samples taken with a plastic syringe from the headspace through a silicone septum. The O₂ and CO₂ were measured by injecting gas samples into a Thermofinnigan gas chromatograph (Trace GC, Milan, Italy) equipped with a thermal conductivity detector (temperatures for oven, injector and detector were 110, 150 and 150 °C, respectively) and provided with a Chromosorb 102 80/100 column (1.2 m_2.0 mm+, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA). Calibration of CO₂ and O₂ was done with known standards from gas cylinders (Air Liquid S.A., Murcia, Spain).

6.3.7 Color

For monitoring color it was used a compact tristimulus colorimeter (Minolta CR-300, Ramsey, NJ, USA) with an 8mm diameter viewing aperture and a white plate C reference (Y = 94.3, x = 0.3142, y = 0.3211, standard CIE illuminant, 2° observer). The initial color of whole nectarines was measured on three equidistant points of the equatorial zone of each fruit in three replicates of ten nectarines, randomly selected. The pulp color of nectarine pieces was measured on three points of ten pieces for each treatment. Values were expressed as luminosity (L*), chroma and hue angle parameters (Artés-Hernández *et al.* 2009).

6.3.8 Microbial analyses

To determine microbial growth throughout shelf-life, three random samples from each treatment were analysed on the processing day and after 0, 4, 7 and 10 days of MAP storage. Samples of 10 and 25 g of nectarine pulp was blended with 90 mL of sterile tryptone phosphate water (pH 7) (Scharlau Chemie SA, Barcelona, Spain) for 1 min in a sterile

stomacher bag (Model 400 Bags 6141, Seward Ltd; London, UK) using a masticator (Seward Medical, London, UK). Serial dilutions were prepared in 9 mL of tryptone phosphate water. From each dilution, 1 mL aliquots were aseptically pipetted for bacterial microflora and 0.1 mL aliquots for yeasts and moulds. The following media and incubation conditions were used: plate count modified agar (Scharlau Chemie SA) for mesophilic, incubated at 30°C for 48 h; violet red bile dextrose agar (VRBD, pH 7.2) (Scharlau Chemie SA) for enterobacteria, incubated at 37 °C for 48 h and potato dextrose agar base (Scharlau Chemie SA) with addition of 100 mg L⁻¹ oxytetracycline (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) for yeasts and moulds by spread, incubated for 2 and 5 days at 22°C respectively. Duplicates were made for each dilution. All microbial counts were reported as log₁₀ colony-forming units (cfu) g⁻¹ sample (Artés-Hernández *et al.* 2009).

6.3.9 Sensory analysis

Sensory quality was evaluated by a six-member expert panel (three men and three women, aged 28 to 65 years), which scored the main quality attributes: visual appearance, aroma, flavor, texture, dehydration, odor, browning, and overall quality. A scale of five points was used, in which 1: very bad, 2: bad, 3: acceptable limit for consumption, 4: good, 5: very good for a general scale. For dehydration and odor, 1: slight, 2: moderate, 3: as acceptable levels of consumption, 4: light, 5: absence. To evaluate browning the scale was 1: 70%, 2: between 70 and 50%, 3: 50 to 30%, 4: 30 to 10% and 5: less than 10%. To evaluate the texture the scale was 1: very mild, 2: mild, 3: minimum acceptable level for consumption, 4: firm and 5: very firm. These sensory attributes were evaluated on the processing day and after 4, 7 and 10 days at 5 °C (Bett, 2002). The panellists consider 3 as the limit score of different quality attributes of nectarine pieces for its acceptability from the consumers point of view.

6.3.10 Statistical analysis

The statistical design was a completely randomized design, with nine treatments and four times of assessment, using three replicates per treatment. All data were statistically analyzed by ANOVA with F test. This analyses were done with the software SISVAR (Ferreira, 2000).

6.4 RESULTS AND DISCUSSION

6.4.1 Gas composition

The control and AB treated packages showed a similar pattern for the gas changes throughout 10 days of storage (Figure 1a). The initial partial pressure of O₂ and CO₂ of packages not submitted to high O₂ was normal air (21 kPa O₂ and 0.03 kPa CO₂). The initial O₂ and CO₂ partial pressures in high O₂ treatments was about 95 kPa O₂ and 0.03 kPa CO₂ (Figure 1c and 1d). As expected, from the time of packaging, in both kinds of MAP treatments, the O₂ partial pressure decreased and that of the CO₂ increased over the days.

According to Allende and Artés (2003) the key to success is to establish an equilibrium MAP. In this study, the O₂ and CO₂ levels within conventional packages of UV-C treated product reached a steady state from the fourth day of chilling storage between 8-10 KPa O₂ and 10-14 KPa CO₂ for control AB, and 4 KJ m⁻² UV-C. In the 8 and 12 KJ m⁻² UV-C treatments, the CO₂ levels slightly increased compared to 4 KJ m⁻² UV-C after 10 days of storage, probably due to a higher stress. The steady state within high O₂ packages was reached after 4 days of storage with about 10-15 kPa for CO₂ and O₂ when combined with 4 KJ m⁻² UV-C and after 7 days with about 20 kPa CO₂ and 30 kPa O₂ when combined with 8 and 12 KJ m⁻² UV-C (Figure 1). This could be again justified by the higher stress. In fact, UV-C stimulates numerous biological process in plants, including a respiratory stress in response to processing injuries as a way to repair the tissue damages and therefore increases the respiratory rate (El-Ghaouth and Wilson, 1995; Allende and Artés, 2003; Saltveit, 2003). The O₂ levels decrease and CO₂ increase agrees with results reported in FC ‘Regis’ peaches stored at 5°C (Chagas et al., 2008). Low O₂ and high CO₂ levels within packages of FCP can extend their shelf life, because there is a reduction in the browning reaction, in the transpiration and water loss and in the respiration and ethylene biosynthesis rates (Gorny and Kader, 1997; Artés, 2000).

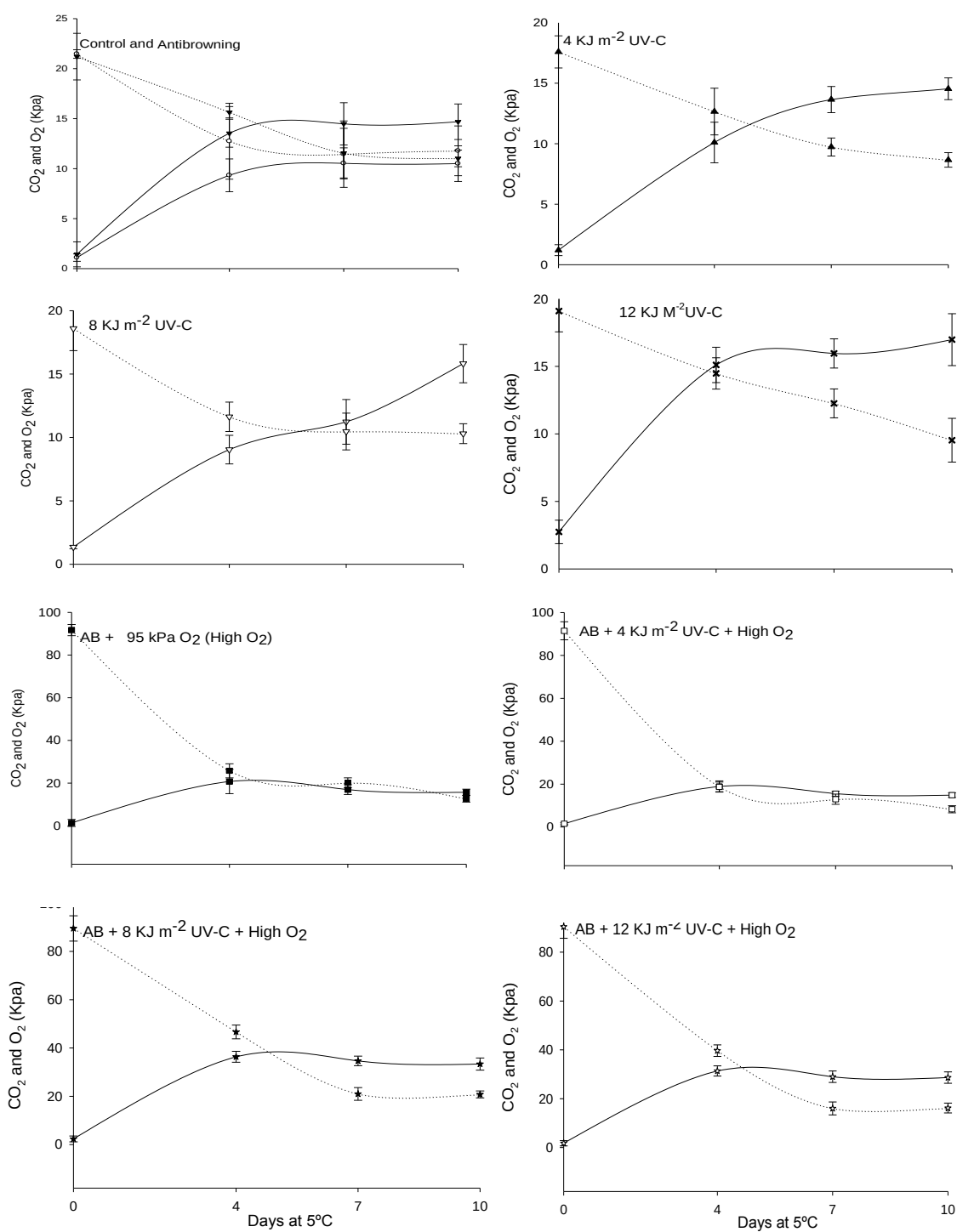


Figure 1: O₂ and CO₂ changes within packages of several treatments of fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C.

6.4.2 Firmness, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA) and pH determinations.

Throughout chilling storage, there was a decrease in the SSC, while the pH increased (Table 2). pH and SSC found in our work are expected in nectarines, since they are climacteric fruit (Kader, 2002). As it is well known, the SSC decreases with ripening of fruits due to the use of carbohydrates and organic acids as substrates in the respiratory process, and consequently the pH increases (Medlicott et al., 1986) probably due to the increased concentration of CO₂ and reduction of O₂ inside the package (Figure 1), as a factor that alters the flow of carbon into glycolysis, reducing and modifying the metabolism of (KADER, 1986; SAENZ et al., 1998). In this work, the SSC was between 10.77 to 13.43 °Brix, the pH between 3.67 and 4.14, and the firmness changed between 10.05 to 26.81 (N) during the ten days of storage (Table 2). No significant effect was observed for FC nectarine acidity (data not shown). Costa et al. (2011), working with FC peaches stored for 6 days at 4 °C, obtained pH values between 2.31 and 3.49, SSC between 8.0 and 11.0, °Brix and firmness between 1.5 and 2.5 (N).

Although there was no significant effect among treatments during the 10 days in pH and SSC, it was observed that the treatments 4 KJ m⁻² UV-C and AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ showed the best physico-chemical quality. It has been reported for fresh-cut, that a biochemical parameter such as pH cannot be used as an indicator of quality because it does not change significantly from amounts present in the freshly cut fruit when stored (Lamikanra and Richard, 2002).

Table 2: Changes in pH, soluble solids content and firmness in fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C.

Variables	Treatment	Days				R ²
		0	4	7	10	
pH	Control	3.78aB	3.81aB	3.83aB	3.87aB	0.71
	AB	3.67aB	3.74aB	3.91aB	3.91aB	0.89
	UV-C 4	3.72aB	3.83aB	3.93aB	3.90aB	0.89
	UV-C 8	3.73aB	3.78aB	3.89aB	3.97aB	0.89
	UV-C 12	3.73aB	3.86aB	3.86aB	3.86aB	0.91
	AB+O ₂	3.72aB	3.72aB	3.87aB	3.99aB	0.97
	AB+UV-C 4+O ₂	3.70aB	3.79aB	3.77aB	3.90aB	0.73
	AB+UV-C 8+O ₂	3.90aB	3.94aB	4.07aA	4.14aA	0.99
	AB+UV-C 12+O ₂	3.81aB	3.76aB	3.81aB	3.82aB	0.68
Treatment	Ns					
Days	**					
Treat x days	Ns					
CV (%)	1.91					
Soluble solids content (° Brix)	Control	13.90aA	13.96aA	13.08aA	10.77aC	0.84
	AB	12.86aB	12.85aB	12.43aA	11.25aC	0.74
	UV-C 4	12.20aB	12.16aB	12.13aA	11.95aB	0.99
	UV-C 8	12.60aB	12.66aB	13.36aA	11.84aC	0.57
	UV-C 12	12.20aB	12.15aB	12.18aA	12.19aA	0.60
	AB+O ₂	11.56aC	11.32aC	11.25aA	11.16aA	0.95
	AB+UV-C 4+O ₂	12.57aB	12.38aB	12.32aA	11.10aC	0.90
	AB+UV-C 8+O ₂	13.26aA	13.43aA	12.67aA	12.53aA	0.99
	AB+UV-C 12+O ₂	12.89aB	12.84aB	12.20aA	11.10aB	0.85
Treatment	Ns					
Days	**					
Treat x days	Ns					
CV (%)	4.82					
Firmness (N)	Control	15.86cC	12.24bB	10.13bB	10.05bB	0.92
	AB	18.12cC	22.01bB	21.86bB	19.76bB	0.88
	UV-C 4	20.94bB	22.91bB	18.33bB	20.23bB	0.92
	UV-C 8	22.12bB	21.13bB	21.49bB	14.02bC	0.88
	UV-C 12	18.76cC	13.54cC	12.93bB	10.98bC	0.57
	AB+O ₂	22.02bB	23.71bB	13.67bC	12.26cC	0.78
	AB+UV-C 4+O ₂	22.45bB	24.54aB	14.15bC	11.32cC	0.79
	AB+UV-C 8+O ₂	26.81aA	25.85aA	25.69aA	20.62bA	0.93
	AB+UV-C 12+O ₂	21.53bB	21.78bB	21.02bB	18.54bB	0.55
Treatment	**					
Days	**					
Treat x days	**					
CV (%)	10.52					

The lowercase letters in the column comparing treatment means within each day. The capital letters on line compare means between days for each treatment. The means followed by same letters are not statistically different by Tukey test at 1% probability.

Control; 1% citric acid + 1% CaCl₂ as antibrowning (AB) agent; 4 KJ m⁻² UV-C (4); 8 KJ m⁻² UV-C (8); 12 KJ m⁻² UV-C (12); AB + O₂ (AB+O₂) ; AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂ (AB+4+O₂); AB + 8 KJ m⁻² UV-C + High O₂ (AB+8+O₂) and AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂ (AB+12+O₂).

6.4.3 Color

In all treatments, a reduction of L^* values throughout the storage period was found (Table 3). The treatment AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ showed the highest L^* value (94.64 to 74.30), which demonstrates the effectiveness of this combination for the prevention of browning in FC nectarines.

The reduction in L^* agrees with Costa et al. (2011) in FC peach stored for 6 days at 4 °C and with Chagas et al. (2008) in FC peach after 9 days at 5 °C. The major changes observed in the coloration of the cutted fruit tissue can be explained, firstly, due to greater decompartmentation of polyphenoloxidase and peroxidase enzymes, and, secondly, by an increased production of ethylene, that promotes an increased phenylalanine ammonia lyase activity, which rising the synthesis of phenolic compounds, thus resulting in an increased susceptibility to browning in cut tissues (Raybaudi-Massilia et al., 2007).

There was an increase in chrome values with significant interaction among treatments and days of storage. The treatment AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ was the best after 10 days of storage. There was an increase in tone (°Hue) for all treatments until the fourth day of storage, remaining constant until the last day of storage. However, Chagas et al. (2008) observed a reduction in tone and chrome after 9 days of storage in FC peach compared to the initial day. Similarly, Koukounaras et al. (2008) and Pace et al. (2011) reported a reduction of chroma and visual appearance during the storage of FC peach and nectarine, respectively.

Table 3: Variation in the luminosity, chrome, and hue angle in fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C.

Variables	Treatment	Days				R ²
		0	4	7	10	
Luminosity	Control	86.62bA	66.21bB	69.40bB	66.59cC	0.77
	AB	90.16bA	67.13bB	70.31bB	71.81bB	0.83
	UV-C 4	89.51bA	66.87bB	73.94aB	68.10bB	0.79
	UV-C 8	90.34bA	67.88bC	72.94bB	74.05aB	0.82
	UV-C 12	85.71bA	65.92bC	70.42bB	77.01bB	0.88
	AB+O ₂	94.15bA	67.56bC	72.23bB	71.97bB	0.84
	AB +UV-C 4+O ₂	85.46bA	65.13bC	70.43bB	69.82bB	0.78
	AB +UV-C 8+O ₂	94.64aA	72.09aB	72.01bB	74.30aB	0.95
	AB+UV-C 12+O ₂	82.15cA	65.29bC	68.49cB	71.97bB	0.90
Treatment	**					
Days	**					
Treatm x days	**					
CV(%)	8.12					
Chrome	Control	6.59cB	42.08aA	40.66aA	40.82aA	0.91
	AB	10.57bB	41.80aA	41.09aA	41.38aA	0.92
	UV-C 4	7.19cB	40.59aA	40.41aA	37.65aA	0.93
	UV-C 8	8.52cB	42.06aA	40.14aA	38.55aA	0.93
	UV-C 12	7.30cB	39.51aA	35.74aA	36.05aA	0.88
	AB+O ₂	6.63cB	41.76aA	41.83aA	40.89aA	0.93
	AB +UV-C 4+O ₂	7.89cB	42.02aA	40.67aA	40.46aA	0.91
	AB+UV-C 8+O ₂	13.00aB	40.55aA	40.61aA	42.23aA	0.93
	AB+UV-C 12+O ₂	9.61bB	43.14aA	38.65aA	35.73aA	0.88
Treatment	**					
Days	**					
Treatm x days	**					
CV (%)	5.43					
Hue Angle	Control	26.36cB	82.61cA	82.61cA	85.21bA	0.93
	AB	8.22cB	83.99cA	83.99bA	85.36bA	0.93
	UV-C 4	50.16bB	85.01bA	85.01bA	82.33cA	0.94
	UV-C 8	24.06cB	82.34cA	82.34cA	83.49cA	0.93
	UV-C 12	35.80cB	84.56bA	84.56bA	86.04bA	0.93
	AB+O ₂	32.84cB	84.99bA	84.99bA	84.85bA	0.93
	AB+UV-C 4+O ₂	20.45cB	79.67cA	79.67cA	82.58cA	0.92
	AB+UV-C 8+O ₂	64.18aB	87.88aA	87.88aA	86.72aA	0.91
	AB+UV-C 12+O ₂	16.48cB	84.35bA	84.35bA	84.21cA	0.93
Treatment	**					
Days	**					
Treatm x days	**					
CV (%)	3.20					

The lowercase letters in the column comparing treatment means within each day. The capital letters on line compare means between days for each treatment. The means followed by same letters are not statistically different by Tukey test at 1% probability.

Control; 1% citric acid + 1% CaCl₂ as antibrowning (AB) agent; 4 KJ m⁻² UV-C (4); 8 KJ m⁻² UV-C (8); 12 KJ m⁻² UV-C (12); AB + O₂ (AB+O₂) ; AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂ (AB+4+O₂); AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ (AB+8+O₂) and AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂ (AB+12+O₂).

6.4.4 Sensory analysis

When the sensory quality of the nectarine pieces was evaluated, significant lower scores in Control compared to the other treatments were found. On the other hand, as expected, as the storage time increased, there was a decrease in quality attributes scores, being the level dependent on the treatment (Figure 2). Control reached the limit of usability after 4 days of storage.

Regarding browning, the treatments AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂, AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ and AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂, after 7 days of chilling storage surpassed the limit of usability. However, only the treatments AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂ and AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ reached 10 days of shelf life.

During the storage period, it was not detected by panelists any noticeable off-odors at any moment, being all treatments acceptable for commercialization, except in the control from the fourth day.

According to this, in the present work, dehydration after 7 days storage surpassed the no limit of usability in comparison to the control, for all treatments. The flavor was maintained after 7 days storage in comparison to the control for treatments (Figure 2).

Concerning overall quality, the AB, 4 KJ m⁻² UV-C, 8 KJ m⁻² UV-C and AB + 4 kJ m⁻² UV-C + High O₂ treatments surpassed the limit of usability after 7 days of chilling storage. However, only AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ reached 10 days of shelf life.

For panelists, the treatment AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ showed the best quality attributes, mainly for browning, texture, flavor and overall quality after 10 days of storage. In addition this result is consistent with the good physico-chemical characteristics reached by these treated nectarines. Thus, the application of this method reduces the metabolic changes occurring during minimal processing. As a consequence this combined treatment could be a good option for keeping overall quality of FC nectarines (Figure 2). Looking at these results, it could be concluded that the treatment AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ did not affect the sensory quality of FC nectarine.

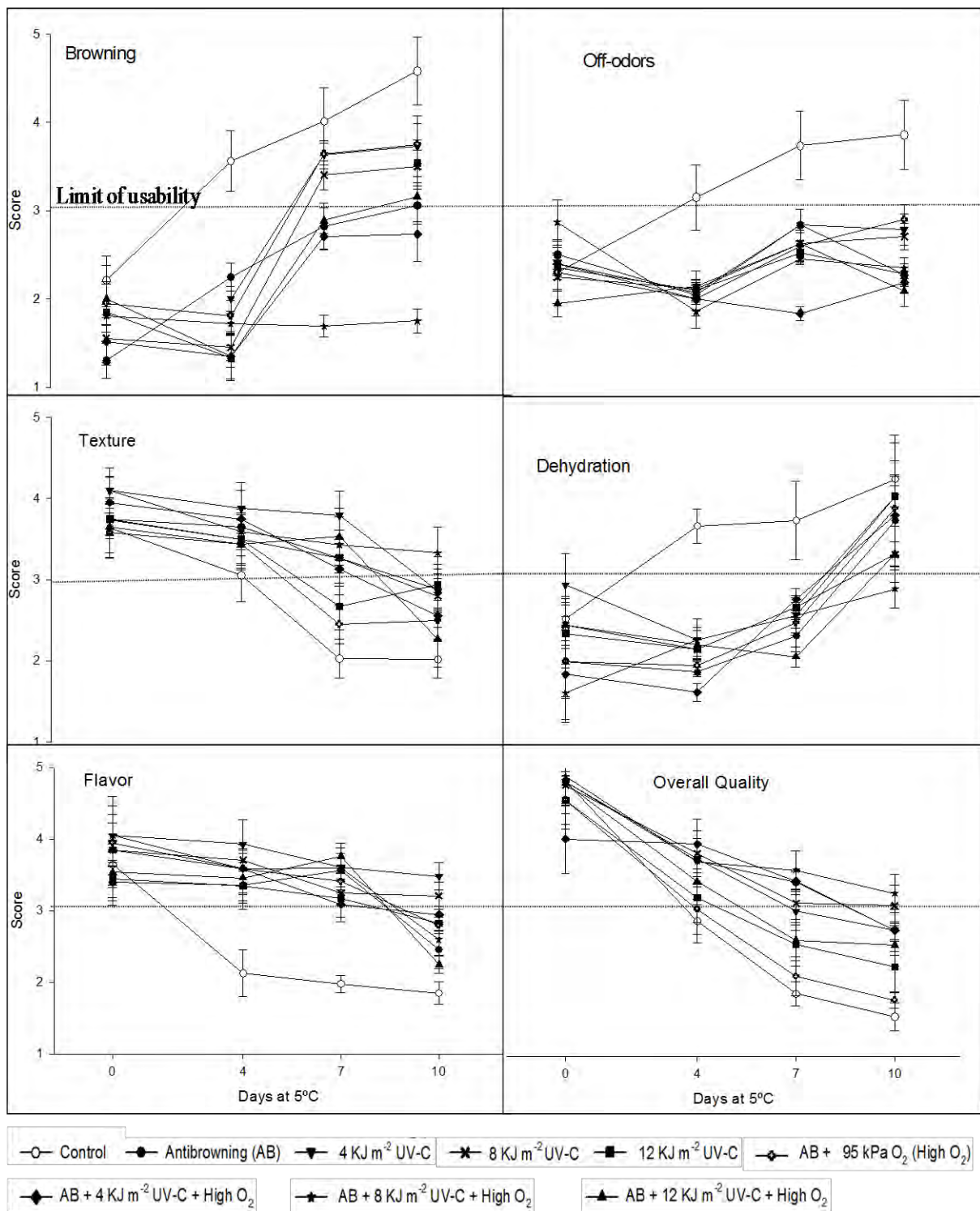


Figure 2: Results of sensory analysis in fresh-cut nectarine stored up to 10 days at 5 °C.

6.4.5 Microbial analyses

In all treatments and throughout the 10 days of storage, the presence of *E. coli*, *Salmonella* spp. and *L. monocitogenes* was not detected. Similar results were found by Abadias et al. (2008) in FC fruit.

During storage, mould counts were not detected for treatment Control; antibrowning; 4 KJ m⁻² UV-C ; 8 KJ m⁻² UV-C ; 12 KJ m⁻² UV-C ; AB + O₂ ; AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂. However, the treatment AB + 8 KJ m⁻² UV-C + High O₂ after 10 days of storage presented 0.65 log cfu g⁻¹ moulds counts and the treatment AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂ presented 0.45 log cfu g⁻¹ moulds counts (data not shown). Probably, for this moulds it would be necessary to use another dose of UV-C to inhibit microbial growth. This may be due to the application of correct procedures of hygiene during the handling of samples. Similar results have been previously reported during handling and storage of FC fruits, such as orange slices (Pretel et al., 1998) and melon (O'Connor et al., 1996).

Regarding the presence of mesophilics, there is a decrease over the storage period for all treatments without high O₂, while under high O₂ no growth of mesophylic was found. This can be related to the high O₂ action against microorganisms (Day, 2001; Allende et al. 2002) as well as to the increase of CO₂ levels within packages (Figure 4). According to Farber (1991), the CO₂ has an antimicrobial effect, since CO₂ causes changes in cell membrane, including the effect on the absorption of nutrients, direct enzymes inhibition or the decrease in the speed of enzymatic reaction, penetration in the bacterial membranes by varying the intracellular pH and directly influences in the physicochemical properties of proteins.

All treatments kept a low microbial growth up to 7 days of storage for yeast and up to 10 days for mesophilic (Figure 3 and 4). There is a smaller amount of yeast in the UV-C and high O₂ treatments than in the rest (Figure 3). After 10 days of storage, practically no yeast growth was detected in AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂ treated nectarine pieces.

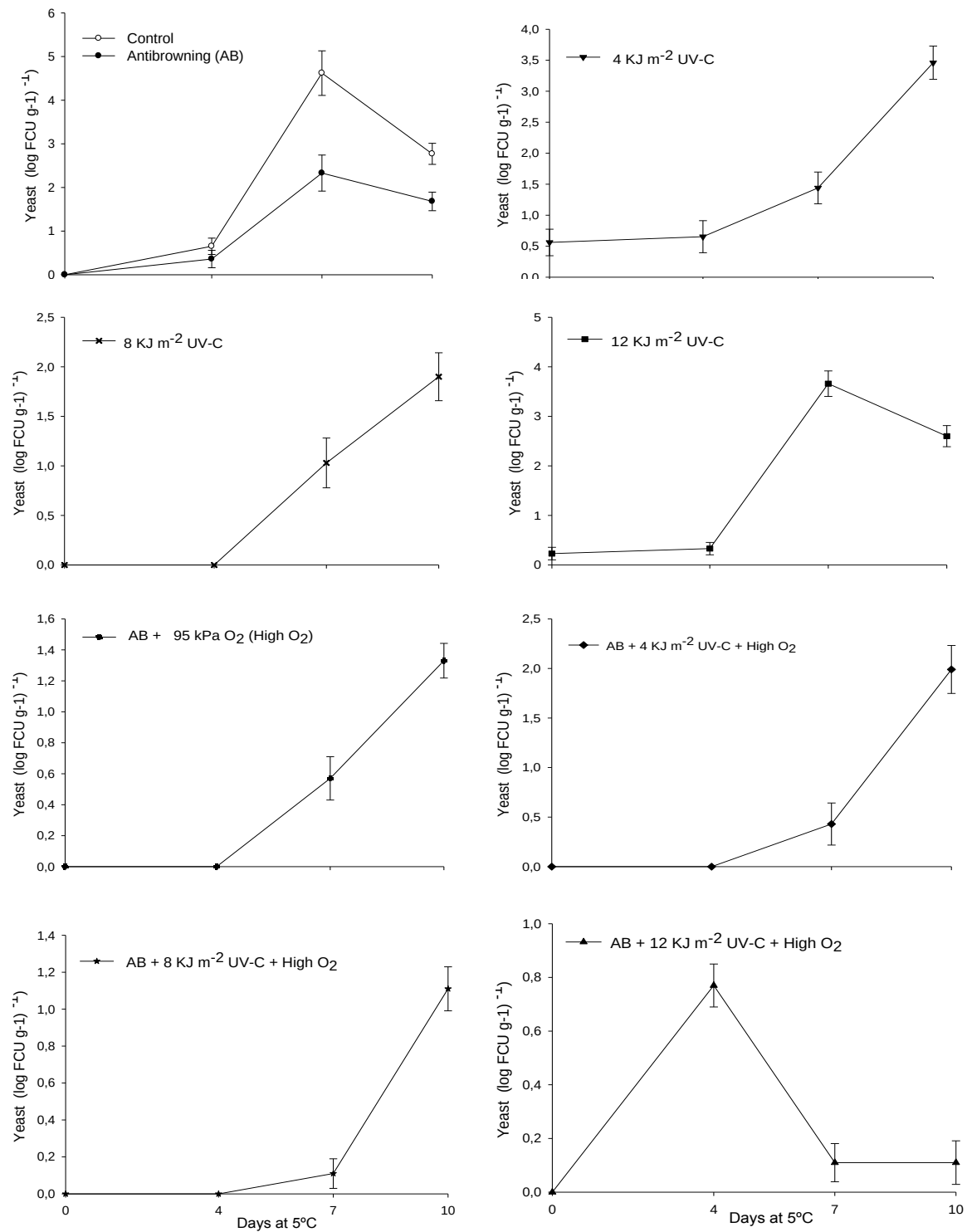


Figure 3: Results of the microbiological analysis of fresh-cut nectarines under different treatments and stored up to 10 days at 5 °C.

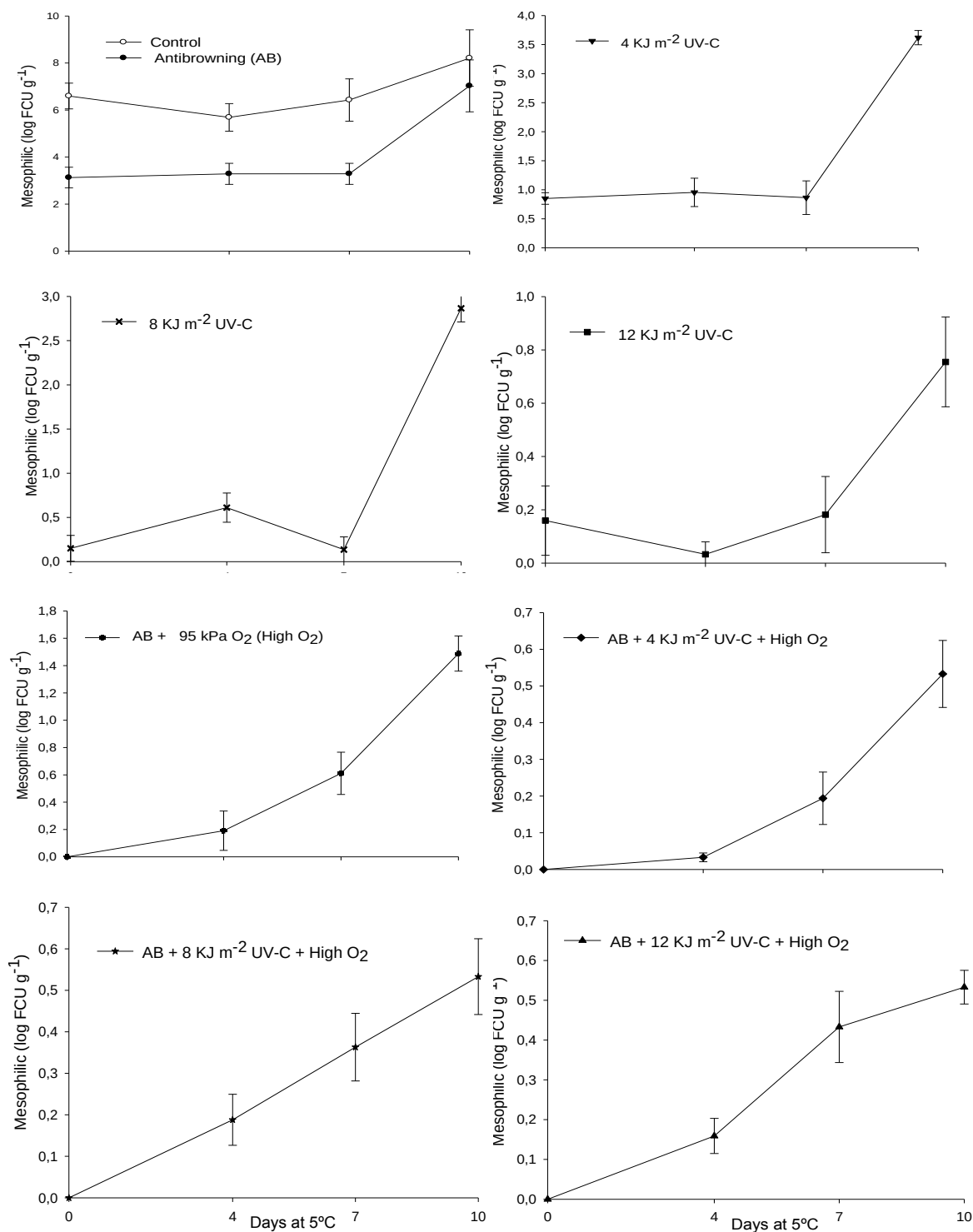


Figure 4: Results of the microbiological analysis of fresh-cut nectarines under different treatments and stored up to 10 days at 5 °C.

6.5 CONCLUSIONS

As main conclusion, the UV-C radiation at an appropriate dose, alone or combined with high O₂, reduce microbial loads without adversely affecting nor the SSC, TA and pH neither the sensory quality of nectarine ‘R48’ pieces. As far as we know, the application of these treatments was not early studied for FC stone fruit.

The treatment AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ did not affect the sensory quality of FC nectarine, after 7 days of storage at 5 °C. Throughout the 10 days of chilling storage, the presence of *E. coli*, *Salmonella* spp. and *L. monocitogenes* in nectarine pieces in different treatments was not found.

Under UV-C radiation and high O₂, no growth of mesophilic bacteria in FC nectarine was detected. This later gives the nectarine ‘R48’ the possibility to be marketed as a FCP for 10 days with the guarantee of food safety and adequate overall quality, being a possible tool, applicable at commercial scale.

6.6 ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to CAPES (Brazil) for granting Luciana da Silva Borges (scholarship 0081-11-6 PDEE). The authors acknowledge Frutas Esther S.A. for providing nectarines and to the Institute of Plant Biotechnology of the Technical University of Cartagena for the use of some equipment.

6.7 REFERENCES

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Viñas I. 2008. Microbiological quality of fresh minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int J Food Microbiol.* 123: 121-129
- E. Aguayo, V.H. Escalona, F. Artés. **Quality of minimally fresh processed *Cucumis melo* var. *saccharinus* as improved by controlled atmosphere.** *Eur. J. Hort. Sci.*, 72 (2007), pp. 39–45
- Allende, A., Artés, F. 2003. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed ‘Lollo rosso’ lettuce. *Food Res Inter.* 36: 7, 739–746.
- Allende, A., Jacxsens, L., Devlieghere F., Debevere J., Artés, F. 2002. Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. *J Food Protect.* 65: 10, 1565-1573.

Artés, F. 2000. Productos vegetales procesados en fresco. In: Aplicación del frío a los alimentos. Ed. M. Lamúa. A. Madrid Ediciones. 5:127-141.

Artés, F., Gómez, P., Artés-Hernández, F. 2006. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review*, 5:2, 1-13.

Artés, F., Gómez PA, Artés-Hernández F, 2007. Physical, physiological and microbial deterioration of minimally fresh processed fruits and vegetables. *Food Sci Technol Int* 13:177–188.

Artés, F., Gómez, P., Artés-Hernández, F. 2009. Pérdidas de calidad y su control en productos hortofrutícolas mínimamente procesados en fresco. In: Vegetales frescos cortados. Aspectos nutricionales y sensoriales. Ed. G. González-Aguilar. Edit. Trillas. 1: 19-43.

Artés, F., Martínez, J.A., Marín, J.G. 1999. Quality changes in minimally processed 'Romaine' lettuce as affected by several treatments. In: Agri-Food Quality II. Qualitymanagement of fruits and vegetables. Ed. The Royal Society of Chemistry. Edits: Hägg, M., Avenhainen, R., Evers, A.M. and Tiikkala, K. London. 115-118.

Artés-Hernández, F., Escalona, V.H., Robles, P.A., Martínez-Hernández, G.B., Artés, F. 2009. Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. *J. Sci. Food Agric.* 89, 414-421.

Bett K.L. 2002. Evaluating Sensory Quality of Fresh-cut Fruits and Vegetables. In O. Lamikanra (Ed.), *Fresh-Cut Fruits and Vegetables. Science, Technology, and Market*. 427-438. Boca Raton, Florida: CRC Press.

Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., Robinson, R.K. 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry - a critical review. *J. Sci. Food Agric.* 80, 637-645.

Chagas, P. C.; SHIRAHIGE, F. H.; SILVA, P. P. M.; SPOTO, M. H. F.; CHAGAS, E.; PIO, R. Avaliação da qualidade de pêssegos "Regis" minimamente processados. **Boletim CEPPA**, Curitiba. V.26, n.2, p.179-186, dez. 2008.

Costa, A.C.; Antunes, P.L.; Rombaldi, C. V.; Gularte, M. A. Controle do escurecimento enzimático e da firmeza de polpa em pêssegos minimamente processados. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.1094-1101, 2011.

Day, B. Fresh prepared produce: GMP for high oxygen MAP and non-sulphite dipping. Guideline no. 31. Chipping Campden: Campden and Chorleywood Food Research Association Group. 1-76. 2001.

A. ElGhaouth, C. Wilson, M. Wisniewski. **Ultrastructural and cytochemical aspect of the biocontrol activity of *Candida saitoana* in apple fruit**. *Phytopathology*, 88 (1998), pp. 282-291

Farber, J.M. 1991. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology — a review. *J. Food Prot.*, 54 , pp. 58–70.

Ferreira, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In:**45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p.255-258.

Gorny, J.R. and A.A. Kader, 1997. Low oxygen and elevated carbon dioxide atmospheres inhibit ethylene biosynthesis in preclimacteric and climacteric apple fruit. **J. American Soc. Hortic. Sci.**, 122: 542–546.

Guerrero-Beltrán, J.A.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2004). Review: Advantages and limitations on processing foods by UV Light. *Food Science Technology Int.*, v. 10, p.137-147.

Koukounaras, A., Diamantidis, G., Sfakiotakis, E., 2008. The effect of heat treatment on quality retention of fresh-cut peach. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 30–36.

Masih, L.; Roginski, H.; PREMIER, R.; TOMKINS, B.; AJLOUNI, S. Soluble protein content in minimally processed vegetables during storage. **Food Research International**, v. 35, p. 697-702, 2002.

Medlicott, A. P.; BHOGOL, M.; REYNOLDS, S. B. Changes in peel pigmentation during ripening of mango fruit (*Mangifera indica* var. Tommy Atkins). **Annals of Applied Biology**, London, v.109, n.3, p.651-656, 1986.

Moretti, C. L. Processamento mínimo de hortaliças: Tendências e desafios. **Horticultura Brasileira** 19: 172, 2001.

O'CONNOR-SHAW, R.E., ROBERTS, R., FORD, A.L. and NOTTINGHAM, S.M. 1996. Changes in sensory quality of sterile cantaloupe dice stored in controlled atmospheres. **J. Food Sci.** 61, 847-85

PACE, B.; Cefola, M.; Renna, F. and Attolico, G. Relationship between visual appearance and browning as evaluated by image analysis and chemical traits in fresh-cut nectarines. **Postharvest Biol Technol.** 61 (2011) 178–183.

PETREL, MT, FERNÁNDEZ PS, MARTÍNEZ, A. ROMOJARO F. The effect of modified atmosphere packaging on "ready to-eat" oranges. *LWT-Food Science and Technology* 31, 322-328.

Raybaudi-Massilia, R. M.; Mosqueda-MELGAR, J.; SOBRINO-LÓPEZ, A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Shelf-life extension of fresh-cut 'Fuji' apples at different ripeness stages using natural substances. **Postharvest Biology and Technology**, 45, 265-275, 2007.

ROMBALDI, C. V.; TIBOLA, C. S.; FACHINELLO, J. C.; SILVA, J. A. Percepção de consumidores do Rio Grande do Sul em relação a quesitos de qualidade em frutas/ Perception of Rio Grande do Sul consumers about fruit quality questions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 29, 3, 681-684, 2007.

Saltveit, M.E. Fresh-cut vegetables. In: BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. **Postharvest physiology and pathology of vegetables**. New York: Marcel Dekker. Cap.22, 691- 712, 2003.

SOARES, N. F. F.; GERALDINE, R. M.; MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Celso Luiz Moretti. Embalagens. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE, p. 153-169. 2007.

Vicente, A.R.; Martínez, G.A.; Chaves, A.R.; Civello, P.M. 2006. Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 40, 16-22.

Zagory, D. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 313-321, 1999.

CAPITULO V

COMPARISON OF DPPH AND FRAP ASSAYS FOR ESTIMATING ANTIOXIDANT ACTIVITY AND SEPARATION OF ORGANIC ACIDS AND PHENOLIC COMPOUNDS BY LIQUID CHROMATOGRAPHY IN FRESH-CUT NECTARINE

Luciana da Silva Borges⁹, Romy Goto¹, Giuseppina Pace Pereira Lima¹⁰ and Francisco Artés^{11*}

7.1 ABSTRACT

Nectarine contain relevant amounts of antioxidants, including hydroxycinnamic acids, flavan-3-ols, flavonols, anthocyanins, procyanidins, and carotenoids. The aim of this research was to compare the efficiency of DPPH and FRAP assays to estimate antioxidant activities and contents in nectarine minimally processed. And Separation of organic acids, phenolic compounds and carotenoids by liquid chromatography (HPLC). Nectarine fruits 'R48' cv. were hand harvested in a commercial farm from Frutas Esther S.A. located in Cieza (Murcia) on the southeastern Mediterranean area of Spain. Immediately after harvesting the fruits were transported about 80 km in an air conditioned car to the Pilot Plant of the Technical University of Cartagena and stored at 0-1°C and 90% HR. The following treatments were applied: Control; 1% citric acid + 1% calcium chloride as antibrowning (AB) agent; 4 KJ m⁻² UV-C; 8 KJ m⁻² UV-C; 12 KJ m⁻² UV-C; AB + $\cong$ 95 kPa O₂ (High O₂) ; AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂; AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ and AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂. These results are of interest, as the phenolic content of fruits can be related to their antioxidant activity and their health-promoting properties. There was clear trend in phenolic content in fresh-cut nectarine the treatment AB + 8 kJ m⁻²UV-C + High O₂ . The phenolic compounds of 22 nectarine were studied and quantified by HPLC. Hydroxycinnamates, flavonols, and anthocyanins were detected. These results allow to conclude that the most abundant compounds found in this Study of fresh-cut nectarine were chlorogenic acid, caffeic acid and ellagic acid in HPLC

⁹ Department of Plant Production – Horticulture Sector, UNESP– Botucatu- - Caixa Postal 237, CEP: 18603-970, Botucatu (SP). Email: luchorti@fca.unesp.br; romy@fca.unesp.br

¹⁰ Department of Chemistry and Biochemistry, Institute of Biosciences, Universidade do Estado de Sao Paulo, UNESP, CP 510, CEP 18.618-000, Botucatu, Sao Paulo, Brasil. E-mail: gpplima@ibb.unesp.br

^{11*}Correspondence to: Francisco Artés. Postharvest and Refrigeration Group, Department of Food Engineering, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48, E-30203 Cartagena, Murcia, Spain. E-mail: fr.artes@upct.es

chromatograms were recorded at 280 nm, quercetin 3-galactoside, quercetin 3-Xyloside in 340nm and Cyanidin 3-glucoside in 510nm.

Keywords: *Prunus persica*; polyphenols; flavonols; anthocyanins; *FRAP*; *DPPH*; *HPLC*.

7.2 INTRODUCTION

Fact observed in the evolution of diet is the search for healthy food and quality, highlighting the increased consumption of fruits and vegetables. We observe today that the foods are no longer considered mere sources of nutrients, but also a source of quality of life, health, prevention and longevity. In this context, functional foods represent a promising market and constantly growing, which has aroused the interest of the scientific community.

The importance of consuming fruits as sources of compounds with antioxidant activity has been suggested by different research groups. These compounds include flavonoids, anthocyanins, ascorbic acid, carotenoids, tocopherols (Gil et al., 2002; Cevallos-Casals et al., 2005).

Nectarine contain relevant amounts of antioxidants, including hydroxycinnamic acids, flavan-3-ols, flavonols, anthocyanins, procyanidins, and carotenoids, which are mainly located in the skin (Tomas-Barberan et al., 2001; Gil et al., 2002).

Antioxidants play a very important role in the body defense system against reactive oxygen species (ROS). The ROS are the harmful byproducts generated during normal cell aerobic respiration (Gutteridge & Halliwell, 2000). In addition, different environmental stress factors such as pollution, drought, temperature, excessive light intensities and nutritional limitation are able to increase the production of ROS (Arora, Sairam, & Srivastave, 2002; Rijstenbil, 2002).

The defensive effects of natural antioxidants in fruits and vegetables are related to three major groups: vitamins, phenolics, and carotenoids. Ascorbic acid and phenolics are known as hydrophilic antioxidants, while carotenoids are known as lipophilic antioxidants (Halliwell, 1996). Many of these compounds are known antioxidant, which when present at high levels compared with a compound oxidisable significantly retard or inhibit oxidation of these compounds (Chen et al., 2012).

Oxidative stress, caused by an imbalance between antioxidant systems and production of oxidative compounds (free radicals, ROS) is apparently associated with various diseases of multifactorial nature, especially the various types of cancer, cardiovascular diseases and inflammatory disorders. The mechanisms by which these pathologies develop generally involve oxidative changes considered critical molecules, including proteins, carbohydrates, nucleic acids, in addition to the substances involved in the modulation of gene expression and inflammatory responses (Kawanishi et al., 2002; Laguerre; Lecomte; Villeneuve, 2007).

Phenolic compounds are aromatic metabolites of plants secondary metabolism that have a common structure with an aromatic ring with at least one hydroxyl group, which provides the ability to neutralize reactive species, helping the body to protect itself from oxidative stress (Wojdyło, Oszmianski, & Laskowski, 2009). Additionally, phenols contribute to fruits' color and taste and have been described as possessing anticarcinogenic and antimutagenic activity (Al-Duais, 2009; Gorinstein et al., 2009). Various studies have shown that phenolic compounds have high antioxidant potential, resulting in a beneficial effect to human health (Vijaya Kumar Reddy, Sreeramulu, & Raghunath, 2010).

There are several methods to determine antioxidant activity of fruits and vegetables, also known as bioactive substances. However, from the biochemical point of view there is no way to select the most efficient way to determine those compounds that can be influenced by several factors, such as the solvent employed for the determination, time, extraction temperature and the nature the plant.

Several assays have been frequently used to estimate antioxidant capacities in fresh fruits and vegetables and their products and foods for clinical studies including 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Brand-Williams et al., 1995; Gil et al., 2002), ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Benzie and Strain, 1999; Guo et al., 2003; Jimenez-Escrig et al., 2001).

DPPH method consists in determining the ability to capture free radical DPPH by antioxidants. The free radical 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazina presents a maximum absorbance at 515 nm. After addition of the antioxidant, produces a decrease in absorbance proportional to the concentration and the antioxidant activity of sample (Brand-Williams et al., 1995).

Pulido et al. (2000) describe the method FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) - developed as an alternative to determine the iron reduction in biological fluids and aqueous solutions of the pure compounds. The method can be applied not only for the study of antioxidant activity in extracts of food and beverage, but also for the study of antioxidant efficiency of pure substances, with results comparable to those obtained with other more complex methods.

The aim of this research was to compare the efficiency of DPPH and FRAP assays to estimate antioxidant activities and contents in nectarine minimally processed. And Separation of organic acids, phenolic compounds and carotenoids by liquid chromatography.

7.3 MATERIALS AND METHODS

7.3.1 Plant materials

Nectarine fruits ‘R48’ cv. were hand harvested in a commercial farm from Frutas Esther S.A. located in Cieza (Murcia) on the southeastern Mediterranean area of Spain. Immediately after harvesting the fruits were transported about 80 km in an air conditioned car to the Pilot Plant of the Technical University of Cartagena and stored at 0-1°C and 90% HR. The next day the nectarine was minimally processed as described below.

The nectarine fruits were carefully selected to obtain uniformity in the whole lot. All fruits with lesions or cracks were discarded and only intact fruits were processed. The physical characteristics of nectarines were monitored in a sample of 20 whole fruits, randomly selected (Table 1).

Table 1: Initial characterization of whole nectarine fruit

Weight g	VD Cm	LD cm	L*	Chrome	Hue angle ° Hue	TA Citric acid/100g	SSC °Brix	pH
183.74	6.89	7.06	85.94	9.38	23.65	0.085	11.85	3.70

VD: Vertical diameter; LD: Longitudinal diameter; L*: Luminosity; TA: Titratable acidity; SSC: Soluble solids content

7.3.2 Treatments

The following treatments were applied: Control; 1% citric acid + 1% calcium chloride as antibrowning (AB) agent; 4 KJ m⁻² UV-C; 8 KJ m⁻² UV-C; 12 KJ m⁻² UV-C; AB + $\cong$ 95 kPa O₂ (High O₂) ; AB + 4 KJ m⁻² UV-C + High O₂; AB + 8 kJ m⁻² UV-C + High O₂ and AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂.

7.3.2 Extractions

7.3.3 Antioxidant activity determinations to DPPH

The DPPH assay was done according to the method of Brand-Williams et al. (1995) with some modifications. The stock solution was prepared by dissolving 24 mg DPPH with 100mL methanol. Fresh nectarine samples (1.0 g) were extracted in 99.8% methanol (3 mL) and centrifuged at 6,000 $\times$ g (Hettich Zentrifugen Mikro 220R) for 10 minutes at 5 °C. Supernatant aliquots the 21 μ L in LE-8404-PLATE-UV and DPPH solution (194 μ L) was that were stored in the dark for 30 minutes. Then the absorbance was taken at 517 nm using the spectrophotometer. A negative control was prepared with 194 μ L DPPH in 21 μ L methanol, in order to observe the DPPH radical decay against the sample antioxidant capacity. The standard curve was linear between 25 and 800 mM Trolox. Results are expressed in mg/100g AA fresh mass. Additional dilution was needed if the DPPH value measured was over the linear range of the standard curve.

7.3.4 Antioxidant activity determinations to FRAP

The FRAP assay was done according to Benzie and Strain (1996) with some modifications. The stock solutions included 300mM acetate buffer (3.1 g C₂H₃NaO₂ - 3H₂O and 16mL C₂H₄O₂), pH 3.6, 10mM TPTZ (2, 4, 6- tripyridyl-s-triazine) solution in 40mM HCl, and 20mM FeCl₃ - 6H₂O solution. The fresh working solution was prepared by mixing 25mL acetate buffer, 2.5mL TPTZ solution, and 2.5mL FeCl₃ - 6H₂O solution and then warmed at 37 °C before using. Fresh nectarine samples (1.0 g) were extracted in 99.8% methanol (3 mL) and centrifuged at 6,000 $\times$ g (Hettich Zentrifugen Mikro 220R) for 10 minutes at 5 °C. Fruit extracts (6 μ L) were allowed to react with 198 μ L of the FRAP solution in LE-8404-PLATE-UV for 10 min in the dark condition. Readings of the colored product [ferrous tripyridyltriazine complex] were then taken at 593 nm. The standard curve was linear

between 25 and 800 mM Trolox. Results are expressed in mg/100g AA fresh mass. Additional dilution was needed if the FRAP value measured was over the linear range of the standard curve.

7.3.5 Determinations of total phenols

Analysis of total phenols was performed in accordance with the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method (Singleton Jr.; Rossi, 1965). Fresh nectarine samples (1.0 g) were extracted in 99.8% methanol (3 mL) and centrifuged at $6,000 \times g$ (Hettich Zentrifugen Mikro 220R) for 10 minutes at 5 °C. Fruit extracts (19.2 μL) were allowed to react with 29 μL It was added Folin–Ciocalteu reagent and after 3 min in LE-8404-PLATE-UV, saturated solution of Na_2CO_3 was added, and the reaction mixture was incubated for 1 h at the same temperature. The absorbance was measured at 750 nm and the results were expressed in mg phenols 100 g^{-1} dry mass.

7.3.6 Extraction of Phenolic Compounds

The frozen fruit material (5g) was homogenized in a Polytron (1 min on ice) with 10 mL of extraction solution (water/methanol 50:50 containing 2 mM NaF to inactivate polyphenol oxidases and prevent phenolic degradation due to browning). Homogenates were kept in ice until centrifuged (11500 rpm, 15 min, 2-5 °C, 16000g); the supernatant was recovered carefully to prevent contamination with the pellet, and the volume was measured A 1-mL portion of this extract was filtered through a 0.45- μ filter (Osmonics/MSI Cameo Nylon Filters, Fisher Scientific, Los Angeles, CA) and directly analyzed by HPLC after a period not exceeding 24 h. This extraction procedure recovers 85% of the total soluble anthocyanins, 86% of the hydroxycinnamates and flavonols, and 92% of the procyanidins present in the nectarine.

7.3.7 HPLC-DAD Analyses.

Samples of 50 μL of extracts were analyzed using an HPLC system (Hewlett-Packard 1050 pump) coupled with a photodiode array detector (DAD) (Series 1040M, Series II) and an autosampler (Series 1050), operated by HP ChemStation software. A reversed-phase C18 Nucleosil column (150 x 4.6 mm i.d.; particle size 5 μm) (MetaChem Technologies, Inc. Torrance, CA) with a guard column containing the same stationary phase (Safeguard holder

5001-CS) was used. Four pumps (A, B, C, and D) were used for mixing the mobile phase to avoid pressure fluctuations due to the mixing of methanol (MeOH) in water. Formic acid (5%) was added to both water and methanol to increase peak resolution before preparing the following mobile phases: 95% water + 5% methanol (A); 88% water + 12% MeOH (B); 20% water + 80% MeOH (C); and MeOH (D). All solvents were HPLC grade. Elution started with 100% A, which remained isocratic until 5 min. A gradient was then used to reach 100% B at 10 min, held isocratic for 3 more minutes. From 13 to 35 min a linear gradient was used to reach 75% B and 25% C, and then 50% B and 50% C at 50 min, and 100% C at 52 min, then maintained isocratic until 57 min. The column was then washed with 100% D at 60 min. The flow rate was 1 mL/min and chromatograms were recorded at 510, 340, and 280 nm. Was Used for analysis of the phenolic compounds UVC treatment he UVC treatment AB + 8 kJ m-2UV-C + High O2 which had the highest concentration which was 17.72 mg/100g which had the highest concentration was 17.72 mg/100g which of total phenols.

7.3.8 Identification and Quantification of Phenolic Compounds.

The phenolic compounds in fruit extracts were identified by chromatographic comparisons with authentic markers. Individual anthocyanins were quantified by comparisons with an external standard of cyanidin 3-rutinoside (Apin Chemicals Ltd., Oxon, UK) at 510 nm; flavonols as quercetin 3-rutinoside at 340 nm; hydroxycinnamic acid derivatives as chlorogenic acid at 340 nm; and flavan 3-ols as catechin at 280 nm (all these markers were from Sigma, St. Louis, MO).

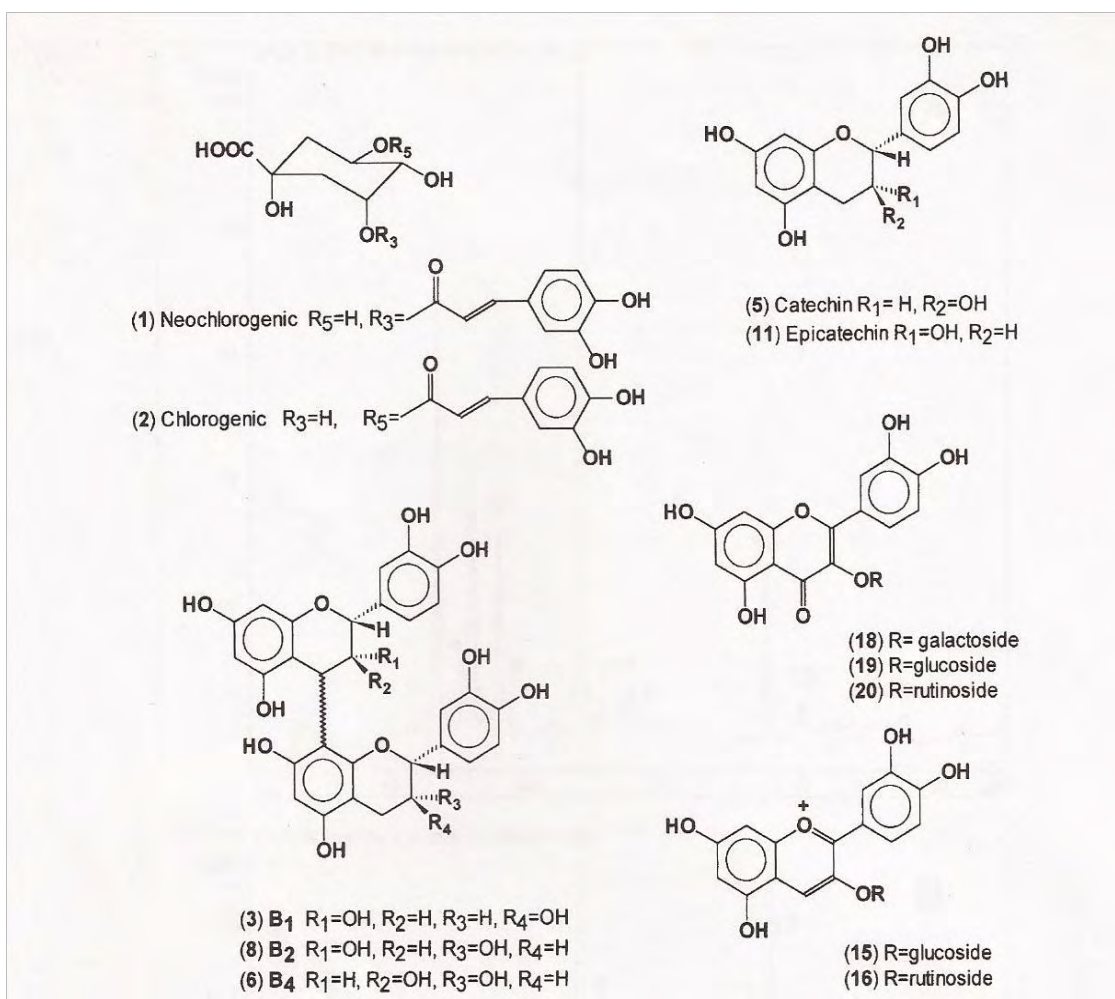


Figura 1: Structure of some phenolic compounds (Tomas- Barberan et al., 2001)

7.3.9 Statistical analysis

The statistical design was completely randomized design with nine treatments and four times of assessment, and using three replicates per treatment. All data were statistically analyzed by an ANOVA with F test. Analyses were done in the software SISVAR (Ferreira, 2000).

7.4 RESULTS AND DISCUSSION

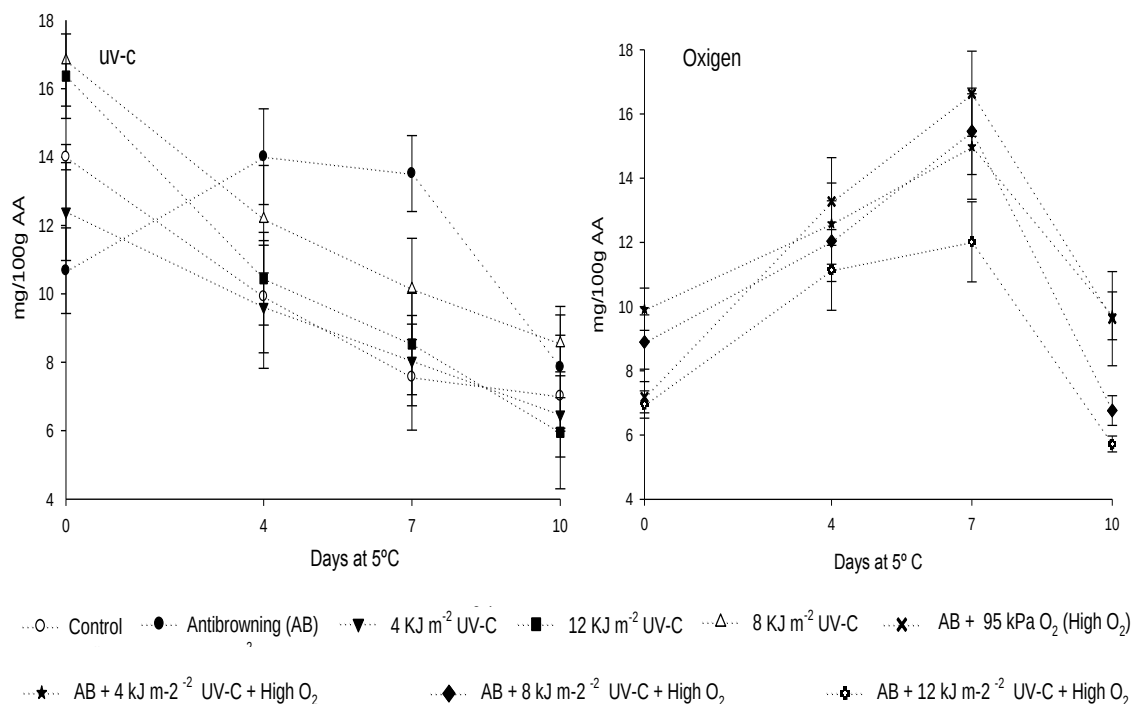


Figure1: Antioxidant activities of determined by the FRAP in nectarine minimally processed storage at 5°C.

The concentration of antioxidant by the FRAP method has been decreasing over the period of storage for all treatments with UV-C radiation and other treatments being around 16.82 to 5.95 mg/100gAA (Figure 1A). In contrast, Costa et al., (2006) and González-Aguilar, Zavaleta-Gatica, and Tiznado-Hernández (2007) found that UV-C treatment increased total antioxidants in broccoli and fresh-cut mango. Andrade Cuvi et al., (2011) checking the effect of the antioxidants in red pepper affected by UV-C Treatments at storage, overall, the present work shows that exposure to 10 kJ/m⁻² UV-C radiation in red bell peppers do not cause marked modifications in DPPH radical scavenging capacity or AA content.

Antibrowning (AB) for the treatment there was an increase over the period up to seven days Storage and with 13.5 mg/100AA value above the treatment which was control 7.09mg/100gAA.

With relation to treatments with high concentration of oxygen there was an increase in antioxidant content up to 7 days of storage with the highest value of 16.62 mg/100gAA for treatment with AB + $\cong$ 95 kPa O₂ (High O₂) and lowest to treatment with AB + 12 KJ m⁻² UV-

C + High O₂, value 12.01mg/100gAA (Figure 1B). This antioxidant is in agreement with the results of concentration of polyphenols of this study (Figure 3B) and according to Gil et al., (2002) found high correlation ($R^2=40.9$, $p = 0.05$) between antioxidant activities as determined by FRAP assays and phenolic contents in nectarines.

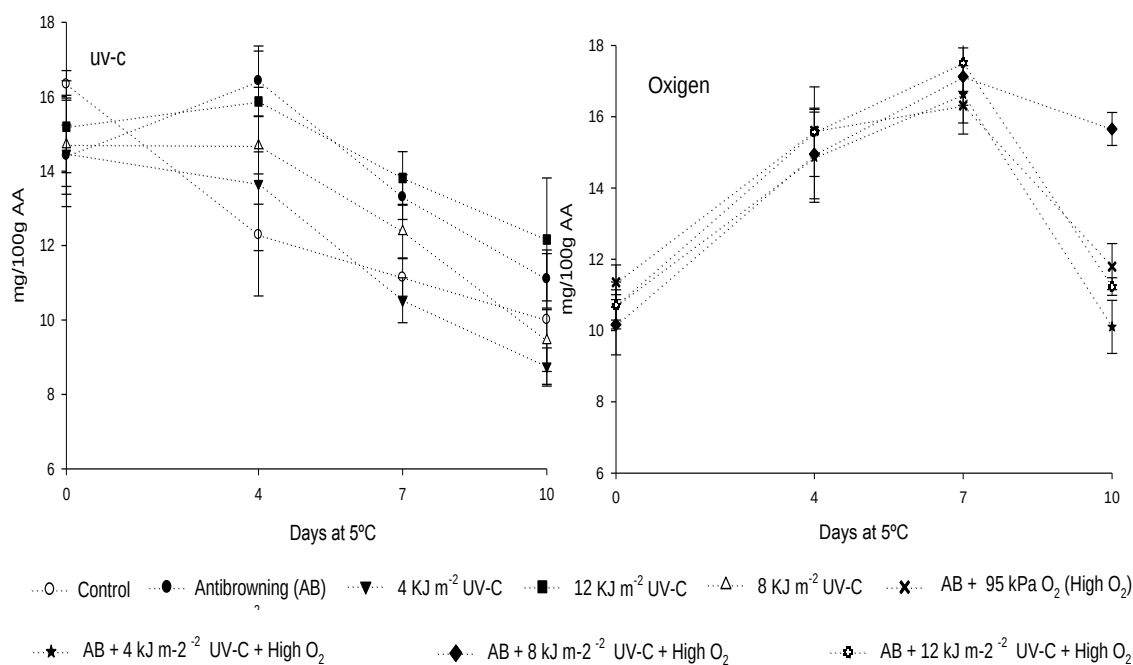


Figure 2: Antioxidant activities of determined by the DPPH in nectarine minimally processed storage at 5°C.

It can be observed in Figure 2 an increase in the concentration of antioxidant by DPPH by the fourth day of storage in which the treatment with antibrowning (AB) 16.42mg/100gAA showed the highest, followed by treatment with 12 KJ m⁻² UV-C (15.87mg/100g AA) and 8KJ m⁻² UV-C (14.68mg/100gAA). Lavelli et al (2009) obtained in a quality of nectarine as affected by storage in a antioxidant activity from 1.8 ± 0.2 mmol TE/kg.

Treatments with high concentration of oxygen, showed an increase in antioxidant activity until 7 days of storage, the values were around 17.51 to 16.31mg/100gAA by the DPPH methodology. Treatment with AB + 12 KJ m⁻² UV-C + High O₂ presented the highest value 17.51mg/100gAA. The minimally processed nectarine had higher antioxidant activity in DPPH method, in agreement with Sawai et al., (2005), DPPH has been widely used in the analysis of reaction mechanisms of polyphenolic compounds with free radicals. An advantage

of this method is that the free radical is stable and is commercially available, which prevents its generation by different ways, and ease of use.

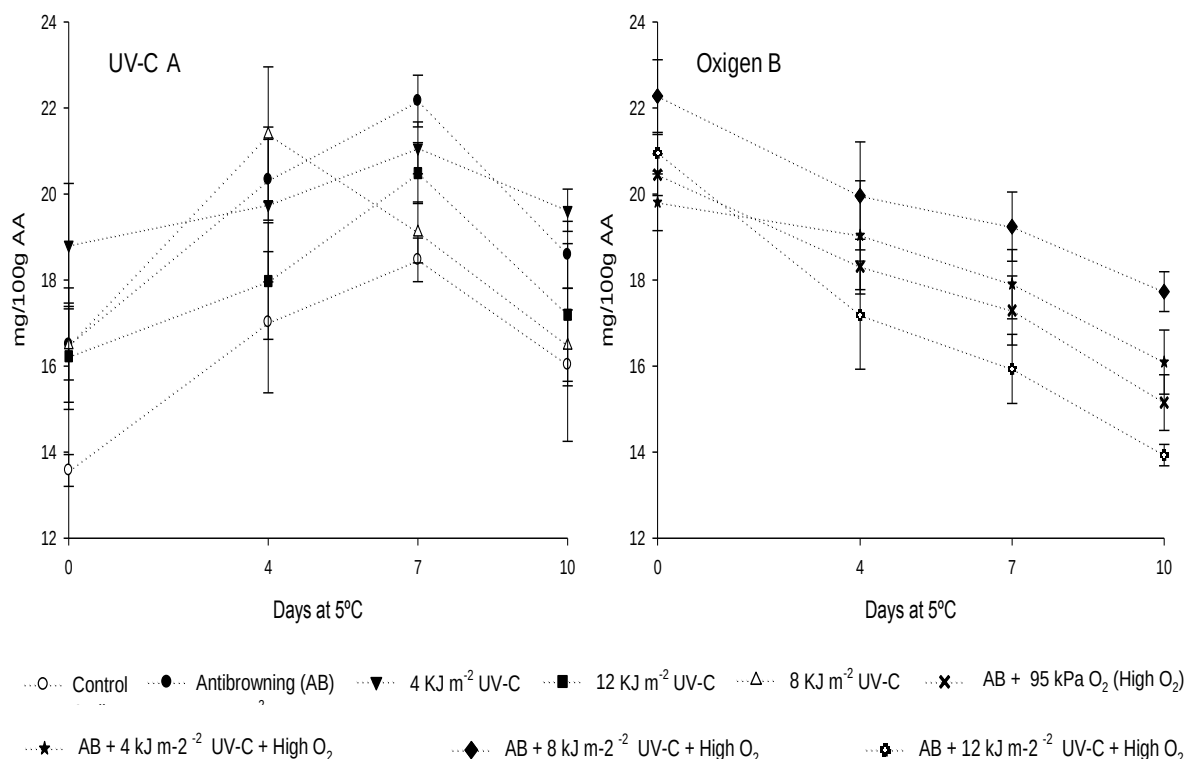


Figure 3: total phenolics contents in nectarine minimally processed storage after 10 days at 5°C.

For treatments with UV-C, control and antibrowning (AB) was an increase in concentration of polyphenols to 7 days of storage, treatment and control with the lowest level that was 18.46mg/100g and treatment with antibrowning (AB) presented the highest content which was 22.16mg/100g, showing a correlation with results obtained for antioxidant activity determined by DPPH and FRAP method in this work (figure3A).

For treatments with high concentration of oxygen, checks shown in figure 3B, which had decreased during the storage period for the concentration of polyphenols, and the treatment AB + 12 kJ m⁻² UV-C + High O₂ presented the lowest concentration to the days of storage was 13.93 mg/100g. And the treatment AB + 8 kJ m⁻²UV-C + High O₂ which had the highest concentration which was 17.72 mg/100g.

It was hoped that the antioxidant capacity reflects the phenolic compounds (total phenols and flavonoids) found in nectarine minimally processed and stored for 10 days at 5 °C, ie, due to the higher values found these compounds, also would present higher antioxidant activity. Probably the observed antioxidant activity is not attributed to these compounds, but other substances such as carotenoids (β -carotene), vitamins and minerals that also have the ability to eliminate reactive oxygen species.

According Lavelli et al., (2009) the antioxidant activity was linearly correlated to ascorbic acid content. This correlation is consistent with the prevalence of ascorbic acid in the nectars, compared to other antioxidants. In contrast, Previous studies demonstrated that the antioxidant activity of different peach and nectarine fruits, evaluated as both the ability to scavenge the DPPH radical and the ferric reducing capacity, is correlated to total phenolic content, whereas no correlation exists with the ascorbic acid and carotenoids contents (Gil et al., 2002). In this study, ascorbic acid probably responsible for the antioxidant activity of nectarine minimally processed.

In general the DPPH showed higher concentration of antioxidant with a range of 16.93 to 8.75mg/100g AA in comparison with FRAP, with a range of 16.8 to 5.95 mg/100gAA. Since these values for the two methods within a range established by Gil et al., 2002, which was the ranges of AA contents (mg/100g) were 4.8 to 13.2, The ranges of phenolic contents (mg/100 g) were 14 to 102 in nectarines.

To identify the different phenolics, a number of markers were available, including hydroxycinnamic acid derivatives, flavan-3ols, flavonols and anthocyanins. in this study were identify 22 different phenolic compounds in fresh-cut nectarine. Although the study of phenolic compounds, and Specifically phenolic acids, is considered to be most interested in finding linked to most biological phenomena, botanists, genetic and taxonomic. It is difficult to estimate its content quantitative in plant tissues absolutely, due to the wide variety of metabolic processes in the formation of phenolic substances (Evaristo and Leitão, 2001).

The HPLC-DAD analyses showed that the quantification for hydroxycinnamates, flavonols, and anthocyanins was quite good, especially in the specific wavelengths for the different compound types (280 nm for hydroxycinnamates (Figure 4), 340 nm for flavonols (Figure 5) and 510 nm for anthocyanins (Figure 6). Typically, each species is associated with

a particular most important class of polyphenols, whose content increases with age and vary with the vegetative growth of the plant absoluto (Evaristo and Leitão, 2001). The cultivar used in this work is the cycle later (June), which would justify the amount of the compounds found. and also the application of UV-C and O₂ concentrations as high conservation treatment in minimally processed nectarines.

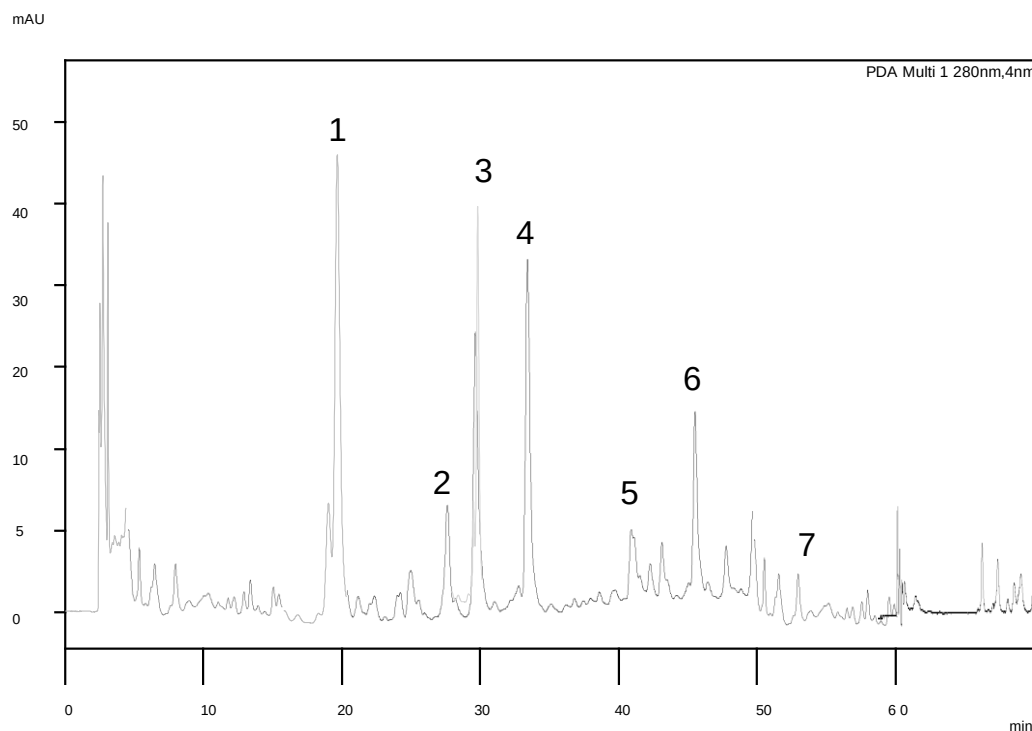


Figure 5: HPLC chromatograms of cv. R48 extracts recorded at 280nm **(1)** chlorogenic acid, **(2)** ferulic acid, **(3)** caffeic acid, **(4)** ellagic acid, **(5)** ác. p- coumaric, **(6)** fumaric acid, **(7)** sinap acid.

Compounds found at high concentration in nectarine were chlorogenic acid, caffeic acid and ellagic acid in chromatograms were recorded at 280 nm (Figure 5). Tomas- Barberan et al., (2001) analyzing phenolic compounds in peach, nectarine, and plum cultivars, identified of the phenolic compounds of 25 by HPLC-DAD-ESIMS. Fattouch et al. (2008) analyzed the profile of polyphenols and activities antioxidant and antimicrobial pulps and peels of apples, pears and quince and found that chlorogenic acid was the major phenolic compound found in three pulps from fruits. which was also observed in this work. Caffeic and chlorogenic acids have been reported as good free radical scavengers (Arrua et al., 2010).

We also found that the study synaptic acid, ferulic acid and p-coumaric acid. According Wanasundara et al. (1994) synaptic acids, ferulic and p-coumaric are more active antioxidants than acid derivatives benzoic, such as protocatechuic acid, vanillic and syringic. This is due to the double bond present in the molecule of derivative cinnamic acid, which participates in the stability of the radical by resonance shift of unpaired electron, while the benzoic acid derivatives do not exhibit this characteristic, this provavelmete acids justified the antioxidant activity found in this study.

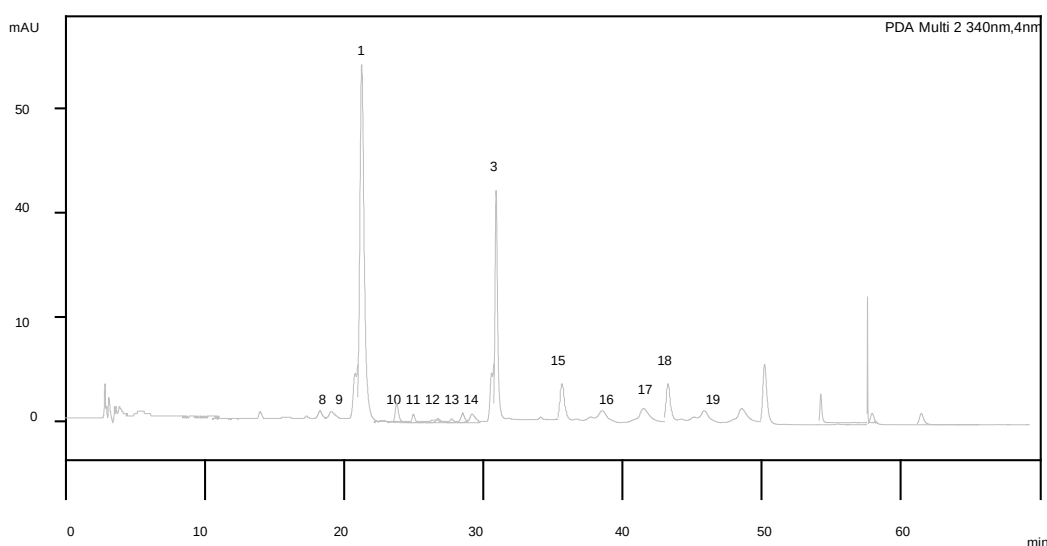


Figure 6: HPLC chromatograms of cv. R48 extracts recorded at 340nm **(8)** catequin, **(9)** procyanidin B4, **(10)** Procyanidin trimer, **(11)** procyanidin A Type dimer, **(12)** epicatechin, **(13)** procyanidin A type dimer, **(14)** procyanidin dimer, **(15)** quercetin 3- galactoside, **(16)** quercetin 3-glucoside + quercetin 3- rutinosidade, **(17)** quercetin pentosyle-pentoside, **(18)** quercetin 3-xyloside, **(19)** quercetin 3- rhamnoside.

Analyses allowed the identification of the flavonols of 12 by HPLC chromatograms in 340 nm (Figure 6). The Flavonoids pigments in fresh-cut nectarine this may be related to the chemical structure of the flavonoids, because the presence of water in the solution of the solvent used in this work, probably increased cell permeability and facilitated interactions of hydrophobic compounds. Polyphenolic compounds have been largely studied as antioxidant

compounds and its dietary ingest have shown protective effect against diseases such as coronary heart (Engler and Engler, 2006).

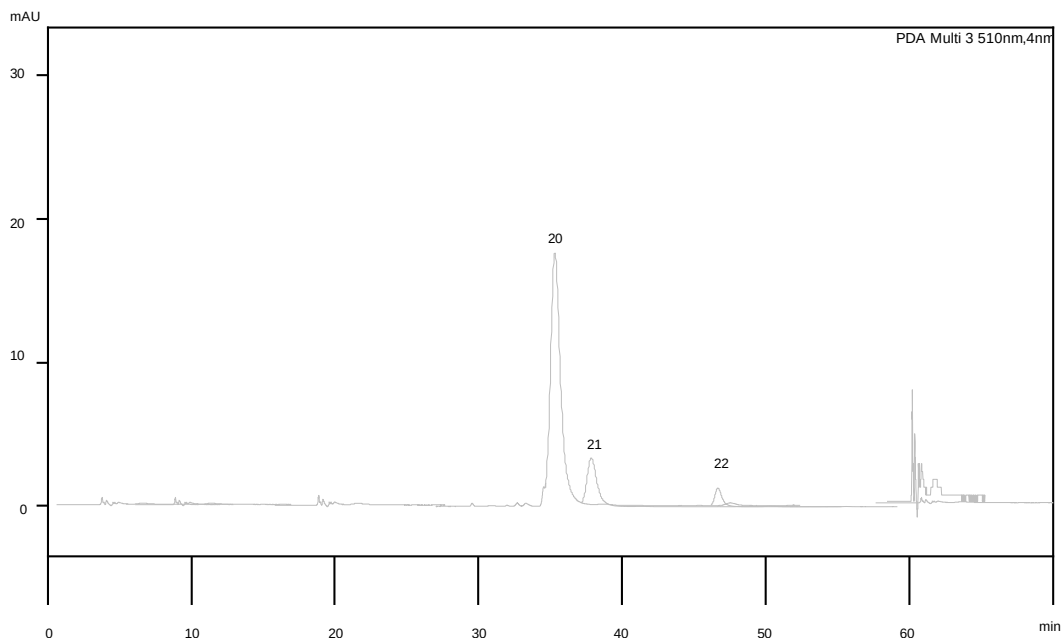


Figure 7: HPLC chromatograms of cv. R48 extracts recorded at 510 nm. **(20)** Cyanidin 3-glucoside, **(21)** Cyanidin 3-rutinoside, **(22)** Cyanidin 3-acetylglucoside.

The anthocyanin pigments the identification in fresh-cut nectarine by HPLC chromatograms in 510 nm were (20) Cyanidin 3-glucoside, 21: Cyanidin 3-rutinoside, 22: Cyanidin 3-acetylglucoside (Figure 7). According to the results found by Tomas-Barberan et al., (2001) that found main pigment was identified as cyanidin-3-glucoside and the minor one was identified as cyanidin-3-rutinoside.

There are some methods described for analysis of phenolic compounds by gas chromatography, based on its polarity characteristics. However, there is a need for a systematic investigation of sample preparation and determination of phenolics in foods, quantitation is complete, individually and / or group or class of phenolic compounds

7.5 CONCLUSION

These results are of interest, as the phenolic content of fruits can be related to their antioxidant activity and their health-promoting properties.

There was clear trend in phenolic content in fresh-cut nectarine the treatment AB + 8 kJ m⁻²UV-C + High O₂

The phenolic compounds of 22 nectarine were studied and quantified by HPLC. Hydroxycinnamates, flavonols, and anthocyanins were detected.

These results allow to conclude that the most abundant compounds found in this Study of fresh-cut nectarine were chlorogenic acid, caffeic acid and ellagic acid in HPLC chromatograms were recorded at 280 nm, quercetin 3-galactoside, quercetin 3-Xyloside in 340nm and Cyanidin 3-glucoside in 510nm.

7.6 ACKNOWLEDGEMENTS

Thanks are due to CAPES (Brazil) for granting the scholarship 0081-11-6 PDEE to Luciana da Silva Borges and to the Institute of Plant Biotechnology of the Technical University of Cartagena for providing some equipment. The authors acknowledge Frutas Esther S.A. for providing the nectarines used in this study.

7.7 REFERENCES

- Andrade Cuvi M. J.; Vincente A.R.; Concellón A., Chaves, A.R.Changes in red pepper antioxidants as affected by UV-C treatments and storage at chilling temperature. LWT-Food Sci. Technol. 44:1666-1671. 2011.
- Arrua, D., M.C. Strumia and M.A. Nazareno, 2010. Immobilization of caffeic acid on a polypropylene film: synthesis and antioxidant properties. J. Agric. Food Chem., 58: 9228-9234.
- Arora A, Sairam RK and Srivastava GC. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current science. 82 (10): 1227-1238.
- Al-Duais, M. (2009). Contents of vitamin C, carotenoids, tocopherols, and tocotrienols in the subtropical plant species *Cyphostemma digitatum* as affected by processing. Journal Agricultural of Food Chemistry, 57, 5420–5427

Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1996. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology* 299, 15–27.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 28, 25–30.

CHEN L.; HU J. Y.; WANG S. Q. 2012. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. *J Am Acad Dermatol*. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2012.02.009>. Acessado em 18 de abril de 2012.

Costa, L., Vicente, A. R., Civello, P. M., Chaves, A. R., & Martínez, G. A. (2006). UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 204e210.

Engler, M.B. and M.M. Engler, 2006. The emerging role of flavonoid rich cocoa and chocolate in cardiovascular health and disease. *Nutr. Rev.*, 64: 109-118.

Evaristo, I.M. and M.C. Leitaó, 2001. Identification and quantification by DAD-HPLC of the phenolic fraction contained in the leaves of *Quercus suber* L. *Silva Lusitana*, 9: 135-141.

Fattouch S, et al. (2008) Comparative analysis of polyphenolic profiles and antioxidant and antimicrobial activities of tunisian pome fruit pulp and peel aqueous acetone extracts. *J Agric Food Chem* 56:1084–1090.

Ferreira, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In...**45^a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p.255-258.

Halliwell, B., 1996. Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition* 16, 33–50.

Gorinstein, S., Park, Y. S., Heo, B. G., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., et al. (2009). A comparative study of phenolic compounds and antioxidant and antiproliferative

activities in frequently consumed raw vegetables. *European Food Research and Technology*, 228, 903–911.

González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M. A., Gardea, A. A., & Ayala-Zavala, J. F. Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72, 2007.

Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A., 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 4976–4982.

Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., Jiang, Y., 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research* 23, 1719–1726.

Gutteridge, J.M.C.&Halliwell, B. (2000). Free radicals and antioxidants in the year 2000 - Ahistorical look to the future, **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 899:136-147.

KAWANISHI, S.; MURATA, M.; TAKAHASHI, A.; SAITO, I. The role of metals in site-specific DNA damage with reference to carcinogenesis. *Free Radic Biol Med*, San Diego, USA, v. 32, p. 822-32, 2002.

Halliwell, B., 1996. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition** 16, 33-50.

Jimenez-Escrig, A., Rincon, M., Pulido, R., Saura-Calixto, F., 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5489–5493.

Lavelli, V.; Pompei, C.; Casadei, M.A. Quality of nectarine and peach nectars as affected by lye-peeling and storage. *Food Chemistry*. 115 (2009) 1291–1298

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Review. *Progress in Lipid Research*, v. 46, p. 244-282, 2007.

POURCEL, L; ROUTABOUL, J; CHEYNIER, V; LEPINIEC, L; DEBEAUJON, I. 2006. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. *Trends in Plant Science*, 12: 1 1360-1385.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

FRANK, H.A.; COGDELL, R.J. 1996. Carotenoids in photosynthesis. *Photochemical Photobiology*. 63:257-264.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Sci. Technol*, v. 40, p. 1-11, 2007.

Sawai Y, Moon JH, Sakata K, and Watanabe N (2005) Effects of structure on radical-scavenging abilities and antioxidative activities of tea polyphenols: NMR analytical approach using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals. *J Agric Food Chem* 53, 3598-3604.

Vijaya Kumar Reddy, C., Sreeramulu, D., & Raghunath, M. (2010). Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International*, 43, 285–288.

Wojdyło, A., Oszmianski, J., & Laskowski, P. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 56, 6520–6530.

Wanasundara U, Amarowicz R, Shahidi F. (1994). Isolation and identification of an antioxidative component in canola. *J Agric Food Chem*, 42 (6): 1285-90.

8 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Tanto a adubação orgânica, como a adubação convencional são duas ferramentas que podem auxiliar na obtenção de maior produtividade em plantas de jambu. A adubação orgânica, além dos benefícios já conhecidos em relação à fertilidade de solo, promoveu incremento de produção e também benefícios em relação a características desejáveis, como teor de antioxidantes, vitamina C e compostos fenólicos.

Os resultados obtidos tornam-se importantes sob o ponto de vista de um provável monitoramento da absorção e acúmulo dos nutrientes durante todo o ciclo da espécie;

Diferentes metodologias para obtenção de extratos dos óleo de jambu de modo a estabelecer qual a mais adequada a cada planta poderiam ser testadas;

Efeitos biológicos potenciais dos extratos e dos óleos obtidos e/ou de compostos isolados de *Spilanthes oleracea* devem ser verificados com maior precisão.

O estudo efetuado nesta pesquisa abre outras linhas de ação para trabalhos futuros, no sentido de valorizar estas plantas como fonte potencial de compostos bioativos com efeitos benéficos para a saúde humana;

9 CONCLUSÕES GERAIS

A cv. Jamburana apresenta bom desenvolvimento fitotécnico e produtividade econômica na adubação orgânica e melhores índices morfo-fisiológicos, demonstrando que essa adubação aumenta a eficiência agrônômica dessa cultivar.

Na diferenciação entre modo de cultivo e entre cultivares de jambu, o cultivo orgânico induziu maiores teores de fenóis totais em folhas e carotenóides, espermidina e espermina em folhas e inflorescências nas duas cultivares analisadas. Não há uma tendência nítida do cultivo orgânico induzir maiores teores de flavonóides.

O óleo de *Spilanthes oleracea* mostra diferenças entre as cultivares e entre os órgãos estudados, em função de sua fenologia. O maior potencial antifúngico observado foi obtido de inflorescências da cv. Nazaré orgânica. Esta espécie é promissora produtora de óleos essenciais de alto valor agregado.

A radiação UV-C na dose adequada, sozinha ou combinada com alta concentração de O₂, reduz as cargas microbianas sem prejudicar a SS, AT, pH e a qualidade sensorial de nectarina 'R48' minimamente processada.

A análise por HPLC identificou 22 compostos fenólicos em nectarina minimamente processada, relacionados à sua atividade antioxidante e suas propriedades promotoras de saúde.

10 REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy**. (2001). Carol Stream, IL, Allured Publishing Corporation, 804 p.

ARCTANDER, S. **Perfume and Flavor Chemicals (Aroma Chemicals)**, Allured Publishing Corporation: USA, 2000.

ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática – Óleos Essenciais**. Ed. Viçosa, MG: Impr. Univ. UFV, 1995, 601 p.

ANDRADE CUVI M J.; VINCENTE, A.R.; CONCELLÓN, A.; CHAVES, A.R. Changes in red pepper antioxidants as affected by UV-C treatments and storage at chilling temperature. **LWT-Food Sci. Technol.** v. 44, p.1666-1671. 2011.

ABADIAS, M.; USALL, J.; ANGUERA, M.; SOLSONA, C.; VIÑAS I. Microbiological quality of fresh minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. **Int J Food Microbiol.** v. 123, p. 121-129. 2008.

ABD EL-HAMED, K.E.; ELWAN, M.W.M. Genotype by environment interaction and phenotypic stability of yield and quality in broccoli (*Barassica oleracea* var. *italica*). **J. Agric. Sci. Mansoura Univ.**, v.1, n. 6, p. 819–835. 2010.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured, Carol Stream, Illinois, 1995. 469 p.

AGUAYO, E.; ESCALONA, V.H.; ARTÉS, F.. Quality of minimally fresh processed *Cucumis melo* var. *saccharinus* as improved by controlled atmosphere. **Eur. J. Hort. Sci.**,v. 72, p. 39–45. 2007.

ALBURQUERQUE, J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília, DF: ABEAS; MEC, 1989. 96p.

AL-DUAIS, M. Contents of vitamin C, carotenoids, tocopherols, and tocotrienols in the subtropical plant species *Cyphostemma digitatum* as affected by processing. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 57, p. 5420–5427. 2009.

ALEXANIAN, S.; METERA, D.; SCHULER, T.; MCINTYRE, H. R; HERREN, J. WAKHUNGU, R. T. WATSON. Setting the stage. in b. d. (Eds.), Agriculture at a crossroads. **International assessment of agricultural knowledge, science and technology for development**. Washington, DC: Island Press. p. 1–19. 2009.

ALLENDE, A.; ARTÉS, F. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed ‘Lollo rosso’ lettuce. **Food Res Inter.** v. 36, n. 7, p. 739–746. 2003.

ALLENDE, A.; JACXSENS, L.; DEVLIEGHERE F.; DEBEVERE J.; ARTÉS, F. Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria*

monocytogenes and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salads. **J Food Protect.** v. 65, n. 10, p. 1565-1573. 2002.

AL-TARWNEH, A. A. **The effects of two types of organic manure and NPK on growth, yield and quality of lettuce and strawberry.** Mu'tah University. M. Sc. Thesis. 2005.

ALTIERE, Miguel. **Agroecologia:** bases científicas para uma agricultura sustentável. Guaíba: Agropecuária, 2002. 592p.

AMAZÔNIA hoje. Disponível em: <<http://googlescholar.amazoniahoje.com.br>>. Acesso em: 26 set. 2008.

AMIN ISMAIL; CHEAH SOOK FUN. Determination of vitamin C, β -carotene and riboflavin contents in five green vegetables organically and conventionally grown mal. **Journal Nutrition**, Malaysia, v. 9, n. 1, p. 31-39, 2003.

AMARANTE, C.V.T. DO; STEFFENS, C.A.; MOTA, C.S.; SANTOS, H.P. DOS. Radiação, fotossíntese, rendimento e qualidade de frutos em macieiras 'Royal Gala' cobertas com telas antigranizo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p.925-931, 2007.

ANDOW, D., BIELEK, P., BROWN, R., GREGORIOU, C., KAMMILI, T., LOYAT, J. Options for action. **In** B. D. McIntyre, H. R. Herren, J. Wakhungu, R. T. Watson (Eds.), *Agriculture at a crossroads. International assessment of agricultural knowledge, science and technology for development.* Washington, DC: Island Press. p. 209–275. 2009.

AOAC. **Official Methods of Analysis.** Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA., 1995.

ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 501-506. 2010.

ARMOND, C. **Indicadores químicos, crescimento e bioeletrografias de plantas de jambu (*Acmella oleracea* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e folha-da-fortuna (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken) submetidas a tratamentos homeopáticos.** 2007. 142 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

ARORA ,A.; SAIRAM, R.K.; SRIVASTAVA, G.C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current science.**v. 82, n.10, p. 1227-1238. 2002.

ARRUA, D.; STRUMIA, M.C.; NAZARENO, M.A. Immobilization of caffeic acid on a polypropylene film: synthesis and antioxidant properties. **J. Agric. Food Chem.**, v. 58, p. 9228-9234. 2010.

ARTÉS, F. Productos vegetales procesados en fresco. **In:** Aplicación del frío a los alimentos. Ed. M. Lamúa. A. Madrid Ediciones. v. 5, p. 127-141. 2000.

ARTÉS, F.; GÓMEZ, P.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. **Stewart Postharvest Review**, v. 5, n. 2, p. 1-13. 2006.

ARTÉS, F, GÓMEZ PA, ARTÉS-HERNÁNDEZ F. Physical, physiological and microbial deterioration of minimally fresh processed fruits and vegetables. **Food Sci Technol Int**, v. 13, p. 177–188. 2007.

ARTES, F.; GOMEZ, P.; ARTES-HERNANDEZ, F. Pérdidas de calidad y su control en productos hortofrutícolas mínimamente procesados en fresco. **In:** Vegetales frescos cortados. Aspectos nutricionales y sensoriales. Ed. G. González-Aguilar. Edit. Trillas. v.1, p. 19-43. 2009.

ARTÉS, F.; MARTÍNEZ, J.A.; MARÍN, J.G. Quality changes in minimally processed 'Romaine' lettuce as affected by several treatments. **In:** Agri-Food Quality II. Qualitymanagement of fruits and vegetables. Ed. The Royal Society of Chemistry. Edits: Hägg, M., Avenhainen, R., Evers, A.M. and Tiikkala, K. London, p.115-118. 1999.

ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; ESCALONA, V.H.; ROBLES, P.A.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G.B.; ARTÉS, F. Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. **J. Sci. Food Agric.** v. 89, p. 414-421. 2009.

ASAMI, D.K.; HONG, Y.J.; BARRETT, D.M.; MITCHELL, A.E. Comparison of the total phenolic and AA content of freeze-dried and air-dried marionberry strawberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1237–1241. 2005.

ASSIS, R.L.; ROMEIRO, A. R. O processo de conversão de sistemas de produção de hortaliças convencionais para orgânicos. **Rev. Adm. Pública.** Rio de Janeiro v.41, n. 5, p.863-85. 2007.

AZEVEDO, E. **Alimentos orgânicos: ampliando conceitos de saúde humana, social e ambiental.** Tubarão: Editora Unisul, 2006.

AWAD, M. A., DE JAGER, A., VAN WESTING, L. M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. **Scientia Horticulturae**, v.83, p. 249-263. 2000.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BLANK, A. F.; FONTES, S. M.; OLIVEIRA, A. S.; MENDONÇA, M. C.; SILVA-MANN, R.; ARRIGONI-BLANK, M. F. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 780-784, 2005.

BERTOLI, A.; MENICHINI, F.; MAZZETTI, M.; SPINELLI, G.; MORELLI, I. Volatile constituents of the leaves and flowers of *Hypericum triquetrifolium* Turra†. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 91-94, 2003.

BARATTA, M.T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. FIGUEIREDO, A.C.; BARROSO, J.G.; RUBERTO, G.; **Flavour Fragr. J.** v. 13, 235. 1998.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 94, p. 223-253, 2004.

BARDÓCZ, S.; WHITE, A.; GRANT, G.; BROWN, D.S.; DUGUID, T.J.; PUSZTAI, A. Uptake and bioavailability of dietary polyamines. **Biochemical Society Transactions**, 24, 226. 1996.

BARANAUSKIENEŪ, R.; VENSKUTONIS, P.R.; VISYKELIS,P.; DAMBRAUSKIENE, E. Influence of Nitrogen Fertilizers on the Yield and Composition of Thyme (*Thymus vulgaris*). **J. Agric. Food Chem.**, v.51, p.7751-7758. 2003.

BENBROOK, C. The impacts of yield on nutritional quality: Lessons from organic farming. **HortScience**, v. 44, n. 1, p. 12–14. 2009.

BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. **Conservação do solo**. Piracicaba: Ceres, 1985. . São Paulo: Ícone, 1990. 355p.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas (8 ações Básicas)**. Ed. 2. Rev.Ampl. Jaboticabal: FUNEP, 2003, 41p.

BETT, K.L. Evaluating Sensory Quality of Fresh-cut Fruits and Vegetables. In O. Lamikanra (Ed.), Fresh-Cut Fruits and Vegetables. **Science, Technology, and Market**. 427-438. Boca Raton, Florida: CRC Press. 2002.

BENDIX, M.E.S.; FERNANDES, M.S.; ROSSIELLO, R.O.P. **Aspectos de la nutrición nitrogenada de Paspalum notatum Flügge, en respuesta a fuentes de nitrogeno e inhibicion de nitrificacion**. Turrialba, v.32, n.1, p.33-41, 1982.

BEZOLD, T.N.; LOY, J.B.; MINOCHA, S.C. Changes in the cellular content of polyamines in different tissues of seed and fruit of a normal and a hull-less seed variety of pumpkin during development. **Plant Science**, v.164, p.743–752, 2003.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**. v. 299, p.15–27. 1999.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.12, n.2, p.123-130, 1999.

BINTSIS, T.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; ROBINSON, R.K. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry - a critical review. **J. Sci. Food Agric**. v. 80, p. 637-645. 2000.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Introdução a química de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2003. 150 p.

BORGES, L.S.; GOTO, R.; LIMA, G.P.P. 2012a. Produtividade e acúmulo de nutrientes em plantas de jambu, sob adubação orgânica e mineral. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.xx, p. xxx-xxx. 2012b.

BORGES, L.S.; GUERRERO, A.C.; GOTO, R.; LIMA, G.P.P. Exportação de nutrientes em plantas de jambu, sob diferentes adubações. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.xx, p. xxx-xxx, 2012b.

BORGES, L.S. ; VIANELLO, F. ; MARQUES, M. O. M.; LIMA, G.P. P. Influence of Organic and Mineral Soil Fertilization and Essential Oil of *Spilanthes oleracea*. **American Journal of Plant Physiology**, v. 7, p. 35-142. 2012c.

BORGES, L. S.; GUERRERO, A. C.; FERNANDES, D. M. Adubação foliar com silício no crescimento de plantas de jambu. **Cultivando o Saber**. Cascavel, v.3, n.1, p.160-170, 2010d.

BORGES, L. S. **Biomassa, teores de nutrientes, espilantol e atividade antioxidante em plantas de Jambu (*Acmella ciliata* Kunth) sob adubação mineral e orgânica**. 108p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu-SP, 2009.

BORGUINI, R. G. **Tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) orgânico: o conteúdo nutricional e a opinião dos consumidores**. Piracicaba: USP, ESALQ, 2002. 127 p.

BOUCHEREAU, A. AZIZ, A.; LARHER, F.; MARTIN-TANGUY, J. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Science**, v.140, p.103- 125, 1999.

BOTELHO, R.V.; PIRES, E.J.P.; TERRA, M.M.; CARVALHO, C.R.L. Efeitos do thidiazuron e do ácido giberélico nas características dos cachos e bagas de uvas ‘Niagara Rosada’ na região de Jundiaí- SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.96-99, 2003.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25–30. 1995.

BYRNE, C.; MAHER, M.J.; HENNERTY, M.J.; MAHON, M.J.; WALSH, P.A. Reducing the nitrate content of protected lettuce. **Irish Agriculture and Food Development Authority**. University College, Dublin, 19 p. 2002.

CAKIR, A.; KORDALI, S.; KILLIE, H.; KAYA, E. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. **Biochemical systematics and ecology**, v. 33, p. 245-256, 2005.

CARSON, C. F.; MEE, B. J.; RILEY, T. V. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. **Antimicrobial Agents & Chemotherapy**, v. 46, p. 1914-1920, 2002.

COWAN, M.M. Plants products as antimicrobial agents. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 12, p. 564-582, 1999.

CARDOSO, M. O.; GARCIA, L. C. Jambu. **In**: CARDOSO, M. O. (Coord.). Hortaliças não convencionais da Amazônia. Manaus: EMBRAPA, CPAA, 1997. p. 133-140.

CASTIGLIONE, S.; TODESCHINI, V.; FRANCHIN, C.; TORRIGIANI, T.; GASTALDI, D.; CICALATELLI, A.; RINAUDO, C.; BERTA, G.; BIONDI, S.; LINGUA, G. Clonal differences in survival capacity, copper and zinc accumulation, and correlation with leaf polyamine levels in poplar: **A large-scale field trial on heavily polluted soil/ Environmental Pollution** v.157, p. 2108–2117. 2009.

CANCELLIER, L.L.; ADORIAN, G.C.; RODRIGUES, H.V.M.; SIEBENEICHLER, S.C.; LEAL, T.C.A.B. Doses de potássio nas respostas morfofisiológicas de alface. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 4, p. 21-27, 2010.

CEVALLOS-CASALS, B.; BYRNE, D.; OKIE, W.R.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. **Food Chem.** v. 96, p. 273-280. 2005.

CHAGAS, P. C.; SHIRAHIGE, F. H.; SILVA, P. P. M.; SPOTO, M. H. F.; CHAGAS, E.; PIO, R. Avaliação da qualidade de pêssegos "Regis" minimamente processados. **Boletim CEPPA**, Curitiba. V.26, n.2, p.179-186, 2008.

CHERVIN, C.; TRIANTAPHYLIDES, C.; LIBERT, M.F.; SIADOUS, R.; BOISSEAU, P. Reduction of wound-induced respiration and ethylene production in carrot root tissues by gamma irradiation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 2, n. 1, p. 7-17, 1992.

CHAKRABORTY, A.; DEVI, R. K. B.; RITA, S.; SHARATCHANDRA, K.; SINGHT, T. I. Preliminary studies on antiinflammatory and analgesic activities of *Spilanthes acmella* in experimental animal models. **Indian J. Pharmacology**, n46, p. 148-150, 2004.

CHARLES, M. T.; MAKHLOUF, J.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit: II. Modification of fruit surface and changes in fungal colonization. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p.21-26, 2008.

CHEN L.; HU J. Y.; WANG S. Q. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. **J Am Acad Dermatol**. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2012.02.009>. Acessado em 18 de abril de 2012.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: Editora de Universidade Federal de Lavras, 2005. p.785

CITAK, S.; SONMEZ, S. Influence of organic and conventional growing conditions on the nutrient contents of white head cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata) during two successive seasons. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 1788–1793. 2010.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G. M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 32, n. 2 p. 167- 171, 1998.

COSTA, A.C.; ANTUNES, P.L.; ROMBALDI, C. V.; GULARTE, M. A. Controle do escurecimento enzimático e da firmeza de polpa em pêssegos minimamente processados. **Ciência Rural**, v.41, n.6, p.1094-1101, 2011.

COSTA, L.C.B.; ROSAL, L.F.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V. Efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.]. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.10, n.1, p.16-20, 2008.

COSTA, F.A.; DINIZ, M.B.; FARIA, A. M. M.; SANTOS, J. N. A.. COSTA, J.A. O Círio de Nazaré de Belém do Pará: economia e fé. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, Belém, v. 3, n. 6, p. 93-125, 2008.

COSTA, L., VICENTE, A. R., CIVELLO, P. M., CHAVES, A. R., MARTÍNEZ, G. A. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 204-210. 2006.

COUTINHO, L.N.; APARECIDO, C.C.; FIGUEIREDO, M.B. Galhas e deformações em Jambu (*Spilanthes oleraceae* L.) causadas por *Tecaphora spilanthes* (Ustilaginales). **Summa Phytopathology**, v.32, n.3, p.283-5. 2006.

COMETTI NN; MATIAS GCS; ZONTA E; MARY W; FERNANDES MS. Compostos nitrogenados e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 748-753, 2004.

CREUS, J.A.; EUCUENTRA, A.; GAVALDA, E.G.; BARCELO, J. Binding of polyamines to different macromolecules in plants, **In:** A.W. Galston, A.F. Tiburcio (Eds.), Polyamines as Modulators of Plant Development, Ediciones Peninsular, Madrid, p. 30–34. 1991.

DAY, B. **Fresh prepared produce:** GMP for high oxygen MAP and non-sulphite dipping. Guideline no. 31. Chipping Campden: Campden and Chorleywood Food Research Association Group. p. 1-76. 2001.

DELLA CRUZ, R. Understanding and evaluating fresh-cut produce. **Fresh-cut**, Washington, v.12, n.9, p.7-8, 2004.

DIAS, A.M.A.; SANTOS, P.; SEABRA, I.J.; JUNIOR, R.N.C.; BRAGA, M.E.M.; SOUSA, H.C. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The journal of supercritical fluids**, v. 61, p. 62-70, 2012.

DURIGAN, J. F. **Processamento mínimo de frutas.** Encontro nacional sobre processamento mínimo de frutas e hortaliças, 2. Palestras. Viçosa: UFV, p. 86-87, 2000.

EHLERS, E. **Agricultura sustentável: origens e perspectivas de um novo paradigma.** São Paulo: Livros da Terra, 1996. 178 p.

ELGHAOUTH, A.; WILSON, C.; WISNIEWSKI, M. Ultrastructural and cytochemical aspect of the biocontrol activity of *Candida saitoana* in apple fruit. **Phytopathology**, v. 88, p. 282–291. 1998.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: EMBRAPA, 1999. 412 p.

EKANEM, A. P.; WANG, M.; SIMON, J. E.; MORENO, D. A. Antiobesity properties of two African plants (*Afromomum meleguetta* and *Spilanthes acmella*) by pancreatic lipase inhibition. **Phytoterapy Research**, v. 21, p. 1253 – 1255, 2007.

ESPINDOLA, C. R.; TOSIN, W. A. C.; PACCOLA, A. A. Levantamento pedológico da Fazenda Experimental São Manuel. **In:** CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 14., 1973, Santa Maria. Anais... Santa Maria: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, p. 650-651. 1974.

ENGLER, M.B.; ENGLER, M.M. The emerging role of flavonoid rich cocoa and chocolate in cardiovascular health and disease. **Nutr. Rev.**, v.64, p.109-118. 2006.

EVARISTO, I.M.; LEITAO, M.C. Identification and quantification by DAD-HPLC of the phenolic fraction contained in the leaves of *Quercus suber* L. **Silva Lusitana**, v. 9, p. 135-141. 2001.

FALQUETO AR, CASSOL D, MAGALHÃES JUNIOR AM, OLIVEIRA A.C, BACARIN, M.A. Crescimento e partição de assimilados em cultivares de arroz diferindo no potencial de produtividade de grãos. **Bragantia** 68: 563-571. 2009.

FALLER, A.L.K.; FIALHO, E. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. **Food Research International**, v. 42, p. 210–215. 2009.

FARBER, J.M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology — a review. **J. Food Prot.**, v. 54 , p. 58–70. 1991.

FATTOUCH S, et al. Comparative analysis of polyphenolic profiles and antioxidant and antimicrobial activities of tunisian pome fruit pulp and peel aqueous acetone extracts. **J Agric Food Chem** 56:1084–1090. 2008.

FAZOLIN, M. **Prospecção e avaliação de plantas da Amazônia com potencial de uso inseticida**. SBRT. 2005.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. **In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA**, 45., 2000. São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FiBL–IFOAM Survey. **Organic Agriculture Worldwide: The main results of the**. 2010. <http://www.biofach.fibl.org/fileadmin/documents/de/biofach/2010/fibl-ifoam-2010-world-of-organic-presentation-biofach.pdf>. Acesso em 10/10/2012.

FRANK, H.A.; COGDELL, R.J. Carotenoids in photosynthesis. **Photochemical Photobiology**. v. 63, p. 257-264. 1996.

FREITAS, A.A., FRANCELIN, M.F., HIRATA, G.F., CLEMENTE, E., SCHMIDT, F.L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.

FURLAN, E. **Old PNe on the southern hemisphere interacting with the ISM**. Thesis (Master)-University Innsbruck, Austria, 1999.

GALSTON, A.W.; KAUR-SAWHNEY R. Polyamines as endogenous growth regulators. **In: Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology** (2nd edn). Davies PJ (Ed). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. p. 158-178, 1995.

GALVÃO, E. L.; SILVA, D. C. F.; SILVA, J. O.; MOREIRA, A. V. B.; SOUSA, E. M. B. D. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 551-557, 2008.

GEMPERLOVÁ, L., CVIKROVÁ, M.; FISCHEROVÁ, L.; BINAROVÁ, P.; FISCHER, L.; EDER, J. Polyamine metabolism during the cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cell line. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 47, p. 584-591. 2009.

GUERRERO, A.C.; BORGES, L.S.; FERNANDES, D.M. 2011. Efeito da aplicação foliar de silício em rúcula cultivada em dois tipos de solos. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 591-596.

GIL, M. I.; GORNY, J. R.; KADER, A. A. Responses of „Fugi“ apple slice to ascorbic acid treatments and low-oxygen atmospheres. **HortScience**, Alexandria, v.32, n.2, p.305- 309, 1998.

GIL, M.I.; TOMAS-BARBERAN, F.A.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 4976–4982. 2002.

GIROLOMETTO, G.; AVANCINI, C.A.M.; CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J.M. Atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, v.11, n.1, p.49-55, 2009.

GORINSTEIN, S.; PARK, Y. S.; HEO, B. G.; NAMIESNIK, J.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M. A comparative study of phenolic compounds and antioxidant and antiproliferative activities in frequently consumed raw vegetables. **European Food Research and Technology**, v. 228, p. 903–911. 2009.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**. v. 23, p. 1719–1726. 2003.

GORNY, J.R.; A.A. KADER. Low oxygen and elevated carbon dioxide atmospheres inhibit ethylene biosynthesis in preclimacteric and climacteric apple fruit. **J. American Soc. Hortic. Sci.**, v. 12, p. 542–546. 1997.

GORNY, J. R.; HESS-PIERCE, B.; CIFUENTES, R. A.; KADER, A. A. Quality changes in fresh-cut pear slice as affected by controlled atmospheres and preservatives. **Postharvest Biology and technology**, Wageningen, v.24, p.271-278, 2002.

GONZALEZ-AGUILAR, G. A.; WANG, C. Y.; BUTA, J. G. UV-C irradiation reduces breakdown and chilling injury of peaches during cold storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 5, p. 415-422, 2004.

GONZALEZ-AGUILAR G. A.; ZAVALA-GATICA, R.; TIZNADO-HERNÁNDEZ, M. E. Improving postharvest quality of mango „Haden“ by UV-C treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, n. 1, p. 108–116, 2007.

GUERRERO-BELTRÁN, J.A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Review: Advantages and limitations on processing foods by UV Light. **Food Science Technology Int.**, v. 10, p.137-147. 2004.

GUNES, G.; WATKINS, C. B.; HOTCHKISS, J. H. Effects of irradiation on respiration and ethylene production of apple slices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, p. 1169-1175, 2000.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition**, v. 16, p. 33–50. 1996.

HAKALA, M.; LAPVETELÄINEN, A.; HUOPALAHTI, R.; KALLIO, H.; TAHVONEN, R. Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 67-80. 2003.

HAGENMAIER RD, BAKER RA: Low-dose irradiation of cut iceberg lettuce in modified atmosphere packaging. **J Agric Food Chem**, v. 45, p. 2864-68, 1998.

HAGENMAIER, R.D.; BAKER, R.A. Microbial Population of Shredded Carrot in Modified Atmosphere Packaging as Related to Irradiation Treatment. **Journal of Food Science**, v. 63, n.1, p. 162-164. 1998.

HERNÁNDEZ, Y.; LOBO, M. G.; GONZÁLEZ, M. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. **Food Chemistry**. v. 96, p. 654 – 664, 2006.

HERDY, G. V. H. e CARVALHO, A. P. Ação do Espilantol (Extraído do Jambu) sobre atividade elétrica do coração do Coelho. **Eletrocardiograma Experimental**. Arq. BRÁS. Cardiol., v. 43 p. 315-320, 1984.

HEO, H.J.; LEE, C.Y. Strawberry and its anthocyanins reduce oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Los Angeles, v.53, n.6, p.1984-1989, 2005.

HERDY, G. V. H. **Ação do eespilantol sobre a atividade elétrica do coração do coelho / Action of the espilantol on the electric activity of the rabbit heart**. 97 p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1982.

HIND, N.; BIGGS, N. Plate 460. *Acmella oleracea* Compositae. **Curtis's Bot. Mag.** v. 20, p. 31-39. 2003.

HINZ B.; SCHRÖDER H. Vitamin C attenuates nitrate tolerance independently of its antioxidant effect. **FEBS Lett.** 428, p. 97–99.1998.

HALLIWELL, B., 1996. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition.** v. 16, p. 33–50. 1996.

HOEFKENS, C.; SIOEN, I.; BAERT, K.; MEULENAER, B.; HENAUW, S.; VANDEKINDEREN, I.; DEVLIEGHERE, F.; OPSOMER, A.; VERBEKE, W.; VAN CAMP, J. Consuming organic versus conventional vegetables: The effect on nutrient and contaminant intakes. **Food and Chemical Toxicology.** v. 48. p. 3058–3066. 2010.

HOLLMAN PC, KATAN MB. Dietary flavonoids: intake, health effects, and bioavailability. **Food Chem. Toxicol.** v. 37, p. 937–42. 1999.

HOMMA, A. K. O.;SANCHES, R. S.; MENEZES, A.J.E.A.;GUSMÃO, S.A.L.Etnocultivo do jambu para abastecimento da cidade de belém, estado do pará. **Amazônia: Ci. & Desenv.**, Belém, v. 6, n. 12, 2011.

JACOBSON,M. The Structure of espilantol. **Chemistry and Industry**, v. 12, p. 50-51, 1957.

JANSSEN, M.; HAMM, U. Product labelling in the market for organic food: Consumer preferences and willingness-to-pay for different organic certification logos. **Food Quality and Preference**, v. 25, p. 9–22. 2012.

JIMENEZ-ESCRIG, A., RINCON, M., PULIDO, R., SAURA-CALIXTO, F. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5489–5493. 2001.

JUVEN, B. J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **J Appl Bacteriol**, v. 76, p. 626–631, 1994.

KANSAL, B. D.; SINGH, B.; BAJAJ, K. L.; KAUR, G. Effect of different levels of nitrogen and farmyard manure on yield and quality of spinach (*Spinacea oleracea* L.). *Plant foods for human nutrition (formerly qualitas plantarum)*, v. 31, n. 2 , p. 163-170. 1981.

KAPPEL, V.D.; COSTA, G.M.; SCOLA, G.; SILVA, F. A; LANDELL, M.F.; VALENTE, P.; SOUZA, D.G.; VANZ, D.C.; REGINATTO, F.H.; MOREIRA, J.C.F. Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* at different maturity stages. **Journal of Medicinal Food.** v. 11,p. 267-74. 2008.

KAWANISHI, S.; MURATA, M.; TAKAHASHI, A.; SAITO, I. The role of metals in site-specific DNA damage with reference to carcinogenesis. **Free Radic Biol Med**, San Diego, USA, v. 32, p. 822-32, 2002.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal Food Science Technologic**. v. 36, p. 703-725. 2001.

KÉITA, S.M.; VINCENT, C.; SCHIMIT, J.P.; ARNASON, J.T.; BÉLANGER, A. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.339-349. 2001.

KLUGE, R. A.; VITTI, M. C. D. Processamento mínimo de beterraba. **In: III Encontro Nacional sobre Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**, Viçosa, v.1, p.82-90. 2004.

KIOKIAS, S.; VARZAKAS, T.; OREOPOULOU, V. In vitro activity of vitamins, flavonoids, and natural phenolic antioxidants against the oxidative deterioration of oil-based systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 78-93. 2008.

KOUKOUNARAS, A.; DIAMANTIDIS, G.; SFAKIOTAKIS, E. The effect of heat treatment on quality retention of fresh-cut peach. **Postharvest Biol. Technol.** 48, 30–36. 2008.

KONSTANTOPOULOU, E.; KAPOTIS, G.; SALACHAS, G.; PETROPOULOS, S. A.; KARAPANOS, I. C.; PASSAM, H. C. Nutritional quality of greenhouse lettuce at harvest and after storage in relation to N application and cultivation season. **Scientia Horticulturae**, v.125, n.2, p.93-95, 2010.

GIUSEPPE IACOMINO, G.; PICARIELLO, G.; D'AGOSTINO, L. DNA and nuclear aggregates of polyamines. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1823. 2012.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; VILLEGAS-OCHOA, M. A.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M. A.; GARDEA, A. A.; AYALA-ZAVALA, J. F. Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. **Journal of Food Science**, v. 72, p. S197–S202. 2007.

GUTTERIDGE, J.M.C.; HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants in the year 2000 - A historical look to the future, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 899, p. 136-147. 2000.

IGUE, K. Dinâmica da matéria orgânica e seus efeitos nas propriedades do solo. **In: ADUBAÇÃO verde no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, p.232-267. 1984.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Brasil - Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. IV ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

LAGRIMINI, L. M. Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase. **Plant Physiology**. v. 96, p. 577-583. 1991.

LAVELLI, V.; POMPEI, C.; CASADEI, M.A. Quality of nectarine and peach nectars as affected by lye-peeling and storage. **Food Chemistry**. v. 115, p.1291–1298. 2009.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J., VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Review. Progress in Lipid Research**, v. 46, p. 244-282, 2007.

LANFER-MARQUEZ, U. M. O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. **Rev. Bras. Ciênc. Farmac.**, v.39, n.3, p. 227-242, 2003

LEE, S. K. K; KADER, A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**, v. 20, p. 207-220, 2000.

LEE, SANG-HOON.; AHSANA, N.; KI-WON LEE, DO-HYUN KIM, DONG-GI LEE, SANG-SOO KWAK, SUK-YOON KWON, TAE-HWAN KIM, BYUNG-HYUN LEE. Simultaneous overexpression of both CuZn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in transgenic tall fescue plants confers increased tolerance to a wide range of abiotic stresses. **Journal of Plant Physiology**. p. 1626- 1638. 2007.

LI-CHEN, W.; NIEN-CHU, F.; MING-HUI, L.; INN-RAY, C.; SHU-JUNG, H.; CHING-YUAN, H.; SHANG-YU, H. Anti-inflammatory Effect of Spilanthol from *Spilanthes acmella* on Murine Macrophage by Down-Regulating LPS-Induced Inflammatory Mediators. **Journal Agric. Food Chemistry**. v. 56, p.2341–2349. 2008.

LIMA, G.P.P.; BRASIL, O.G.; OLIVEIRA, A.M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**, v.56, p.21-25, 1999.

LIMA, G. P. P.; LOPES T.V.C.; ROSSETTO, M.R.M.; VIANELLO, F. Nutritional composition and phenolic compounds and nitrate content in eatable vegetables obtained by conventional and certified organic grown culture. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, p. 1118–1124, 2009.

LIMA, A. B. **Qualidade de manga tomy atkins orgânica colhida sob boas práticas agrícolas, tratada com extrato de erva-doce e fécula de mandioca**. Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Agrárias. Mestrado (Agronomia com Área de Concentração em Agricultura Tropical). 114p. 2007.

LIMA, G. P. P. DA ROCHA, S. A.; TAKAKI, M.; RAMOS, P. R. R; ONO, E. O. Comparison of polyamine, phenol and flavonoid contents in plants grown under conventional and 23 organic methods. **International Journal of Food Science Technology**, v. 43, n. 10, p. 1838-1843, 2008.

LIMA, G.P.P.; VIANELLO, F. 2011. Review on the main differences between organic and conventional plant-based foods. **International Journal of Food Science & Technology**, 1:1-13. 2011.

LIMA, G.P.P.; ROCHA, S. A. da; TAKAKI, M.; RAMOS, P. R. R. Polyamines contents in some foods from Brazilian population basic diet. **Ciência Rural**, v.36, p.1294-1298, 2006.

LORENZI H.; MATOS F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 396 p. 2002.

LÓPEZ-RUBIRA, V.; CONESA, A.; ALLENDE, A.; ARTÉS, F. Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, n. 2, p. 174-185, August 2005.

LUNDBERG, J. O. , FEELISCH M., BJÖRNE, H.; , JANSSON, E.A.; WEITZBERG, E. Cardioprotective effects of vegetables: Is nitrate the answer?. **Nitric Oxide**. v. 15, p. 359-362. 2006.

LUZ, J. M. Q.; SHINZATO, A. V.; SILVA, M. A. D. Comparação dos sistemas de produção de tomate convencional e orgânico em cultivo protegido. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 7-15, 2007.

MAGWA, M.L.; GUNDIDZA, M.; GWERU, N.; HUMPHREY, G. Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. **J Ethnopharmacol**, v.103, p. 85-89, 2006.

MAPELI, N.C.; VIEIRA, M.C.; HEREDIA, Z.N.A.; SIQUEIRA, J.M. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Hortic Bras**, v.23, p.32-37, 2005.

MING, L.C. 1992. **Influencia de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill). N.E. br Verbenaceae**. Curitiba, 206 p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Paraná, 1992.

MASIH, L.; ROGINSKI, H.; PREMIER, R.; TOMKINS, B.; AJLOUNI, S. Soluble protein content in minimally processed vegetables during storage. **Food Research International**, v. 35, p. 697-702, 2002.

MAPA - **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa)**. <http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/organicos>. acesso em 12/10/2012.

MAYNARD, D.N; BARKER, A.V.; MINOTTI, P.L.; PECK, N.H. Nitrate accumulation in vegetables. **Advances in Agronomy**, v. 28, p. 71-118, 1976.

MALKIN R, NIYOGI K. Photosynthesis. In BB Buchanan, W Gruissem, RL Jones, eds, Biochemistry and Molecular Biology of Plants. **American Society of Plant Physiologists**, Rockville, MD, p. 568–628. 2000.

MEDLICOTT, A. P.; BHOGOL, M.; REYNOLDS, S. B. Changes in peel pigmentation during ripening of mango fruit (*Mangifera indica* var. Tommy Atkins). **Annals of Applied Biology**, London, v.109, n.3, p.651-656, 1986.

MERCIER, J.; KUC, J. Elicitation of 6-Methoxymellein in Carrot Leaves by *Cercospora carotae*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 73, n. 1, p. 60-62, 1997.

MENSOR, L. L. et al. Screening of brazilian activity by use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 127-130, 2001.

MEYERS, K. J. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6887-6892, 2003.

MING, L.C. Coleta de plantas medicinais. In. L. C. Di Stasi (Ed.), Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudos multidisciplinar. São Paulo, Universidade Paulista Editora, 345 p. 1996.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Review. **Polish Journal of Environmental**. Studies, v. 15, n.4, p. 523-530. 2006.

MORETTI, C. L. Processamento mínimo de hortaliças: Tendências e desafios. **Horticultura Brasileira** 19: 172, 2001.

MOREIRA, V.M; MAIA, J.G; SOUZA, J.M; BORTOLOTO, Z.A; CAVALHEIRO, E.A. Characterization of convulsions induced by a hexanic extract of *Spilanthes acmella* var. oleracea in rats. **Brazilian Journal of Medicine and Biological Research**, v. 22, p. 65–67. 1989.

MOREIRA, V. M. T.S. et al. Atividade farmacológica do jambu do Pará. **Ciência e Cultura**, v. 39, p. 801, 1987.

MURARI, A. L.; CARVALHO, F. H.; HEINZMANN, B. M.; MICHELOT, T. M.; HORNER, R.; MALLMANN. COMPOSIÇÃO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Senecio crassiflorus* var. *Crassiflorus*. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1081-1084, 2008.

MOZAFAR, A. Nitrogen fertilizers and the amount of vitamins in plants: **A review. J. Plant Nutr.**, v. 16, p. 2479–2506. 1993

MULLER, K.; HIPPE, J. Influence of differences in nutrition on important quality characteristics of some agricultural crops. **Plant and Soil**, v. 100, n. 1-3, p. 35-45, 1987.

NAWROCKI, A.; THORUP-KRISTENSEN, K.; JENSEN, O.N. Quantitative proteomics by 2DE and MALDI MS/MS uncover the effects of organic and conventional cropping methods on vegetable products. **J Proteomics**. v. 18, p. 2810-25. 2011.

NEETESON J.J., CARTON O.T. Rhe environmental Impast of Nitrogen In Field Vegatavle Production. **Acta Hort**. 563, p. 21–28. 2001.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. **Food Chemtistry**, London, v. 105, n.3, p.1151-1158, 2007.

OLIVER-BEVER, B. Medicinal plants in tropical west África: II plants acting on the nervous system. **Journal Ethnopharmacology**, v. 7, p. 1-93, 1983.

O'CONNOR-SHAW, R.E., ROBERTS, R., FORD, A.L.; NOTTINGHAM, S.M. Changes in sensory quality of sterile cantaloupe dice stored in controlled atmospheres. **J. Food Sci.** v. 61, p. 847-85. 1996.

PASCHALIDIS, K.A.; AZIZ, A.; GENY, L.; PRIMIKIRIOS, N.I.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Polyamines in grapevine. In KA Roubelakis-Angelakis, ed, **Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, p. 109–152. 2001.

PAPADAKIS, A.K.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Polyamines inhibit NADPH oxidase-mediated superoxide generation and putrescine prevents programmed cell death syndrome induced by the polyamine oxidase-generated hydrogen peroxide. **Planta**, v. 220, p.826-837, 2005.

POURCEL, L.; ROUTABOUL, J.; CHEYNIER, V.; LEPINIEC, L.; DEBEAUJON, I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 1, p. 1360-1385. 2006.

POPOVA, M.; BANKOVA, V.; BUTOYSKA, D.; PETKOV, V.; NIKOLOVA-DAMYANOVA, B.; SABATINI, A.G.; MARCAZZAN, G.L.; BOGDANOV, S. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. **Phytochemical Analysis**, v.15, p. 235–240. 2004.

PACE, B.; CEFOLA, M.; RENNA, F.; ATTOLICO, G. Relationship between visual appearance and browning as evaluated by image analysis and chemical traits in fresh-cut nectarines. **Postharvest Biol Technol**. v. 61, p. 178–183. 2011.

PASCHALIDIS, K.A.; AZIZ, A.; GENY, L.; PRIMIKIRIOS, N.I.; ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K.A. Polyamines in grapevine, in: K.A. Roubelakis-Angelakis (Ed.), **Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine**, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 109–152. 2001.

PETREL, MT, FERNÁNDEZ PS, MARTÍNEZ, A. ROMOJARO F. The effect of modified atmosphere packaging on "ready to-et" oranges. **LWT-Food Science and Technology**. v. 31, p. 322-328.

PENTEADO, M. D. V. C. **Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos**. Barueri: Manole, 2003. 612p.

PEREIRA, M. E. C.; SILVA, A. da S.; BISPO, A. S. da R. ;SANTOS, D. B. dos; SANTOS, S. B. dos.; SANTOS, V. D. dos. **Amadurecimento de Mamão Formosa com revestimento comestível á base de fécula de mandioca**. EMBRAPA Mandioca e Agricultura Tropical, Bahia, 2006.

PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 624-632. 2007.

PIAMONTE, P. R. **Rendimento, qualidade e conservação pós-colheita de cenoura (daucus carota l.) sob adubação mineral, orgânica e biodinâmica**. 1996. 54f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura)-Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1996.

PICCHI, V.; MIGLIORI, C.; SCALZO, R.L.; GABRIELE CAMPANELLI, G.; FERRARI, DI CESARE, L.F. Phytochemical content in organic and conventionally grown Italian cauliflower. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 501–509. 2012.

PIMENTEL, A. A. M. P. **Olericultura no trópico úmido: hortaliças na Amazônia**. São Paulo: AGRONÔMICA CERES. 1985. 322 p.

PIMENTEL, D.; HEPPERLY, P.; HANSON, J.; SIEDEL, R.; DOUDS, D. Organic and conventional farming systems: Environmental and economic issues. **Environmental Biology Forthcoming**. 2005.

PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; FILHO, B.D.; NAKAMURA, C.V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Rev. Bras. Farmacognosia.**, v.13, p.21-24, 2003.

POURCEL, L.; ROUTABOUL, J.; CHEYNIER, V.; LEPINIEC, L.; DEBEAUJON, I. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. **Trends in Plant Science**, v.12, n.1, p.1360-1385. 2006.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT-Food Sci. Technol**, v. 40, p. 1-11, 2007.

POINCELOT, R. P.; FRANCIS, C. A.; BIRD, G. W. Overview of the educational social contract: Building a foundation for sustainable agriculture. **In** C. A. Francis, R. P. Poincelot, & G. W. Bird (Eds.), *Developing and extending sustainable agriculture a new social contract* (pp. 1–24). Bringhamton, NY: Haworth Food & Agricultural Product Pres. 2006.

POLTRONIERI, M.C.; POLTRONIERI, L.S.; MÜLLER, N.R.M. **Jambu (*Spilanthes oleracea*, L.) visando resistência ao carvão (*Thecaphora spilanthos*)**. EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Oriental (Belém,PA). Programa de melhoramento genético e de adaptação de espécies vegetais para a Amazônia Oriental. Belém, 1999. 99p.

PURKAYASTHA, R. P. Progress in phytoalexin research during the past 50 years. **In**: DANIEL, M.; PURKAYASTHA, R. P. (Ed.). *Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action*. New York: Marcel Dekker, p.1-39. 1995.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

RAHN C. R. Management strategies to reduce nutrient losses from vegetable crops. **Acta Hort**. 571, p.171–177. 2002.

RADULOVIĆ, N.; LAZAREVIĆ, J.; RISTIĆ, N.; PALIĆ, R. Chemotaxonomic significance of the volatiles in the genus *Stachys* (Lamiaceae): essential oil composition of four Balkan *Stachys* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p.196-208, 2007.

RAYBAUDI-MASSILIA, R. M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; SOBRINO-LÓPEZ, A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Shelf-life extension of fresh-cut ‘Fuji’ apples at different ripeness stages using natural substances. **Postharvest Biology and Technology**, v. 45, p. 265-275, 2007.

RAMSEWAK, R.S; ERICKSON, A.J; NAIR, M.G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**, v. 51, p. 729–732. 1999.

RANI, S.A.; MURTY, S. U. Antifungal potential of flower head extract of *Spilanthes acmella* Linn. **African Journal of Biomedical Research**. v.9 .2006. p. 67-69.

RANZI, A. **O jambu é nosso!** 2005. Disponível em: < <http://www.biopirataria.org/index.php> >. Acesso em: 17 de mar. 2007.

RAIJ B van; ANDRADE JC; CANTARELLA H; QUAGGIO JA. 2001. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: Instituto Agrônômico. 285 p.

REVILLA, J. **Plantas da Amazônia**: Oportunidades Econômicas sustentáveis. Manaus : INPA, 405p, 2001.

REN, H.; ENDO, H.; HAYASHI, T. Antioxidative and antimutagenic activities and polyphenol content of pesticide-free and organically cultivated green vegetables using water soluble chitosan as a soil modifier and leaf surface spray. **Journal Science Food Agriculture**, v. 81, p. 1426-1432, 2001.

REGADAS, R. P. **Efeito do jambu (*Acmella oleracea*) sobre a função sexual masculina e Feminina**. Dissertação Apresentada a pós-graduação em cirurgia. UFC. 2008 .

REIF, C.; ARRIGONI, E.; NEUWEILER, R.; BAUMGARTNER, D.; NYSTRÖM, L.; HURRELL, R.F. Effect of sulfur and nitrogen fertilization on the content of nutritionally relevant carotenoids in spinach (*Spinacia oleracea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2012.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants. In C. Akoh, & D. Min (Eds.). **Food lipid chemistry, nutrition and biotechnology**. 489-502. New York: Marcel Dekker. 2002.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher; Instituto Mauá de Tecnologia, 2004. 184p.

RICHARDS, L. A. Physical conditions of water in soil. **In**: BLACK, C. A.; EVANS, D. D.; WHITE, J. L.; ENSMINGER, L. E.; CLARK, F. E. (Ed.) *Methods of soil analysis - Physical and mineralogical properties, including statistics of measurements and sampling*. Madison, ASASSA, 1965. p. 128-152.

RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. V. C. Vitamina C. In Penteado, M. V. C., *Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos*. p. 201-225. São Paulo: Manole. 2003. RIJSTENBIL, J. W. Assessment of oxidative stress in the planktonic diatom *Thalassiosira pseudonana* in response to UVA and UVB radiation. **J. Plankton Res.** v. 24, p. 277–88. 2002.

RICE-EVANS, C. A.; LESTER, P. **Flavonoids in health and disease**. New York: Marcel-Dekker, 1997. p. 405–419.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P.D; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v. 66, p. 401–436. 1999.

ROSSETTO, M. R. M., VIANELLO, F., ROCHA, S. A., LIMA, G. P. P. Antioxidant substances and pesticide in parts of beet organic and conventional manure. **African Journal of Plant Science**, v.3, p.245-253.2009.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento**. Local, Campo Grande, v.1, n.2, 2001, p.43-50.

ROMBALDI, C. V.; TIBOLA, C. S.; FACHINELLO, J. C.; SILVA, J. A. Percepção de consumidores do Rio Grande do Sul em relação a quesitos de qualidade em frutas/ Perception of Rio Grande do Sul consumers about fruit quality questions. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n. 3, p. 681-684, 2007.

ROBINSON, D. S. 1991. Peroxidases and catalases in food. **In:** Robinson, D. S & Eskin, N. A. M. (eds.) Oxidative enzyme in food. London & New York: Elsevier Applied Science, p. 1-37.

SANTOS, G. C.; MONTEIRO, M. Sistema orgânico de produção de alimentos. **Alimentos Nutrição**, Araraquara, v.15, n.1, p.73-86, 2004.

SANTOS, A. D. **Efeito dos manejos orgânico e convencional sobre biomassa e óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf)**. Tese. Produção vegetal. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2006.

SÁNCHEZ-LÓPEZ, J.; CAMAÑES, G.; FLORS, V.; VICENT, C.; PASTOR, V.; Vicedo, B.; CEREZO, M.; GARCÍA-AGUSTÍN, P. Underivatized polyamine analysis in plant samples by ion pair LC coupled with electrospray tandem mass spectrometry. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 47, p. 592–598. 2009.

SANHUEZA, R. M.; KRETZCHMAR, A. A.; BORSÓI, M. Avaliação de organismos antagônicos a *Penicillium expansum* em maçãs cv. Fuji em pós colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.4, 1992.

SAWAI Y, MOON JH, SAKATA K, AND WATANABE N. Effects of structure on radical-scavenging abilities and antioxidative activities of tea polyphenols: NMR analytical approach using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals. **J Agric Food Chem** 53, 3598-3604. 2005.

SAWAKI, H. K. **Estudo de sintomas de deficiências de macro e micronutrientes em plantas de jambu (*Spilanthes oleracea* L.) variedade Branco ou Jambuarana**. 52 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Belém, 2000.

SALTVEIT, M.E. Fresh-cut vegetables. **In:** BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. Postharvest physiology and pathology of vegetables. New York: Marcel Dekker. Cap.22, 691- 712, 2003.

SEVERO, J.; MONTE, F.G.; CASARIL, J.; SCHREINERT, R.S.; ZANATTA, O.; ROMBALDI, C. V.; SILVA, J.A. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas e capacidade antioxidante de morango e mirtilo. **In:** IV Simpósio Nacional do Morango, III Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul. Palestras e Resumos. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. p.103.

SHIRLEY, B.W. Flavonoid biosynthesis: ‘new’ functions for an ‘old’ pathway. **Trends Plant Sci.** v.1, p. 377–382. 1996.

SOARES, N. F. F.; GERALDINE, R. M.; MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Celso Luiz Moretti. Embalagens. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE, p. 153-169. 2007.

SCIFINDER Scholar. Disponível em: < <http://www.google.com.br/scholar> >. Acesso em: 26 de set. 2008.

SIDERER, Y.; MAQUET, A.; ANKLAM, E. Need for research to support consumer confidence in the growing organic food market. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 332-343, 2005.

SILVA, C. G. V. **Bioatividade de extratos etanólicos de croton sobre plutella xylostella (l.) e ação fumigante e composição química de óleos essenciais de Croton greviodes (Baill.) Sobre Zabrotes subfasciatus (Boheman)**. Mestre em Entomologia Agrícola. 2007. 56p.

SIMÃO, A. A. **Antioxidantes, clorofila e perfil de ácidos graxos em folhas de mandioca**. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010. 71 p.

SMITH-SPANGLER, C.; BRANDEAU, M. L.; HUNTER, G.E.; BAVINGER, J. C.; PEARSON, M.; ESCHBACH, P.J.; SUNDARAM, V.; LIU, H.; SCHIRMER, P.; STAVE, C.; OLKIN, I.; BRAVATA, D.M. Are Organic Foods Safer or Healthier Than Conventional Alternatives? **A Systematic Review**. *Annals of Internal Medicine*. v. 157, p. 1-19, 2012.

SMOLEN, S.; SADY, W. The effect of various nitrogen fertilization and foliar nutrition regimes on the concentrations of sugars, carotenoids and phenolic compounds in carrot (*Daucus carota* L.). **Scientia Horticulturae**, Krakow, Poland, 2009.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry** . v.112 . p. 654–658. 2009.

SICILIANO J; KRULICK S; HEISLER EG; SCWARTZ J; WHITE JUNIOR JW. 1975. Nitrate and nitrite content of some fresh and processed market vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, p. 461-464.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am J Enol Vit**, v.16, p. 144–158. 1965.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of Environment**, v. 81, p. 337– 354, 2002.

SMITH-SPANGLER, C.; BRANDEAU, M. L.; HUNTER, G. E.; BAVINGER J. C.; PEARSON, M.; ESCHBACH, P. J.; SUNDARAM, V.; LIU, H.; SCHIRMER, P.; STAVE, C.; OLKIN, I.; BRAVATA, D. M. Are Organic Foods Safer or Healthier Than Conventional Alternatives?. **Annals of Internal Medicine**, v. 157, p. 1-19. 2012.

SOARES, N. F. F.; GERALDINE, R. M.; MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Celso Luiz Moretti. Embalagens. Brasília: Embrapa Hortaliças e SEBRAE, p. 153-169. 2007.

STEVENS, C.; KHAN, V. A.; WILSON, C. L.; LUA, J. Y.; CHALUTZC, E.; DROBYC, S. The effect of fruit orientation of postharvest commodities following low dose ultraviolet light-C treatment on host induced resistance to decay. **Crop Protection**, v. 24, p. 756-759, 2005.

SKANDAMIS, P.N.; NYCHAS, G.J.E. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 6, p. 1011–1022, 2001.

SKOCIBUŠIĆ, M.; BEZIC N.; DUNKIC, V. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vir. growing in Croatia. **Food Chem**, v.96, p. 20-28, 2006.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J.A.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 59, p.201-222, 1995.

SIMÕES, C.M.O; SPITZER V. Óleos voláteis. **In:** SIMÕES CMO. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Ed. Universidade-UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC. p. 387-415. 1999.

SORENSEN, J. 2000. *Melissa officinalis*. **Int J Aromather.** 10: 7-15.

SODRÉ, A.C.B.; LUZ, J.M.Q.; HABER, L.L.; MARQUES, M.O.M.; RODRIGUES, C.R.; BLANK, A.F. Organic and mineral fertilization and chemical composition of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil. **Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.**, v. 22, n.1, p. 40-44, 2012.

TAIE, H. A., SALAMA, Z. A. R., RADWAN, S. Potential Activity of Basil Plants as a Source of Antioxidants and Anticancer Agents as Affected by Organic and Bio-organic Fertilization. Not. Bot. **Hort. Agrobot.** v. 38, n.1, p. 119-127. 2010.

TAROZZI, A.S., HRELIA, C., ANGELONI, F., MORRONI, P., BIAGI, M., GUARDIGLI, G., CANTELLI-FORTI, P., HRELIA, P. Antioxidant effectiveness of organically and non-organically grown red oranges in cell culture systems. **Eur. J. Nutr.** v. 45, p. 152–158. 2006.

TAVARES, S.C.C. H. Controle biológico clássico de patógenos de frutas no Brasil - Situação atual. In: SINCOBIOL, 5., 1996, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, p.57-68, 1996.

TERADA, M. et al. Differential rapid analysis of ascorbic acid and ascorbic acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. **Analytical Biochemistry**, v. 84, n. 2, p. 604-608, 1978.

TEGTMEIER, E. M.; DUFFY, M. D. External costs of agricultural production in the United States. **International Journal of Agriculture and Sustainability**, v. 2, n. 1, p. 1–19. 2004.

TIBURCIO, A.F.; KAUR-SAWHNEY, R.; GALSTON, A.W. Polyamine metabolism. **In: Intermediary Nitrogen Metabolism. The Biochemistry of Plants.** Mifflin BJ. and Lea PJ (Ed). Academic Press. p. 283-325, 1990.

TOUMI, I.; M. GARGOURI, M.; NOUAIRI, I.; MOSCHOU, P. N.; BEN SALEM-FNAYOU, A.; MLIKI, A.; ZARROUK, M.; GHORBEL, A. Water stress induced changes in the leaf lipid composition of four grapevine genotypes with different drought tolerance. **Biol Plant**. p. 161–164. 2008.

TOMAS -BARBERAN, F., ESPIN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 853-876. 2001.

TORSETHAUGEN G.; PITCHER L.H.; ZILINSKAS B.A.; PELL E.J. Overproduction of ascorbate peroxidase in the tobacco chloroplast does not provide protection against ozone. **Plant Physiol**. v. 114, p. 529–37. 1997.

VEITCH, N. C. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. **Phytochemistry**. v. 65, p. 249-259. 2004.

VIANA, S.B.A.; FERNANDES, P.D.; GHEYI, H.R.; SOARES, F.A.L.; CARNEIRO, P.T. Índices morfofisiológicos e de produção de alface sob estresse salino. **Rev. bras. eng. agríc. ambient**. v.8, n.1. Campina Grande. 2004.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VAN HUYSTEE, R. B. Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies. **Annual Review of Plant Physiology**. v. 38, p. 205-217. 1987.

VILLACHICA, H. et al. **Frutales y hortalizas promissórios de la Amazônia**. Lima: TCA; Secretaria Protempore, p. 322- 327, 1996.

VIJAYA KUMAR REDDY, C.; SREERAMULU, D.; RAGHUNATH, M. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. **Food Research International**, v. 43, p. 285–288. 2010.

VICENTE, A.R.; MARTÍNEZ, G.A.; CHAVES, A.R.; CIVELLO, P.M. Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage. **Postharvest Biol. Technol.** 40, 16-122. 2006.

ZAGORY, D. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 313-321, 1999.

ZAPATA, P. J.; SERRANO, M.; PRETEL, M. T.; AMORÓS, A. M. BOTELLA, A. Polyamines and ethylene changes during germination of different plant species under salinity. **Plant Science** . v. 167, p. 781–788. 2004.

ZAGORY, D. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. **Postharvest Biology and Technology**, v.15, p. 313–321. 1999.

ZUANAZZI, J.A.S. Flavonóides. **In:** Simões CMA, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia da planta ao medicamento. 2ª ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, p. 489-516. 2000

ZUZARTE, M.; GONÇALVES, M.J.; CRUZ, M.T.; CAVALEIRO, C.; CANHOTO, J.; VAZ, S.; PINTO, E.; SALGUEIRO, L. *Lavandula luisieri* essential oil as a source of antifungal drugs. **Food Chemistry**, v.135, p. 1505-1510, 2012.

YAO, L. H. et al. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Food and Human Nutrition**, v. 59, p. 113-122, 2004.

YANISHLIEVA, N.V., MARINOVA, E.M. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. **European Journal of Lipid Science and Technology**. v.103, p. 752-767. 2001.

YANEVA IA; MACK G; VUNKOVA-RADEVA RV; TISCHNER R. 1996. Changes in nitrate reductase activity and the protective effect of molybdenum during cold stress in winter wheat grown acid soil. **Journal of Plant Physiology**, v. 149, p. 211-216.

WANASUNDARA, U.; AMAROWICZ, R.; SHAHIDI, F. Isolation and identification of an antioxidative component in canola. **J Agric Food Chem.** v. 42, n.6, p. 1285-90. 1994.

WANG, S.Y.; LIN, H.S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.2, p.140-146, 2000.

WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M.E. **Biological control of postharvest plant diseases of fruits and vegetables: theory and practice**. Boca Raton: CRC Press, 1994.

WINTER, C. K.; DAVIS, S. F. Organic foods. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 9, p. R117–R124, 2006.

WOJDYŁO, A., OSZMIANSKI, J., LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v. 56, p. 6520–6530. 2009.

WOOTTON-BEARD, P.C.; MORAN, A.; RYAN, L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion, measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin Ciocalteu methods. **Food Res Int.** v. 44:p. 217-224. 2011.

WRIGHT, M. J.; DAVISON, D. L. Nitrate accumulation in crops and nitrate poisoning in cattle. **Adv. Agron.** v. 16, p. 197 - 247. 1964.

WHITFIELD, F. B. Microbiologically derived off-flavours. **In** B. Baigrie (Ed.), Taints and off-flavours in foods. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited. 2004.

ANEXOS

Revisão Bibliográfica:



Paulo Lobato

Figura 1: Comidas típicas da Amazônia: Jambu cozido, tacacá, pizza de jambu, vatapá, arroz com jambu e pato no tucupi.

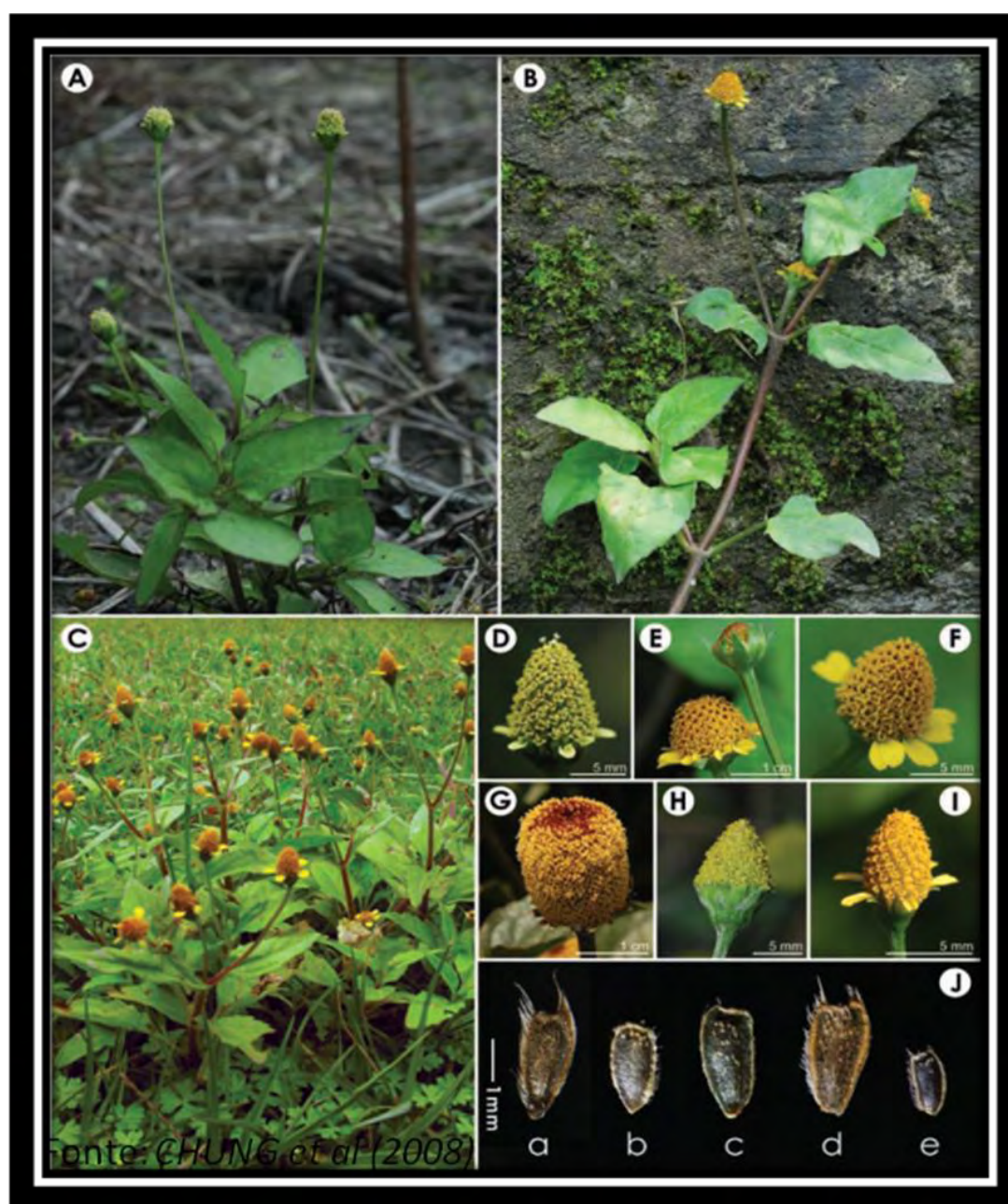


Figura 3: Inflorescência de jambu em diferentes estágios de desenvolvimento.



Figura 4: Folhas de jambu, fonte: internet.



Coutinho, Aparecido e Figueiredo, 2006

Figura 6: *Thecaphora spilanthus*, conhecida como carvão do jambu

Capítulo I



Figura 1: Túnel em estrutura metálica, com 60 m de comprimento, Fazenda Experimental São Manuel (São Manuel-SP), UNESP, campus de Botucatu.



Figura 2: Túnel em estrutura metálica, com 60 m de comprimento, Fazenda Experimental São Manuel (São Manuel-SP), UNESP, campus de Botucatu.



Figura 4: Inflorescência de jambu, cv. Jambuarana



Figura 5: Inflorescência de Jambu, cv. Nazaré.



Mudas de jambu cv. Jambuarana



Mudas de jambu cv. Nazaré

Figura 6: Mudanças de Jmabu, cultivadas sob adubação orgânica e mineral.



cv. Jambuarana



cv. Nazaré

Figura 7: Mudanças de Jambu, cv. Jambuarana e cv. Nazaré

Capítulo III



Figura 1: Extração do óleo essencial de jambu por hidro-destilação em aparelho de Clevenger, fonte: Borges, 2012.



Figura 2: óleo essencial de Jambu. Fonte: Nunes, 2012.



Figura 3: Identificação das substâncias do óleo essencial de jambu em CG/MS.



Figura 4: Preparação das placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton para inoculação com fungo *Aspergillus gillis*

Apêndices

Capítulo I

Resultado dos climatérios da área experimental

Os dados pluviométricos e de temperatura foram obtidos no Departamento de Ciências Ambientais - FCA - UNESP – Botucatu/SP.

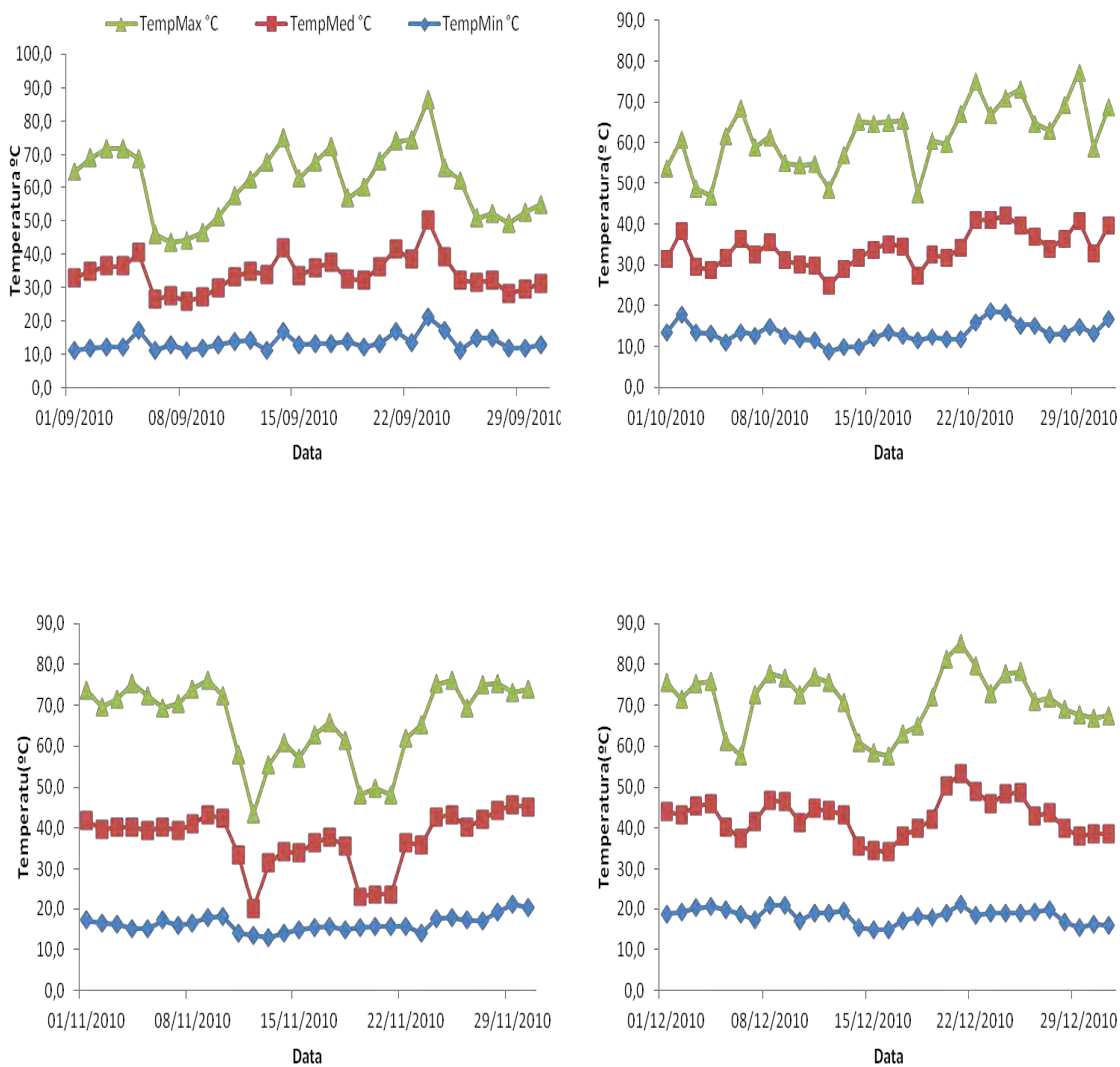


Figura1: Dados de temperatura máxima, mínima e media durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.

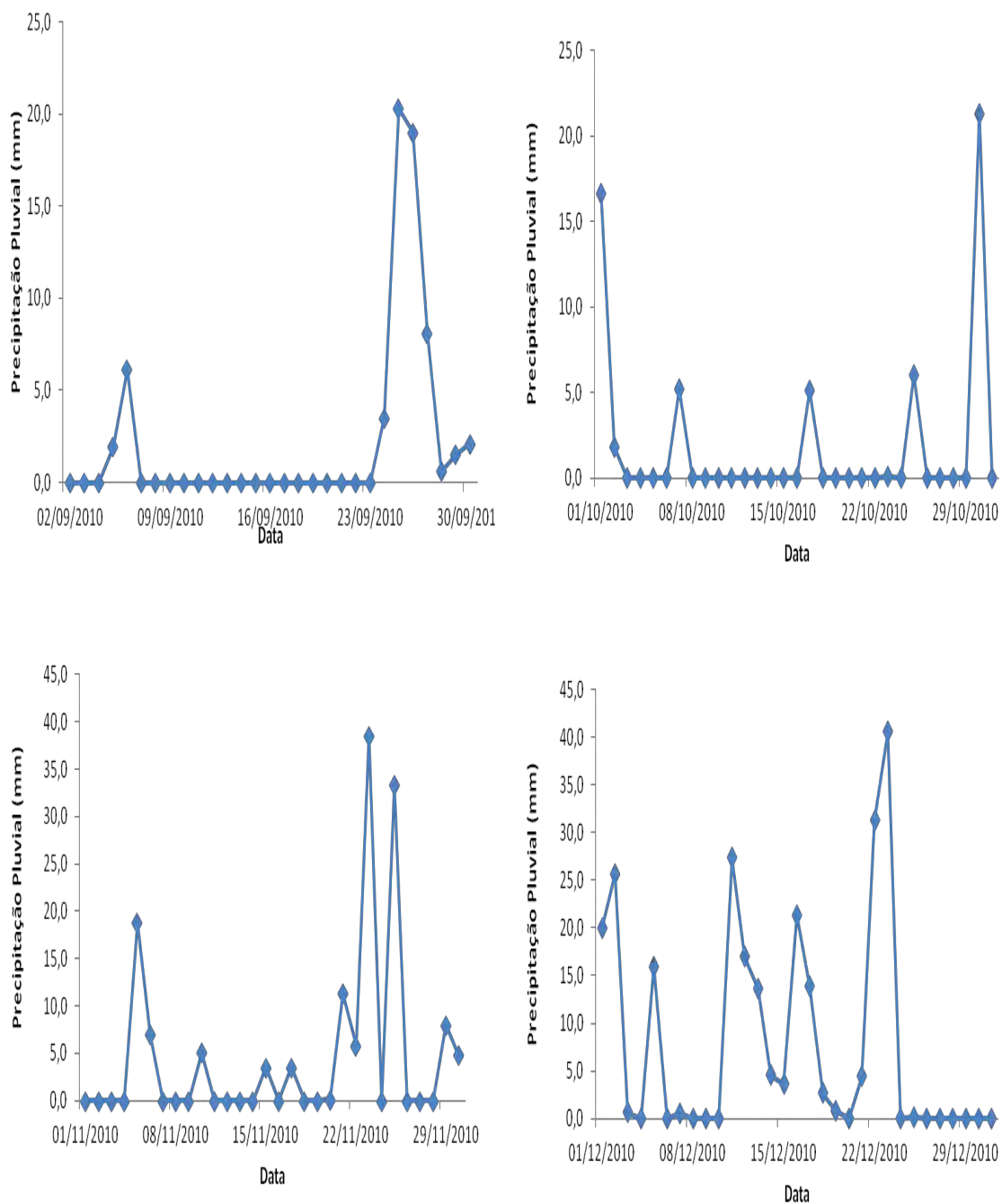


Figura2: Dados de precipitação pluvial (mm) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.

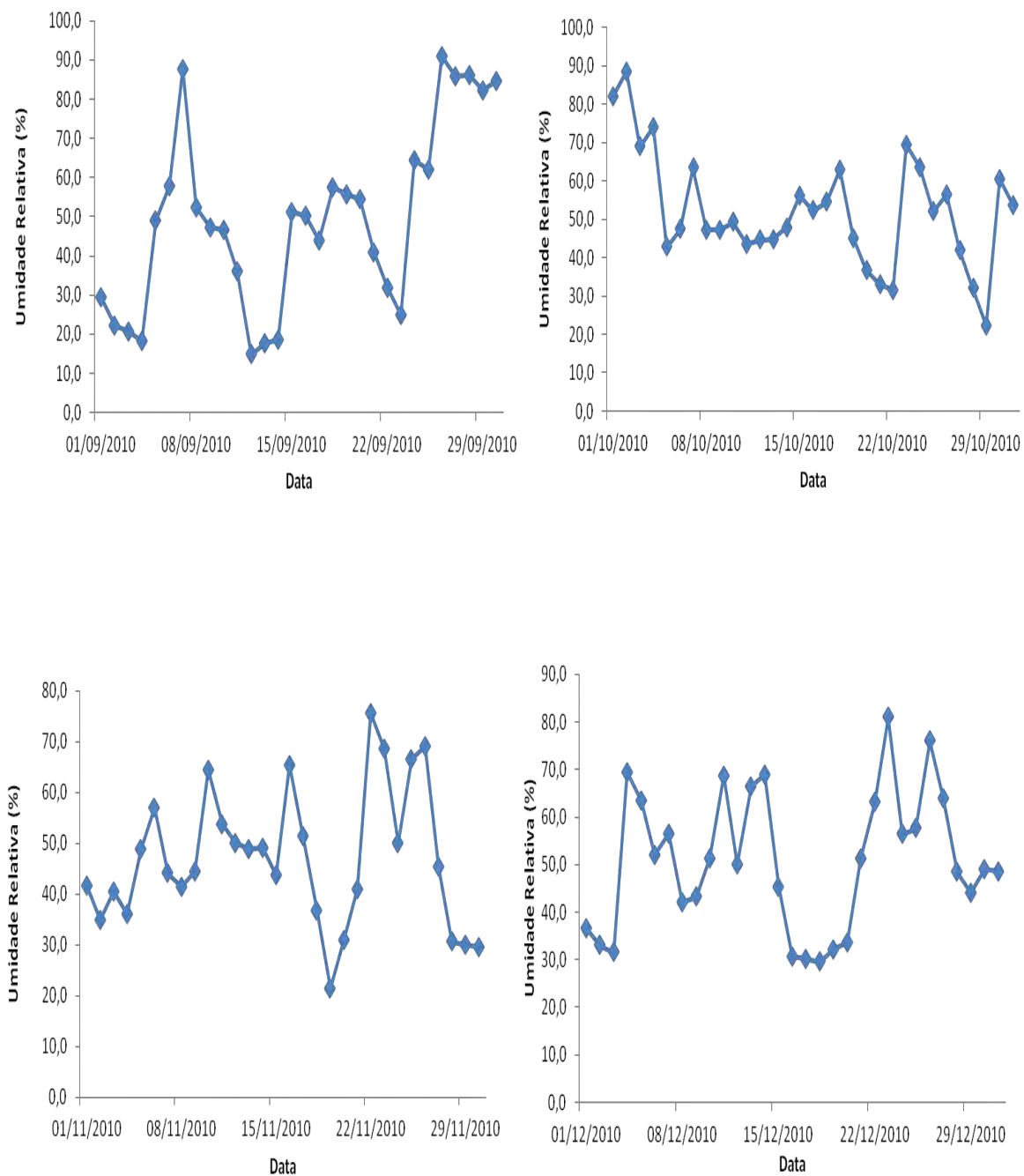


Figura 3: Dados umidade relativa (%) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.

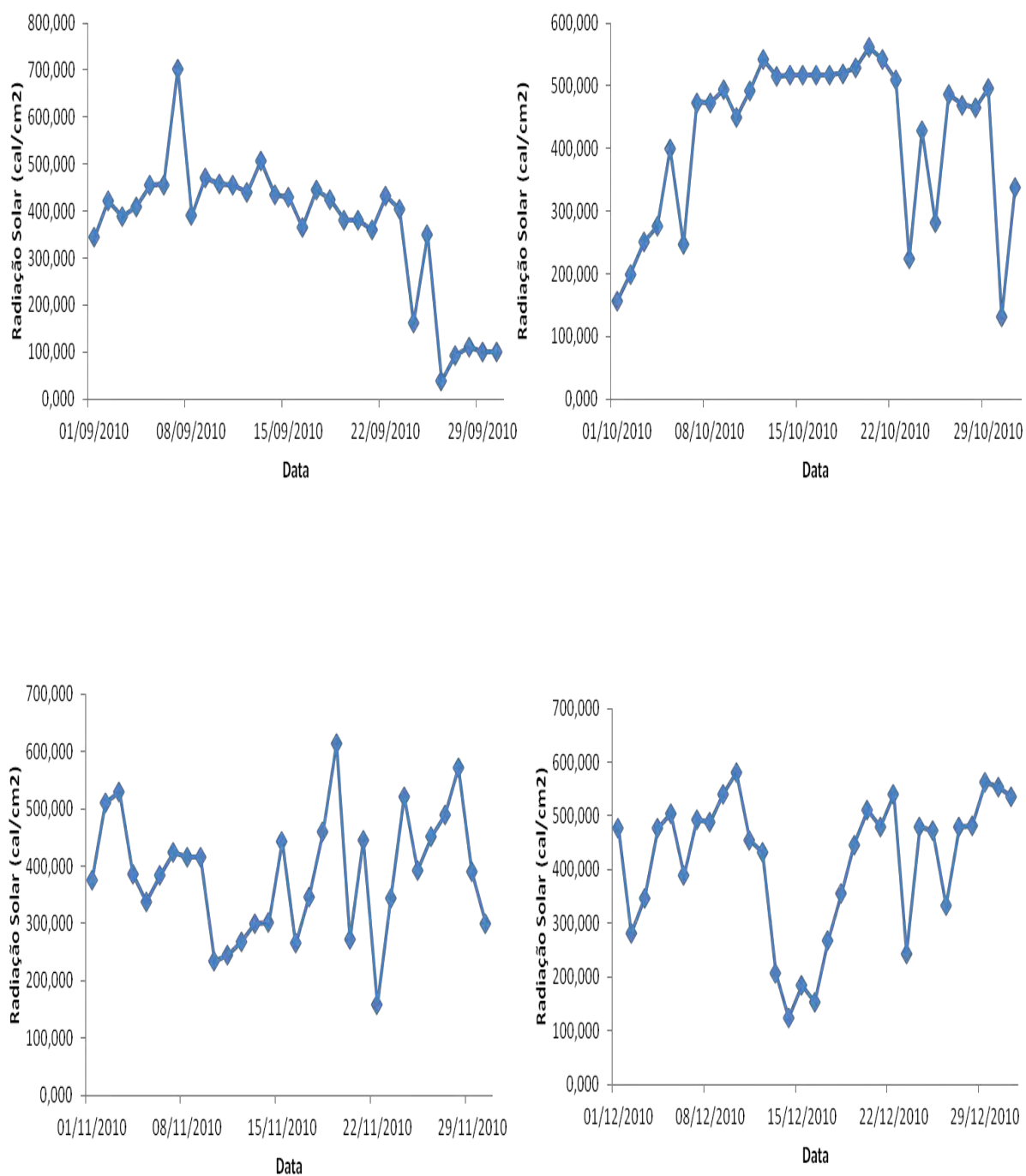


Figura 4: Dados de radiação solar (cal/cm²) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.

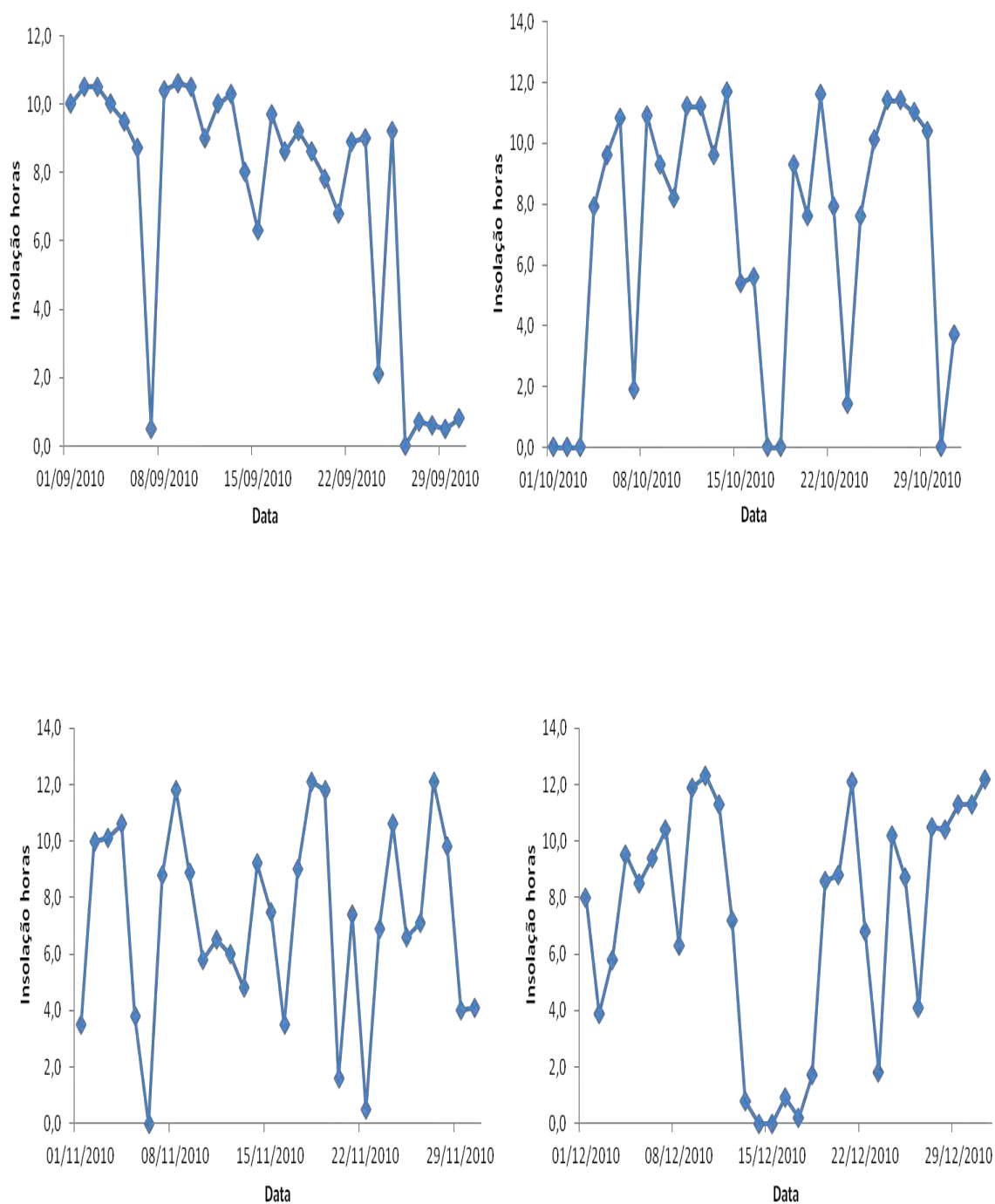


Figura 5: Dados de insolação em horas durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.

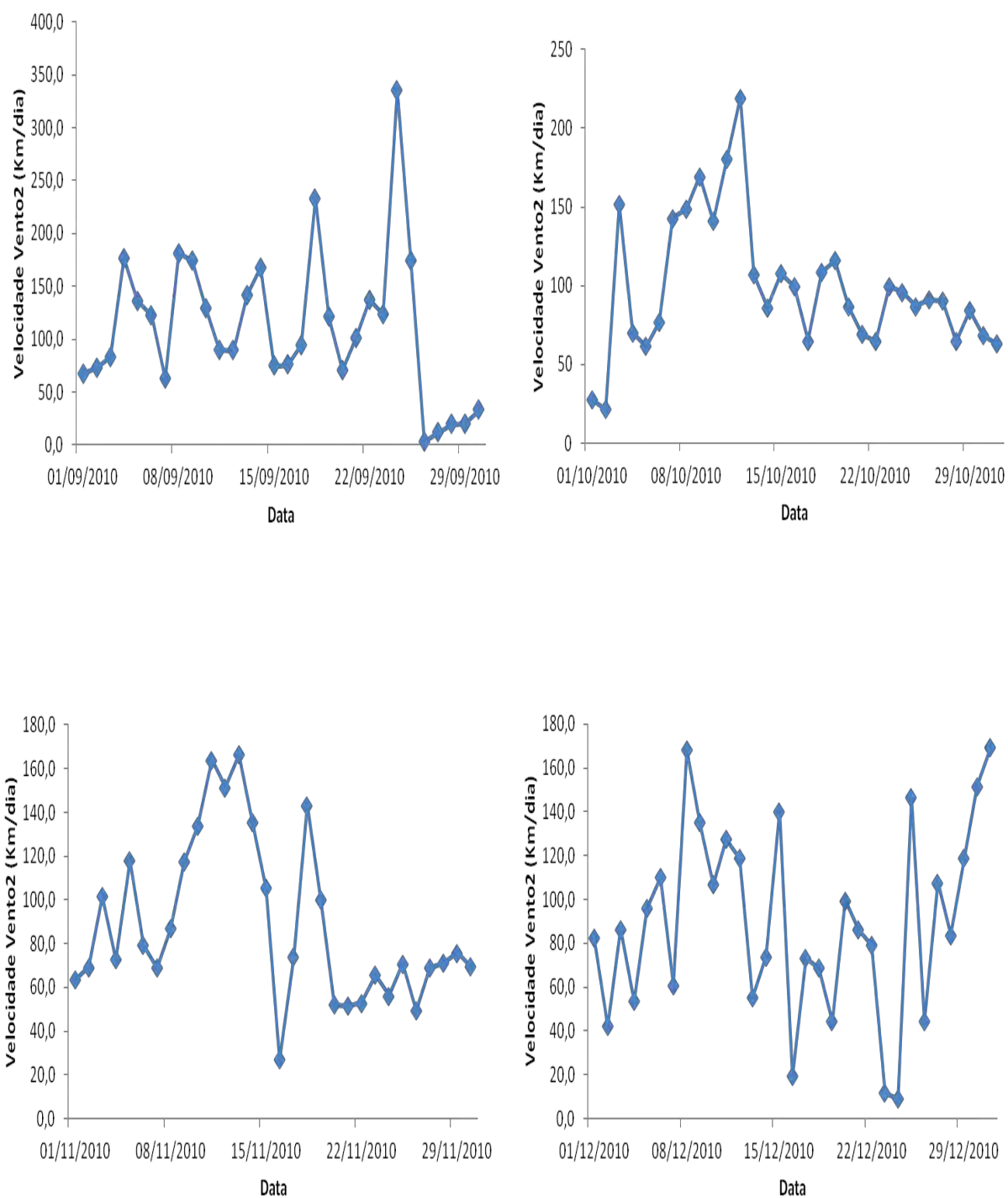


Figura 6: Dados de velocidade do vento (Km/dia) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.

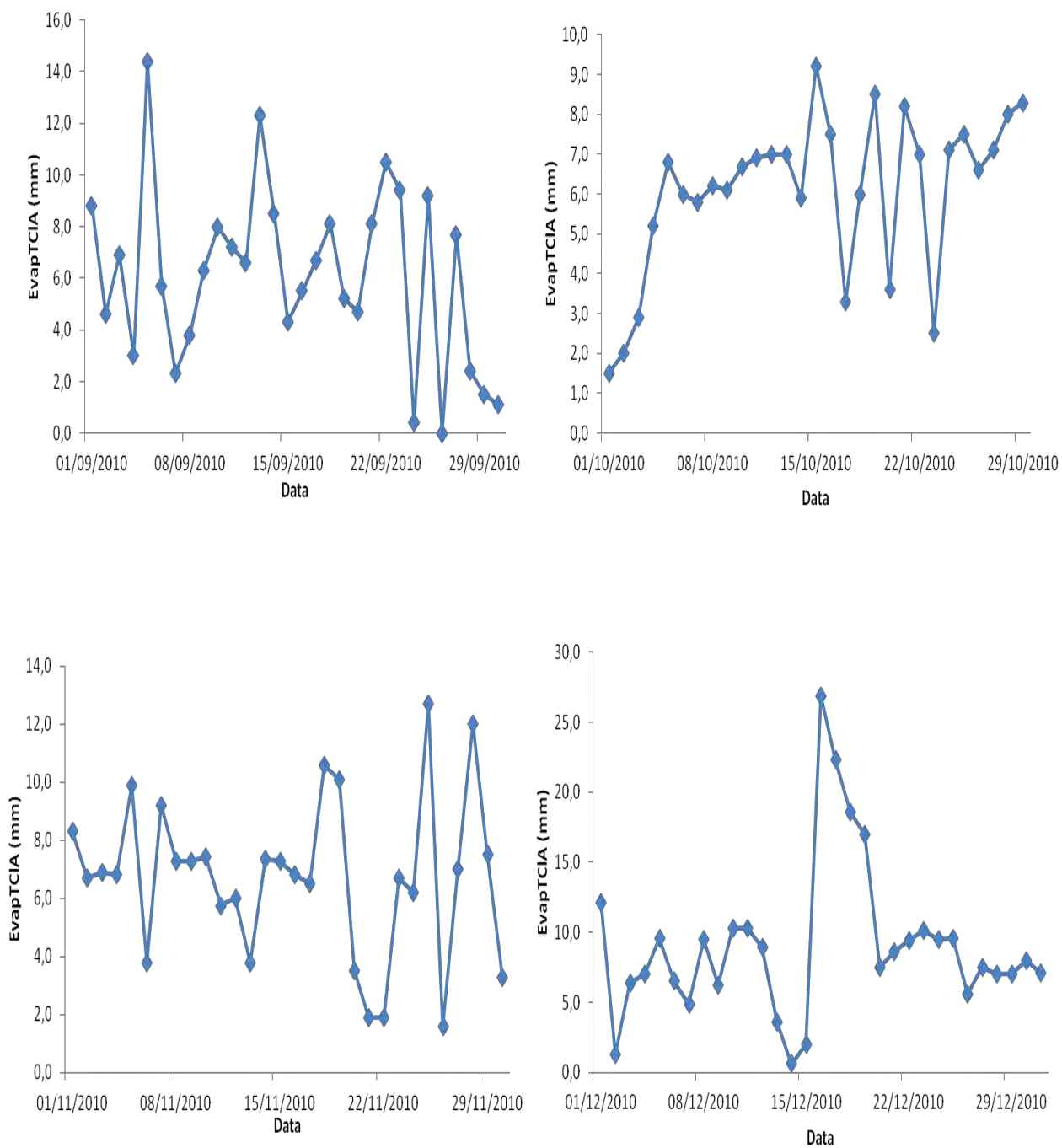


Figura 7: Dados de evapTCIA (mm) durante o período experimental na Fazenda experimental da UNESP em São Manoel. De setembro a dezembro de 2010.

Capítulo IV



Figura 1: Fase inicial do experimento -UPCT. Cartagena-Murcia, Espanha.



Figura 2: Processamento mínimo das nectarinas. Cartagena-Murcia, Espanha.



Figura 3: Aplicação dos tratamentos UV-C. Cartagena-Murcia, Espanha.

Capítulo V:



Figura 1: Preparação das amostras de nectarinas minimamente processada, para análise em HPLC.



Figura 2: Preparação das amostras para quantificação dos polifenóis em HPLC.

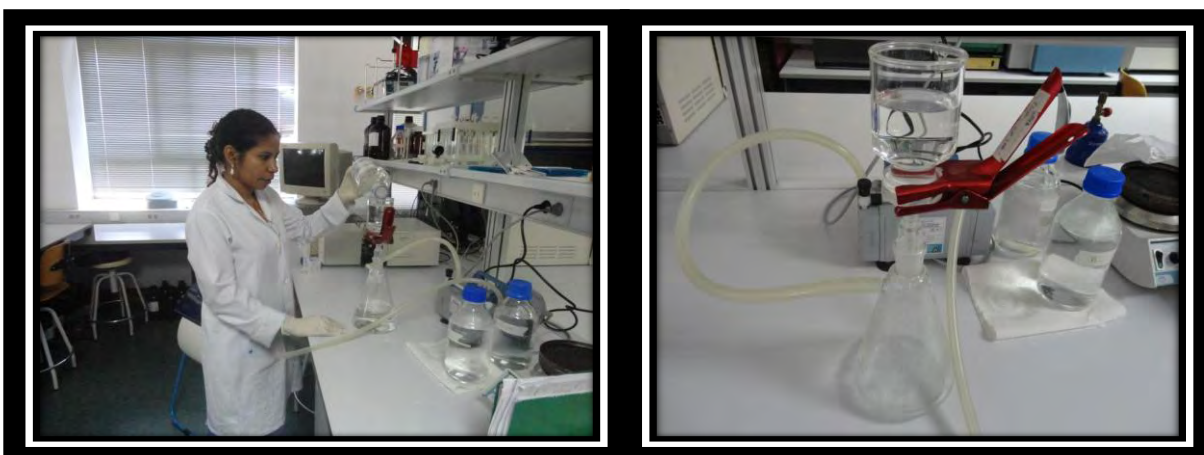


Figura 3: Preparação das móveis para usar na quantificação dos polifenóis em HPLC.

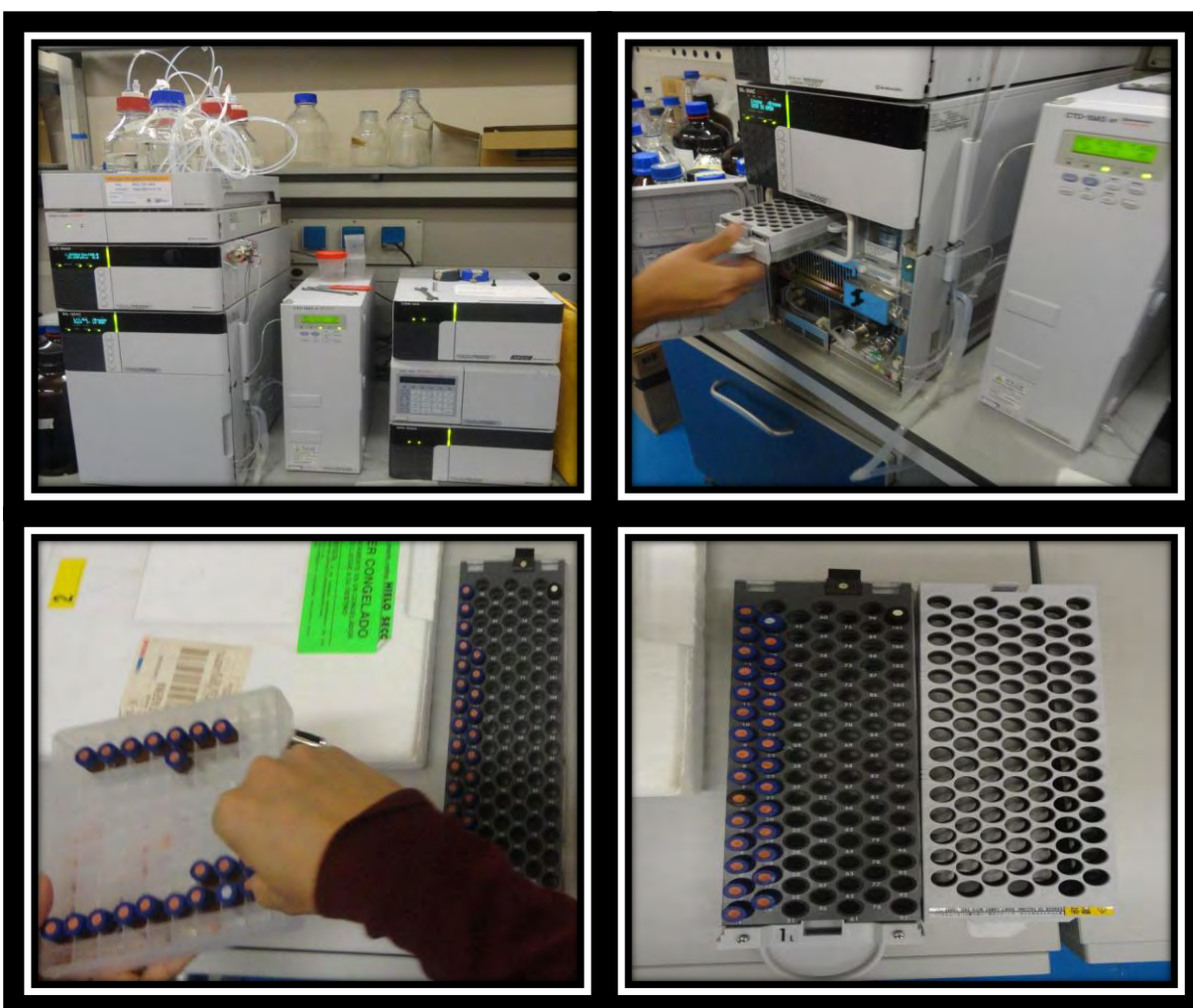


Figura 4: Aplicação das amostras para quantificação dos polifenóis em HPLC.