

FLÁVIA MILAGRES CAMPOS

**AVALIAÇÃO DE PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE
HORTALIÇAS VISANDO A PRESERVAÇÃO DE
VITAMINA C E CAROTENÓIDES**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência da Nutrição, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C198a
2006

Campos, Flávia Milagres, 1978-

Avaliação de práticas de manipulação de hortaliças visando a preservação de vitamina C e carotenóides / Flávia Milagres Campos. – Viçosa : UFV, 2006. viii, 92f. : il. ; 29cm.

Orientador: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Hortaliças - Nutrição. 2. Hortaliças - Composição.
3. Vitamina C. 4. Carotenóides. 5. Alimentos - Análise.
6. Cromatografia a líquido de alta eficiência.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 635.5

FLÁVIA MILAGRES CAMPOS

**AVALIAÇÃO DE PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO DE HORTALIÇAS
VISANDO A PRESERVAÇÃO DE VITAMINA C E CAROTENÓIDES**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência da Nutrição, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada em 29 de maio de 2006.

Prof.^a Raquel Monteiro C. de Azeredo
(Co-orientadora)

Prof. Paulo César Stringheta
(Co-orientador)

Prof. José Benício Paes Chaves

Prof.^a Hércia Stampini Duarte Martino

Prof.^a Helena Maria Pinheiro Sant'Ana
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Lourdes e Antônio, por todo o esforço que sempre fizeram para minha educação e formação, e assim o fizeram novamente para que eu pudesse completar mais esta fase.

Ao meu irmão, Fabrício, que sempre me ajudou no que podia e dividiu o computador e o quarto comigo, para que eu pudesse trabalhar.

Ao meu namorado, Fabrício, que foi companheiro em todos os momentos bons e ruins e nunca deixou de me ajudar e incentivar.

Aos meus tios, tias e avós pela torcida.

Agradeço à Prof^a Helena, que mais que minha orientadora, foi minha amiga e sempre teve paciência e disponibilidade para ensinar. Obrigada pela confiança!

Ao Prof. José Benício Paes Chaves, pelo interesse, pelas valiosas sugestões que enriqueceram o trabalho desde o início e pela ajuda com o delineamento e análise estatística dos dados.

À Prof^a Raquel Azeredo, que me ajudou a ver o quanto era possível fazer, obrigado pelo interesse no projeto e sugestões.

Ao Prof. Paulo César Stringheta, que sempre me recebeu com atenção, pelas discussões e importantes sugestões na otimização da metodologia e empréstimo de equipamentos.

À Prof^a Céphora Maria Sabarense pela receptividade e ajuda na interpretação e busca de respostas para resultados inesperados.

À Prof^a Sônia, que fez parecer que estávamos aprendendo juntas, pela inestimável ajuda no desenvolvimento da metodologia.

A todos os professores cujos nomes não foram citados, mas que em alguma etapa contribuíram para este trabalho.

Agradeço à Ceres, Daniela, Gardênia e Juliana por toda disponibilidade e amizade; esse trabalho não teria chegado até aqui sem vocês.

A todos os colegas que também utilizaram o Laboratório de Análise de Vitaminas e Laboratório de Pigmentos e Secagem (DTA), pela troca de informações e convivência.

Aos meus colegas de mestrado, Ana Cristina, Cristiane, Ana Paula, Aline, Fabiane, Jôsi, Ciro, André, Edmar, Michele, enfim, todos os companheiros das alegrias e das lamentações inúteis.

Agradeço à Ellencristina por todas as boas risadas e pela amizade.

Aos meus amigos de Viçosa, que entenderam que muitas vezes foi preciso deixar de vê-los para poder concluir as atividades a tempo.

À minha grande amiga Camila, à Natália e Alba, que me receberam em Belo Horizonte e disponibilizaram tudo para que eu pudesse escrever a tese com tranquilidade, e ao Alecsson que cedeu o computador para que eu não parasse nunca. Muito obrigada!

Ao Vinícius, pela ajuda na formatação dos manuscritos.

Agradeço aos funcionários do Departamento de Nutrição, Solange, Terezinha, Mimorina, Cleusa, Ricardo, Cassiano e Luciano, que me atenderam com bom humor e sempre deram um jeitinho.

À Maria Christina Barros Bittencourt, que disponibilizou a Cozinha Pedagógica.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, D. Lígia, Valério e Tomáz, que sempre me receberam com carinho e não mediram esforços para ajudar.

Aos fornecedores de tomate e couve, que se desdobraram para atender nossas necessidades, pela simpatia e presteza.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Nutrição e Saúde, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pela concessão da bolsa de mestrado.

E, por último, agradeço a Deus por ter permitido que eu convivesse com todos vocês e por estar presente em todos os momentos.

CONTEÚDO

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
3 METODOLOGIA	4
3.1 Material	4
3.1.1 Amostras	4
3.1.2 Aparatos	4
3.1.3 Reagentes e outros materiais	4
3.2 Métodos	5
3.2.1 Delineamento experimental e análise estatística.....	5
3.2.2 Preparo das amostras	6
3.2.2.1 Tomate.....	6
3.2.2.2 Couve.....	7
3.2.3 Determinação de sólidos.....	8
3.2.3.1 Sólidos solúveis totais	8
3.2.3.2 Sólidos totais	8
3.2.4 Extração	8
3.2.4.1 Ácido Ascórbico	8
3.2.4.2 Carotenóides	8
3.2.5 Isolamento dos padrões de licopeno e β -caroteno	9
3.2.6 Análise cromatográfica.....	10
3.2.6.1 Curvas-padrão de ácido ascórbico, licopeno e β -caroteno.....	11
3.2.6.2 Análise de ácido ascórbico.....	11
3.2.6.3 Análise de carotenóides	11
3.2.6.4 Conversão de ácido desidroascórbico em ácido ascórbico	12
3.2.7 Testes de recuperação, linearidade e limite de detecção.....	13
3.2.8 Cálculos.....	13
3.2.8.1 Retenção	13
3.2.8.2 Valor de vitamina A.....	14
4 RESULTADOS	15
4.1 Artigo 1: Estabilidade de antioxidantes em hortaliças durante o armazenamento e preparo: uma revisão.....	15
4.2 Artigo 2: Otimização de metodologia para análise de ácido ascórbico e ácido desidroascórbico em hortaliças	31
4.3 Artigo 3: Controle de perdas de vitamina C e carotenóides em tomate durante armazenamento e preparo	46
4.4 Artigo 4: Práticas de manipulação para controle de perdas de vitamina C e carotenóides em couve	69
5 CONCLUSÕES GERAIS	92

RESUMO

CAMPOS, Flávia Milagres. M.S. Universidade Federal de Viçosa, maio de 2006. **Avaliação de práticas de manipulação de hortaliças visando a preservação de vitamina C e carotenóides.** Orientadora: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana. Co-orientadores: Raquel Monteiro Cordeiro de Azeredo, Paulo César Stringheta e Céphora Maria Sabarense.

Vitamina C e carotenóides são compostos importantes para a saúde humana. Entretanto, a vitamina C é bastante instável na presença de calor, oxigênio e metais e os carotenóides instáveis na presença de luz e oxigênio. Hortaliças são uma das principais fontes de vitamina C e carotenóides na alimentação, porém os processos a que são submetidas desde a colheita até o consumo podem reduzir seu conteúdo. Acredita-se que a adoção de boas práticas de manipulação poderia minimizar a perda de vitamina C e carotenóides decorrentes das operações de preparo de hortaliças. Os objetivos deste estudo foram otimizar uma metodologia para análise de vitamina C (ácido ascórbico e desidroascórbico), determinar o conteúdo de ácido ascórbico, ácido desidroascórbico, licopeno e β -caroteno em tomate e couve e selecionar práticas de manipulação para redução de perdas de vitamina C, β -caroteno e licopeno nestas hortaliças durante o armazenamento, pré-preparo, preparo e distribuição para consumo. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi o método de análise usado para os compostos, sendo que as condições cromatográficas basearam-se em eluição isocrática, separação em coluna de fase reversa e detecção na faixa UV-visível. Para análise da vitamina C, diferentes soluções extratoras e condições cromatográficas foram avaliadas. Muitos dos estudos realizados até o momento não consideraram o ácido desidroascórbico (DHA), embora esse também apresente atividade vitamínica. A quantificação do DHA foi feita de maneira indireta pela sua redução utilizando ditiotreitól (DTT). A metodologia otimizada pode ser empregada também para análise de vitamina C em hortaliças adicionadas de óleo. Para selecionar as práticas de manipulação para prevenção de perdas de vitamina C e carotenóides foram testados o armazenamento à 10 °C e 23 ou 24 °C (durante 24 e 72 horas),

os tempos de sanitização (15, 45 e 75 minutos), os tipos de corte (fatias e cubos para tomate; rasgada e em tiras para couve) e o tempo de exposição para consumo (0, 30 e 60 minutos). As retenções de β -caroteno em couve e de ácido ascórbico (AA) em tomates, após 24 horas de armazenamento, foram maiores em temperatura de refrigeração do que em temperatura ambiente. Já as retenções de DHA e licopeno em tomate foram maiores em temperatura ambiente. A sanitização por tempo superior a 15 minutos influenciou negativamente a retenção de AA nas amostras de couve armazenadas sob refrigeração, sendo cerca de 12 % menor após 75 minutos de sanitização. Não houve diferença entre os cortes e os tempos de exposição empregados para o tomate em relação à retenção de nenhum dos compostos em estudo. O tempo de espera entre a cocção e o consumo da couve refogada influenciou negativamente a retenção de AA tanto na couve fatiada em tiras quanto na couve rasgada. O armazenamento sob refrigeração, o controle do tempo de sanitização e do tempo entre o preparo e o consumo são recomendados para minimizar as perdas de vitamina C e carotenóides tanto em couve quanto em tomate.

ABSTRACT

CAMPOS, Flávia Milagres. M.S. Universidade Federal de Viçosa, May 2006.
Evaluation of vegetable manipulation practices aiming vitamin C and carotenoid preservation. Adviser: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana. Co-advisers: Raquel Monteiro Cordeiro de Azeredo, Paulo César Stringheta and Céphora Maria Sabarense.

Vitamin C and carotenoids are important compounds for human health. However, vitamin C is very unstable in the presence of heat, oxygen and metals and carotenoids are unstable in the presence of light and oxygen. Vegetables are one of the main sources of vitamin C and carotenoids in the diet. However, the processes they are submitted from harvest to consumption can reduce its content. It is believed that the adoption of good handling practices could minimize vitamin C and carotenoids losses in vegetables during preparation. The objectives of this study were to optimize a methodology for vitamin C (ascorbic acid and dehydroascorbic acid) analysis; to determine ascorbic acid, dehydroascorbic acid, lycopene and β -carotene content in tomato and collard green; and, to select handling practices for vitamin C, β -carotene and lycopene loss control in those vegetables during storage and preparation. The analysis method was high pressure liquid chromatography. Chromatographic conditions were based on isocratic elution, reversed phase column separation and UV-visible detection. For vitamin C analysis, different extraction solutions and chromatographic conditions were tested. Studies carried out until this moment did not consider dehydroascorbic acid (DHA), although it also present vitamin C activity. DHA quantification was done indirectly by its reduction with dithiothreitol (DTT). The optimized methodology may also be used for vitamin C analysis in oil added vegetables. Some conditions were tested for the selection of handling practices for vitamin C and carotenoids loss prevention: storage at 10 °C and 23 or 24 °C (during 24 e 72 hours), sanitization time (15, 45 and 75 minutes), slicing method (slices and cubes for tomato; hand torn and strips for collard green) and time before consumption (0, 30 and 60 minutes). The retentions of β -carotene in collard green and ascorbic acid (AA) in tomatoes, after 24 hours of storage, were greater at refrigerated temperature than at room

temperature. On the other hand, the retentions of DHA and lycopene in tomatoes were greater at room temperature. The sanitization for more than 15 minutes negatively influenced the AA retention in collard green samples stored under refrigeration (about 12% less after 75 minutes of sanitization). There were no differences between slicing methods and the times between preparation and consumption used for tomatoes in relation to retention of any compounds under study. The time between cooking and consumption of stir-fried collard green negatively influenced AA retention for both striped and teared collard green. Refrigerated storage, control of sanitization time and control of the time between preparation and consumption are recommended to minimize vitamin C and carotenoids losses in collard green and tomato.

1. INTRODUÇÃO

A qualidade dos alimentos está relacionada ao seu aspecto e sabor, à segurança sanitária e ao valor nutricional. O aspecto sensorial é logo percebido pelo consumidor, que pode rejeitar o alimento caso esse não lhe agrade. Quanto à qualidade sanitária há grande preocupação dos consumidores em função dos problemas que podem advir de um alimento contaminado. Já em relação à qualidade nutricional, em alguns aspectos a informação é limitada. No caso de micronutrientes, como vitaminas, podem-se selecionar alimentos conhecidos como fontes importantes, mas não há informação suficiente quanto a perdas ocorridas entre a colheita ou abate até a ingestão do alimento.

As vitaminas são nutrientes extremamente lábeis ao processamento dos alimentos, mas que exercem uma ação essencial na regulação das funções do organismo humano (Mindell, 1996). Além dos papéis tradicionalmente atribuídos às vitaminas, no organismo, outras funções vêm sendo destacadas, em especial seu papel antioxidante, bem como o de alguns outros compostos encontrados em alimentos, como os carotenóides (Podsdek, 2006; IOM, 2000). Torna-se, portanto, importante quantificar as perdas desses compostos em alimentos para que a ingestão possa ser calculada com maior confiabilidade, a fim de atingir a recomendação diária.

Além de quantificar as perdas é interessante também buscar medidas para minimizá-las e garantir o valor nutricional do alimento após o preparo. Assim como boas práticas de manipulação são recomendadas para garantir a qualidade sanitária, práticas de manipulação para garantir a qualidade nutricional também podem ser definidas e usadas como parâmetro na produção de refeições em pequena ou larga escala.

A análise química de alimentos é algo complexo e, por isso, muitas vezes a análise de uma vitamina é usada como indicativo do comportamento das demais vitaminas. O ácido ascórbico, por ser uma das vitaminas mais sensíveis, costuma ser utilizado para esse fim (Selman, 1994). No entanto, a comparação com vitaminas lipossolúveis pode ser prejudicada, uma vez que o ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel e pode apresentar comportamento distinto frente ao processamento. Desta forma, torna-se importante também a análise de compostos lipossolúveis.

A vitamina C é um nutriente de destaque por causa da sua grande importância em nutrição, para a manutenção da saúde, e para a indústria de alimentos, onde é usada como aditivo em alimentos processados (Rios e Penteado, 2003).

Entre as várias funções desempenhadas pelos carotenóides, a sua atividade provitamínica A é uma das mais importantes. Carotenóides provitamínicos como o β -caroteno podem contribuir com parcela significativa da vitamina A da dieta, especialmente quando se considera o custo financeiro da ingestão de produtos de origem animal, que fornecem a vitamina A pré-formada (Campos & Rosado, 2005). Mas há carotenóides que são acíclicos, como o licopeno, e não apresentam atividade vitamínica (Britton, 1992), porém apresentam outras propriedades. O licopeno é considerado o carotenóide com maior poder antioxidante (Miller et al., 1996).

As hortaliças são fontes muito importante de ácido ascórbico e carotenóides, sendo amplamente consumidas pela população brasileira. Hortaliças como couve e tomate podem ser produzidas e consumidas o ano todo e sua aquisição é acessível para a maior parte da população. Entretanto, o valor nutricional desses alimentos pode ser reduzido durante as diversas etapas a que são submetidos desde a colheita até a ingestão pelo consumidor.

Os fatores que elevam as perdas de ácido ascórbico e carotenóides estão presentes durante o armazenamento, pré-preparo, preparo e distribuição para consumo das hortaliças. Alterações de pH, presença de íons metálicos, exposição ao oxigênio, a temperatura elevada e a luz são os principais fatores que influenciam a estabilidade do ácido ascórbico e de carotenóides (Lee & Kader, 2000; Rodriguez-Amaya, 1997).

Referência bibliográfica

- Britton, G. Carotenoids. (1992). In G. F. Hendry, *Natural foods colorants* (pp. 141-148). New York: Blackie.
- Campos, F. M. & Rosado, G. P. (2005). Novos fatores de conversão de carotenóides provitamínicos A. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(3), 571-578.
- IOM - U. S. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. (2000). *Dietary intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids*. Washington: National Academy Press.
- Lee, S. K. & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology Technology*, 20, 207-220.
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., Rice-Evans, C. A. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters*, 384, 240-242.
- Mindell, E. (1996). O que é importante saber sobre as vitaminas. In Mindell, E., *Vitaminas: guia prático das propriedades e aplicações* (pp.14-29). São Paulo: Companhia Melhoramentos.
- Podsedek, A. (2006). Natural antioxidants and antioxidant capacity of brassica vegetables: A review. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* (no prelo).
- Rios, M. D. G. & Penteado, M. V. C. (2003). Vitamina C. In Penteado, M. V. C., *Vitaminas: aspectos nutricionais, bioquímicos, clínicos e analíticos* (p 201-225). São Paulo: Manole.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (1997) *Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods*. Washington: OMNI.
- Selman, J. D. (1994). Vitamin retention during blanching of vegetables. *Food Chemistry*, 49, 137-147.