

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS ARARAQUARA**

ISABELLA CANTON GRILLO

**ESTUDO DO EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS TÉRMICOS NOS
COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NA COUVE-MANTEIGA E NO
ALMEIRÃO**

ARARAQUARA - SP

2015

ISABELLA CANTON GRILLO

**ESTUDO DO EFEITO DE DIFERENTES TRATAMENTOS TÉRMICOS NOS
COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NA COUVE-MANTEIGA E NO
ALMEIRÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de Farmacêutica-Bioquímica.

Orientadora: Prof^aDr^a Célia Maria de Sylos

ARARAQUARA - SP

2015

Dedico este trabalho à minha família, por tornarem possível tudo em minha vida, e aos amigos, por colorirem os meus dias.

AGRADECIMENTOS

A minha família, minha especial gratidão, por todo suporte, apoio e compreensão durante todos esses anos de graduação, por sempre facilitarem meus caminhos e me deixarem livre para aproveitar as oportunidades. Ainda, em destaque, à minha irmã, Michelle, por todo apoio, paciência, união e amor durante os anos morando em outra cidade.

A Profa. Dra. Célia Maria de Sylos pela oportunidade, orientação e aprendizagem; e aos colegas do Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos, em especial a Flávia Marcussi por toda a ajuda, orientação e cooperação durante a execução da pesquisa.

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP por todas as oportunidades, estrutura e suporte para o aprendizado e desenvolvimento científico.

A minha melhor amiga, Mariana, por ter sido realmente a “best” em todos esses anos de convívio na universidade e fora dela, tornando até as épocas difíceis da faculdade mais alegres de se viver. Você é a melhor.

Ao meu melhor amigo, Igor, por todos os anos de amizade e companheirismo. Obrigada por nunca desistir da nossa amizade, mesmo com tantas reviravoltas nos nossos caminhos. Você é o melhor.

Aos meus grandes amigos de longa data e tempos de escola, pela amizade incrível e inestimável que construímos ao longo dos anos, especialmente àqueles que sempre estiveram por perto, acompanhando e apoiando todas as minhas escolhas e mudanças.

Aos queridos amigos do “kaputt”, especialmente Suan, Henrique e Mahyara por toda imensurável ajuda no maior desafio da minha vida e pela amizade que se mostra sólida e verdadeira mesmo com o distanciamento geográfico.

To Andreas Brauer for being a great boss and tutor during my internship, and later for all the support, understanding and caring. Vielen Dank für alles.

"Happiness only is real when shared"

Christopher McCandless

RESUMO

Atualmente observa-se uma diminuição no consumo de verduras entre os brasileiros, especialmente na região norte e nordeste do país, entre jovens e aos estratos sociais de baixa escolaridade. Entretanto, o consumo de verduras forma a base de excelência para uma alimentação saudável além de ser indispensável no dia-a-dia. Dentre as verduras de destaque encontram-se a couve-manteiga e o almeirão, que são verduras baratas, amplamente disponíveis no país e que contam com a presença de diferentes tipos de antioxidantes. Antioxidantes são compostos bioativos que possuem múltiplas propriedades, mas que se destacam pelo seu potencial de óxido-redução e por sua capacidade de competir por sítios ativos e receptores de estruturas celulares. Esses mecanismos estão descritos como sendo moduladores da resposta inflamatória, além de serem preventivos de várias condições e doenças. Incluem-se nessa classe os compostos fenólicos, que são produtos do metabolismo secundário dos vegetais e têm sua atividade devido a interação com espécies radicalares, tendo como um dos seus principais componentes os flavonoides, que são metabólitos secundários da classe dos polifenóis, tendo seu consumo relacionado a diminuição do risco de doenças coronarianas e alguns tipos de câncer. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de quatro diferentes processos de cozimento (microondas, cozimento a vapor, cozimento em água fervente e fritura a óleo), em duas verduras de grande consumo no Brasil, em relação as quantidades de ácido ascórbico, acidez, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade sequestrante de radicais livres e verificar qual melhor método de cozimento que mantenha esses compostos. Os resultados obtidos demonstram que não há uma uniformidade nas alterações dos

compostos bioativos após os cozimentos, constatando-se que diferentes cozimentos geram diferentes alterações, portanto sendo necessário que maiores estudos sejam realizados para determinar quais são os melhores cozimentos para as verduras estudadas. No presente estudo, obtiveram-se as maiores perdas de compostos fenólicos, tanto para a couve-manteiga quanto para o almeirão, no cozimento com água a 100°C, seguido, para a couve-manteiga, do cozimento a vapor. Os melhores resultados para ambas hortaliças foi o tratamento utilizando fritura a óleo seguido do cozimento utilizando micro-ondas para a couve-manteiga e cozimento a vapor para o almeirão.

Palavras-Chave: Tratamentos Térmicos; Compostos Bioativos; Couve-Manteiga; Almeirão.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1: Estrutura química básica dos flavonóides | 16 |
| Figura 2: Estrutura dos principais carotenoides presentes na alimentação..... | 17 |
| Figura 3: Folhas de couve-manteiga utilizadas para os diferentes tratamentos..... | 20 |
| Figura 4: Colorímetro Color Quest XE Hunter Lab | 21 |
| Figura 5: Painel de arroz elétrica PA10 Britania com suporte para cozimento a Vapor | 22 |
| Figura 6: Chapa aquecedora utilizada para o aquecimento da água a fervura em panela de inox | 22 |
| Figura 7: Reação de oxidação do ácido ascórbico a ácido dehidroascórbico | 25 |
| Figura 8: Extração de fenólicos totais utilizando liquidificador invertido e centrífuga para tubos | 26 |
| Figura 9: Reação de redução do DPPH• a difenil-picril-hidrazina..... | 30 |
| Figura 10: Reação de estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio..... | 31 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1: Curva padrão de ácido gálico com equação da reta..... | 27 |
| Gráfico 2: Curva padrão de quercetina com equação da reta..... | 28 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Classe de compostos fenólicos em plantas | 15 |
| Tabela 2: Resultados obtidos das análises de colorimetria para a couve-manteiga para os parâmetros L*, a* e b*, Hue e Chroma | 33 |
| Tabela 3: Resultados obtidos das análises de colorimetria para o almeirão para os parâmetros L*, a* e b*, Hue e Chroma | 33 |
| Tabela 4: Resultados obtidos de sólidos solúveis em °Brix para a couve e o almeirão..... | 34 |
| Tabela 5: Média dos teores de acidez total para os quatro diferentes tratamentos da couve-manteiga e do almeirão | 35 |
| Tabela 6: Resultado para as concentrações de Vitamina C para a couve-manteiga e almeirão nos quatro diferentes tratamentos | 36 |
| Tabela 7: Média dos teores de compostos fenólicos totais para os quatro diferentes tratamentos da couve manteiga e do almeirão..... | 37 |
| Tabela 8: Média dos teores de flavonoides totais para os quatro diferentes tratamentos da couve manteiga e do almeirão..... | 36 |
| Tabela 9: Teor de carotenoides totais das amostras de couve-manteiga e almeirão para os quatro diferentes tratamentos..... | 38 |
| Tabela 10: Porcentagem de inibição do sequestro de radicais livres DPPH para a couve e o almeirão nos quatro diferentes tratamentos..... | 38 |
| Tabela 11: Porcentagem de inibição do sequestro de radicais livres ABTS para a couve e o almeirão nos quatro diferentes tratamentos..... | 39 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| INTRODUÇÃO | 13 |
| 1. OBJETIVO | 19 |
| 2. MATERIAIS E METODOLOGIA | 20 |
| 2.1 Materiais | 20 |
| 2.2 Metodologia | 20 |
| 2.2.1 Equipamentos | 21 |
| 2.2.2 Tratamentos térmicos | 23 |
| 2.2.2.1 Cozimento com água a 100°C | 23 |
| 2.2.2.2 Vapor | 23 |
| 2.2.2.3 Micro-Ondas | 23 |
| 2.2.2.4 Fritura a Óleo | 24 |
| 2.3 Colorimetria | 24 |
| 2.3.1 Sólidos solúveis totais | 25 |
| 2.3.2 Determinação de ácido ascórbico e Acidez Titulável (AT) | 25 |
| 2.3.3 Determinação de fenólicos totais | 26 |
| 2.3.4 Determinação de flavonoides totais | 27 |
| 2.3.5 Determinação de carotenoides totais | 28 |
| 2.3.6 Avaliação da atividade sequestrante de radicais livres | 29 |
| 2.3.6.1 Extração para os métodos DPPH• e ABTS• | 29 |
| 2.3.6.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS• | 30 |
| 2.3.7 Análise estatística dos resultados | 31 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 32 |
| 3.1 Cor, Sólidos Solúveis Totais (SST), acidez total e vitamina C | 32 |
| 3.1.1 Cor | 32 |
| 3.1.2 Sólidos solúveis | 34 |
| 3.1.3 Acidez titulável | 34 |
| 3.1.4 Vitamina C | 35 |
| 3.2 Compostos fenólicos totais, flavonoides totais carotenoides totais | 36 |
| 3.2.1 compostos fenólicos | 36 |
| 3.2.2 Flavonoides totais | 36 |
| 3.2.3 Carotenoides totais | 37 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3 Radicais livres DPPH• e ABTS•..... | 38 |
| 3.3.1 DPPH | 38 |
| 3.3.2 ABTS..... | 39 |
| 4. CONCLUSÃO | 41 |
| REFERÊNCIAS..... | 42 |
| DADOS FINAIS..... | 47 |

INTRODUÇÃO

No Brasil atualmente se percebe uma mudança nos hábitos relacionados ao consumo de verduras, especialmente nas regiões Norte e Nordeste, aos jovens (incluindo criança de 6-59 meses), aos homens e aos estratos populacionais com baixa escolaridade, que estão aquém daqueles recomendados pela Organização Mundial da Saúde (BORTOLINI, *et al.*; 2012, JAIME, *et al.*, 2009).

Além disso, é notável o aumento da participação de grandes redes de supermercados (75% do total) que afetam a escolha de compra do consumidor, que passa a preferir alimentos industrializados. Além do peso do poder aquisitivo, em que a cada aumento de preço de verduras e vegetais, observa-se uma diminuição no seu interesse de compra (JACOBY, *et al.* 2006), constituindo uma séria ameaça à segurança alimentar de países em desenvolvimento (FAO, 2011).

Alimentos de origem vegetal, como as verduras, formam a base de excelência para uma alimentação e nutrição equilibradas. São alimentos facilmente incorporados em saladas, preparações quentes (cozidos, refogados, assados, gratinados, empanados, ensopados) e que possuem alta densidade de nutrientes e baixas quantidades de calorias (BRASIL, 2014).

A couve manteiga (*Brassicaoleracea*L.var.*acephala*) e o almeirão (*Chicoriumintybus*) estão entre as folhosas mais produzidas e consumidas no Brasil, tendo suas maiores demandas na região Sudeste (maior densidade demográfica), a um custo de cultivo aproximado de R\$17.000,00 por hectare (SINDICATO RURAL DE MOGI DAS CRUZES, 2014).

Considerada um vegetal “popular”, a couve manteiga, hortaliça arbustiva bienal ou anual, muito difundida na Europa, chegou ao Brasil através dos primeiros

colonizadores portugueses e se espalhou rapidamente, especialmente na culinária mineira. Sendo facilmente encontrada o ano todo, há anos vem sendo alvo de pesquisas científicas devido suas propriedades funcionais, como a presença de ferro, cálcio, fibras, vitaminas e antioxidantes, estes relacionados à redução de risco do desenvolvimento do câncer. O consumo desta hortaliça tem aumentado gradativamente devido a facilidade de consumo e também pelo conhecimento de suas propriedades nutricionais (NESTLÉ, 2014; NOVO, *et al.*, 2010).

O almeirão, de folhas lisas e de consistência macia, também conhecido como chicória amarga, é um vegetal oriundo da Europa Mediterrânea, altamente consumido no país entre as hortaliças folhosas, sendo de baixa caloria (cerca de 20 calorias em cada 100g), é considerado uma boa fonte de fósforo, ferro, cálcio, vitaminas A, C e complexo B. (HORTALIÇAS NA WEB, 2014).

Alguns constituintes relevantes atribuídos aos vegetais, como a vitamina C e os antioxidantes, são conhecidos como compostos bioativos, que podem agir de diferentes formas nos seus mecanismos fisiológicos ou de ação. A atividade antioxidante, por exemplo, deve-se ao potencial de óxido-redução de algumas moléculas, além da sua capacidade de competir por sítios ativos e receptores de estruturas celulares. Esses compostos podem, também, ativar vias de sinalização intracelulares adaptativas e atuar contra o estresse oxidativo (BASTOS, *et al.*, 2009). A dieta natural com alimentos que contenham compostos bioativos desenvolve um importante papel na modulação da resposta inflamatória no que diz respeito à prevenção, mitigação e tratamento de várias condições e doenças (PAN, *et al.*, 2009).

Os compostos fenólicos apresentam na sua estrutura anéis aromáticos e hidroxilas, que são os responsáveis pelos seus efeitos antioxidantes. São produtos

do metabolismo secundário dos vegetais e geralmente se encontram na forma livre ou complexados a açúcares e proteínas, estes compostos têm seu poder antioxidante devido à interação com as espécies radicalares e seu consumo durante a reação, o que os classifica na categoria de interruptores de radicais livres, mais eficientes na autoxidação. Os compostos resultantes das várias combinações estruturais desses compostos fenólicos são conhecidos como polifenóis e respondem a uma vasta quantidade de estruturas, como mostradas na Tabela 1, sendo que os flavonoides têm grande destaque pela sua quantidade nos vegetais e capacidade antioxidante (ANGELO, *et al.*, 2007).

Tabela 1: Classe de compostos fenólicos em plantas

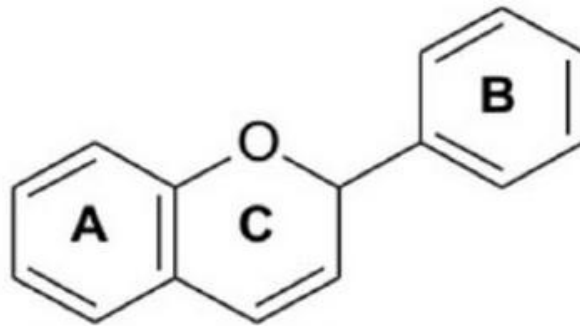
| Classe | Estrutura |
|---|-------------------|
| Fenólicos simples, benzoquinonas | C_6 |
| Ácidos hidroxibenzoicos | C_6-C_1 |
| Acetofenol, ácidos fenilacéticos | C_6-C_2 |
| Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanoides | C_6-C_3 |
| Nafitoquinonas | C_6-C_4 |
| Xantonas | $C_6-C_1-C_6$ |
| Estilbenos, antoquinonas | $C_6-C_2-C_6$ |
| Flavonoides, isoflavonoides | $C_6-C_3-C_6$ |
| Lignanas, neolignanas | $(C_6-C_3)_2$ |
| Biflavonoides | $(C_6-C_3-C_6)_2$ |
| Ligninas | $(C_6-C_3)_n$ |
| Taninos condensados | $(C_6-C_3-C_6)_n$ |

Fonte: ANGELO, *et al.*, (2007) adaptado pela Autora (2015)

Os flavonoides são um grupo de metabólitos secundários da classe dos polifenóis, que se encontram naturalmente em várias espécies vegetais. De baixo peso molecular, derivam da condensação de uma molécula de ácido cinâmico com

três grupos malonil-CoA2 (Figura 1), participando da fase de luz da fotossíntese, onde catalisam o transporte de elétrons.

Figura 1: Estrutura química básica dos flavonoides

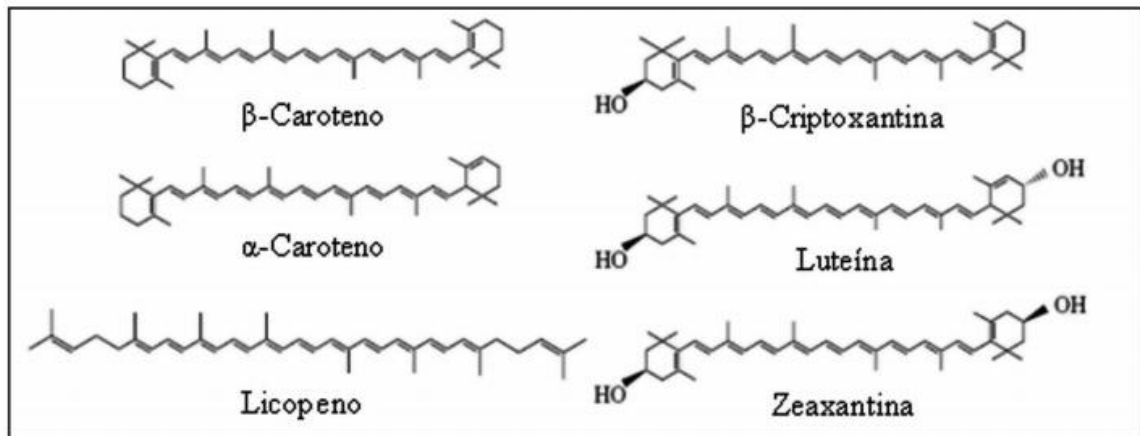


Fonte: ANGELO, *et al.*, (2007)

O consumo de alimentos que contenham esses compostos (o valor médio diário de ingestão de flavonoides estimado é de 23mg/dia) está ligado aos seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios bem como antialérgicos (INSUMOS, 2013). Estudos sugerem que uma dieta rica em flavonóis e isoflavonas diminuem o risco de desenvolvimento de doenças coronarianas e alguns tipos de câncer (HUI, 2010).

Os carotenoides, classe de pigmentos, são sintetizados por organismos fotossintetizantes, existindo em torno de 600 carotenoides na natureza (HORST; MORENO, 2009). Os humanos não são capazes de sintetizá-los, sendo as frutas e hortaliças as principais fontes, especialmente os α e β -carotenos, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina e licopeno (HORST; MORENO, 2009 *apud* ALALUF, *et al.*, 2002). Sua estrutura (Figura 2) é uma cadeia de tetraterpenoides de 40 carbonos unidos por unidades opostas no centro da molécula (UENOJO, *et al.*, 2007 *apud* FRASER, *et al.*, 2004; RODRIGUES-AMAYA, 1999).

Figura 2: Estrutura dos principais carotenoides presentes na alimentação



Fonte: (HORST; MORENO, 2009 *apud* KRINSKY; JOHNSON, 2005)

Os carotenos deslocalizam elétrons desemparelhados pela estrutura de ligações duplas conjugadas, com mecanismo de ação ainda não totalmente definido, protegendo, assim, os danos peroxidativos aos lipídios pela inativação do oxigênio singleto (SOUZA, *et al.*, 2007 *apud* VALKO, *et al.*, 2004).

Sugere-se que a ingestão de carotenoides, especialmente β-carotenos, está relacionada à inibição de certos tipos de câncer, doenças mediadas por radicais livres e, também, na resposta imune e comunicação intracelular, no que diz respeito às doenças ligadas ao envelhecimento (UENOJO, *et al.*, 2007 *apud* VARGAS-DELGADO, 2000; LEFFINGWELL, 2001).

A vitamina C, também conhecida como ácido ascórbico, é uma vitamina solúvel em água, obtida através da dieta. O ácido ascórbico é necessário como cofator de várias reações enzimáticas, bem como participa da biossíntese de colágeno, carnitina e catecolaminas, além de suas propriedades antioxidantes devido a sua capacidade redutora.

Essa vitamina tem capacidade de proteger várias moléculas do organismo humano, tais como proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos contra o efeito

dos radicais livres e das espécies reativas do oxigênio que são geradas naturalmente pelo metabolismo. (OREGON STATE UNIVERSITY, 2015).

No entanto, durante o preparo de vegetais utilizando diferentes tipos de cozimento, como o uso de micro-ondas, cozimentos a vapor, água fervente e a óleo, podem ocorrer algumas perdas dos compostos bioativos e/ou alterações de biodisponibilidade (HORST; LAJOLO, In: COZZOLINO, 2012).

Dessa forma, cabe analisar quais são as melhores formas de cozimento para as verduras, de maneira que mantenham seus compostos bioativos e propriedades nutricionais.

1. OBJETIVO

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de quatro diferentes processos de cozimento (micro-ondas, cozimento a vapor, cozimento em água fervente e fritura a óleo), em duas verduras de grande consumo no Brasil, em relação as quantidades de ácido ascórbico, acidez, compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade sequestrante de radicais livres e verificar qual melhor método de cozimento que mantenha esses compostos.

2. MATERIAIS E METODOLOGIA

2.1 Materiais

As verduras, couve-manteiga e almeirão, foram compradas na mesma época do ano (setembro/2014) em diferentes estabelecimentos do tipo “quitanda” na cidade de Araraquara–SP. As verduras são provenientes do CEAGESP local ou do CEAGESP de Ribeirão Preto – SP.

2.2 Metodologia

Couve-manteiga (Figura 3): Os talos foram retirados, as folhas foram secas, limpas e picadas. Tomou-se 200 gramas de amostra para realizar a análise em duplicata para os cozimentos com água a 100°C, vapor e óleo, e 300g para o cozimento em micro-ondas.

Figura 3: Folhas de couve-manteiga utilizadas para os diferentes tratamentos



Fonte: A Autora (2014)

Para o almeirão foi realizado o mesmo procedimento utilizado para a couve-manteiga. Entretanto foram reservados 120 gramas de folhas para cada um dos tratamentos. Os tratamentos para as duas hortaliças foram realizados em triplicata, individualmente.

2.2.1 Equipamentos

Para a medida de cor foi utilizado o colorímetro Color Quest XE Hunter Lab (Figura 4) e para análise dos resultados foi utilizado o software de computador Easy Match HQC.

Figura 4: Colorímetro Color Quest XE Hunter Lab



Fonte: A Autora (2014)

Para o cozimento a vapor foi utilizado a panela elétrica PA10 Britania (Figura 5).

Figura 5: Panela de arroz elétrica PA10 Britania com suporte para cozimento a Vapor



Fonte: A Autora (2014)

Para o cozimento em água fervente em panela de inox foi utilizada a chapa aquecedora “Agitador Magnético MacroCo” – Aquecimento – Modelo: Q261-22-220V-600W. Quimis. (Figura 6).

Figura 6: Chapa aquecedora utilizada para o aquecimento da água a fervera em panela de inox



Fonte: A Autora (2014)

Todas as análises espectrofotométricas foram realizadas no espectrofotômetro DU® 640 Spectrophotometer Beckman.

2.2.2 Tratamentos térmicos

A metodologia adotada para os tratamentos térmicos foi de elaboração própria em acordo com as especificidades das hortaliças estudadas e as condições do laboratório.

Após cada tratamento térmico as amostras foram transferidas para banho de gelo, em seguida secas em papel absorvente e acondicionadas em papel-alumínio em *freezer*.

2.2.2.1 Cozimento com água a 100°C

O volume de 250mL de água destilada foi aquecido a fervura e as hortaliças submersas por 5 minutos, tanto para a couve-manteiga quanto para o almeirão.

2.2.2.2 Vapor

Água destilada foi aquecida na panela elétrica até o início da formação de vapor quando a amostra foi colocada no suporte adequado para cozimento a vapor com duração de 10 minutos para a couve-manteiga e 5 minutos para o almeirão.

2.2.2.3 Microondas

A amostra foi colocada em um recipiente de vidro refratário com a adição de 10mL de água destilada e o tratamento foi de um minuto a potência máxima tanto para a couve-manteiga quanto para o almeirão.

2.2.2.4 Fritura a Óleo

O volume de 10mL de óleo de soja Liza® foi adicionado em uma panela e a amostra adicionada por dois minutos após o aquecimento do óleo em fogo alto tanto para a couve-manteiga quanto para o almeirão.

2.3 Colorimetria

A cromaticidade foi medida utilizando o sistema CIE (Comissão Internacional de Iluminação) através das coordenadas espaciais de cores L^* , a^* e b^* , onde L^* (luminosidade) determina a escala relacionada a percepção de escuro-claro (preto = 0, branco = 100), a^* tendo um valor negativo para verde e positivo para vermelho e, por último, b tendo um valor negativo para azul e positivo para amarelo. (AYALA-SILVA, *et al.*, 2005; MAZZEO, *et al.*, 2011).

Foi medido também os parâmetros Chroma (C) e o ângulo hue (h), sendo que (C) mede a saturação ou intensidade, que é a proporção do tom puro predominante, sendo seu valor mais alto indicativo de uma coloração vermelha brilhante. Por sua vez, (h) correlaciona-se com os valores de a^* e b^* , sendo seus valores mais baixos referentes a cores mais avermelhadas (AYALA-SILVA, *et al.*, 2005).

As medidas de cor foram realizadas em três regiões diferentes da folha, utilizando três folhas para cada tratamento.

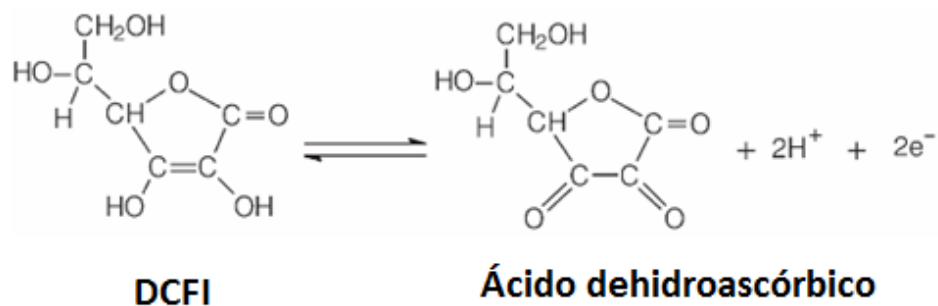
2.3.1 Sólidos solúveis totais

O teor de sólidos solúveis totais foi dado em °Brix utilizando um refratômetro de mesa. A escala Brix é calibrada pelo número de gramas de açúcar contidos em 100g de solução. As amostras foram analisadas em triplicata para cada tratamento utilizado (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008 *apud* CAVALCANTI, *et al.*, 2006).

2.3.2 Determinação de ácido ascórbico e Acidez Titulável (AT)

A determinação de ácido ascórbico foi realizada por titulação onde ocorre a redução do 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI), de coloração azul escura, em presença de ácido ascórbico, resultando no derivado ácido dehidroascórbico, de coloração rósea. (Figura 7).

Figura 7: Reação de oxidação do ácido ascórbico a ácido dehidroascórbico



Fonte: Sociedade Brasileira de Química (2003)

A determinação de ácido ascórbico foi realizada em duplicata para cada triplicata de tratamento e expressa em mg de ácido ascórbico por g de amostra (mg/g), através da fórmula $C = V \times F \times 50 / 20$, onde C = quantidade em mg de ácido ascórbico por g de amostra, V= volume titulado em mL, F= fator da solução (10xc/P;

c = concentração de ácido ascórbico, P = volume gasto de DCFI), 50 = volume total(mL) e 20 = volume alíquota (mL) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A acidez total titulável foi realizada por titulação ácido-base utilizando hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e fenolftaleína como indicador, em duplicata para cada triplicata de tratamento. Os resultados foram expressos em mg de ácido por 100g de amostra através da fórmula $NxV=m/\text{Neq.ácido}$, onde N = fator de padronização do hidróxido de sódio, V = volume gasto, m = massa pesada da amostra e Neq. ácido = massa molar do ácido usado para a padronização (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

2.3.3 Determinação de fenólicos totais

A extração foi realizada com metanol 30% em liquidificador invertido por 1 minuto seguido de agitação em *shaker* por 1 hora e 30 minutos e centrifugação a 8000 RPM por 7 minutos (Figura 9). As análises foram realizadas em duplicata para cada triplicata dos tratamentos.

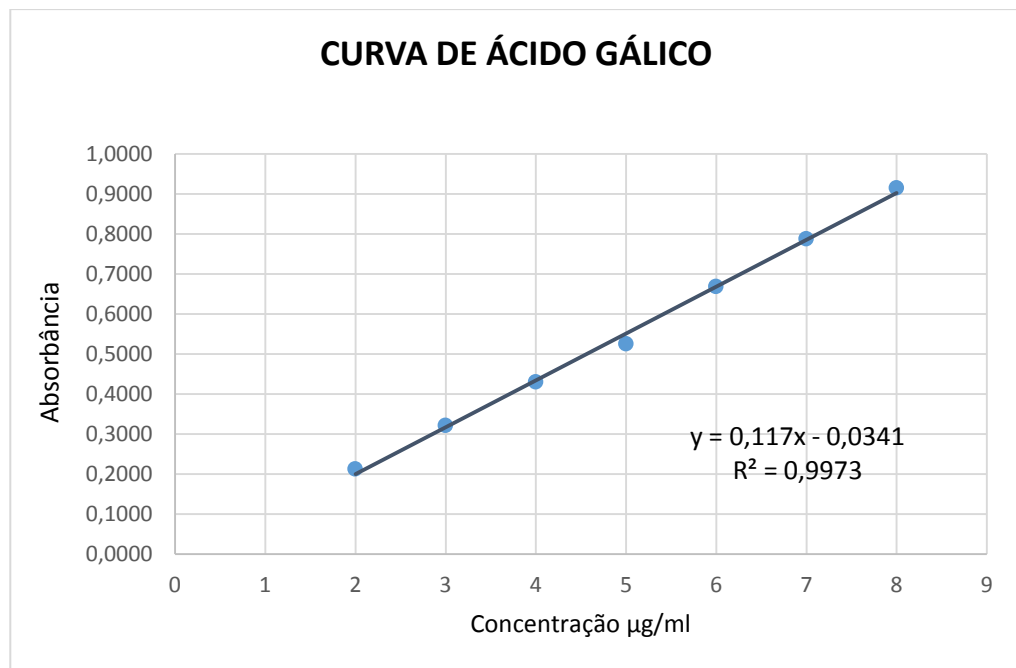
Figura 9: Extração de fenólicos totais utilizando liquidificador invertido e centrífuga para tubos



Fonte: A Autora (2015)

A quantidade de fenólicos totais foi determinada pelo método Folin-Ciocalteu, onde 0,5ml da solução de amostra é adicionado em 2,5ml de solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10% e 2ml de carbonato de sódio 7,5%, conforme metodologia de SINGLETON; ROSSI (1999). Em seguida a leitura da absorbância foi feita no comprimento de onda $\lambda = 760\text{nm}$. A quantificação se baseia na curva de calibração (Gráfico 1) do ácido gálico monohidratado (20-80 $\mu\text{g/mL}$) e os resultados expressos em μg equivalente de ácido Gálico (EAG)/ g de amostra através do uso da equação da reta $y = 0,117x - 0,0341$, onde $y = \text{absorbância}$ e $x = \text{concentração}$, $R^2 = 0,9973$.

Gráfico 1: Curva padrão de ácido gálico com equação da reta



Fonte: A Autora (2015)

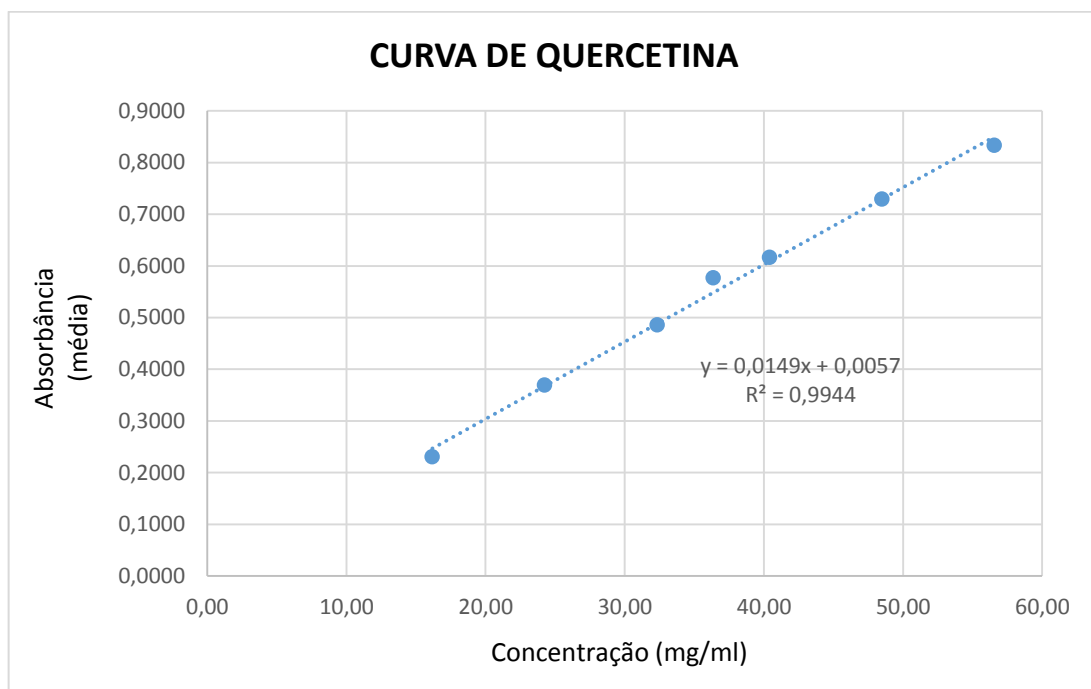
2.3.4 Determinação de flavonoides totais

A extração foi realizada com metanol 30% em liquidificador invertido por 1 minuto seguido de agitação em *shaker* por 1 hora e 30 minutos e centrifugação a

8000 RPM por 7 minutos. As análises foram realizadas em duplicata para cada triplicata dos tratamentos.

A quantidade de flavonoides totais foi determinada pelo método espectrofotométrico utilizando cloreto de alumínio, onde 1mL de amostra é adicionado em 2mL de cloreto de alumínio 10% e 2mL de metanol puro, conforme metodologia de MABRY *et al.*, (1970). Em seguida a leitura da absorbância foi feita no comprimento $\lambda = 427\text{nm}$. A quantificação utiliza a curva de calibração (Gráfico 2) da quercetina (0,2-0,8 mg/mL) e os resultados foram expressos em mg equivalente de quercetina por g de amostra através da equação da reta $y=0,0149x + 0,0057$, onde y = absorbância e x = concentração, $R^2=0,9944$.

Gráfico 2: Curva padrão de quercetina com equação da reta



Fonte: A Autora (2015)

2.3.5 Determinação de carotenoides totais

Foram pesados 3g de amostra seca e a extração foi realizada utilizando acetona pura refrigerada com o uso do vortex até completa extração dos pigmentos.

Os carotenoides foram transferidos para éter de petróleo e levados a um volume em balão volumétrico.

A leitura da absorbância da solução foi realizada em espectrofotômetro $\lambda = 450\text{nm}$, e o teor de carotenoides totais expresso em termos de β -caroteno ($A^{1\%}_{1\text{cm}}$ de 2592, em éter de petróleo), aplicando-se a Lei de Beer (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Os resultados foram expressos em μg por g de amostra ($\mu\text{g/g}$) de acordo com a fórmula $X (\mu\text{g/g}) = \{A \times V (\text{mL}) \times 1000\} / A^{1\%}_{1\text{cm}} \times m(\text{g})$, onde A = absorbância medida a 450nm, V = volume da diluição (mL) e m = peso da amostra (g).

2.3.6 Avaliação da atividade sequestrante de radicais livres

2.3.6.1 Extração para os métodos DPPH· e ABTS·

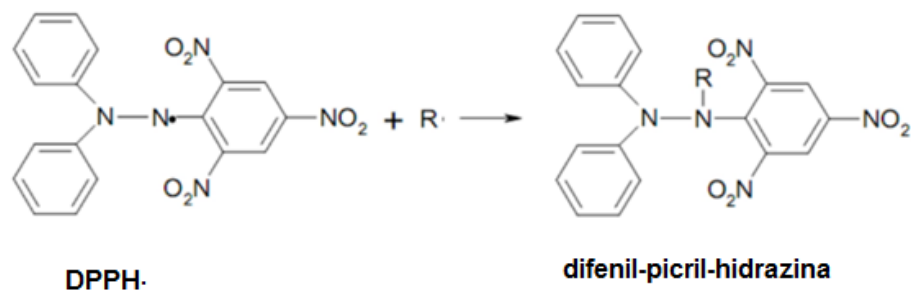
A extração foi realizada com metanol 30% em liquidificador invertido por 1 minuto seguido de agitação em *shaker* por 1 hora e 30 minutos e centrifugação a 8000 RPM por 7 minutos. As análises foram realizadas em duplicata para cada triplicata dos tratamentos e expressas em porcentagem dos antioxidantes pelos radicais livres DPPH·(1,1-difenil-2-picrilhidrazila) e ABTS·(2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) através da fórmula $\% = 100 - [(A_a - A_B) \times 100] / A_c$, onde A_a = absorbância da amostra e A_B = absorbância branco e A_c = absorbância controle.

Determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH·

O método baseia-se na transferência de elétrons (Figura 9), onde o DPPH, cor púrpura, é reduzido a difenil-picril-hidrazina, cor amarela, pela ação dos antioxidantes da solução, em que quanto maior o consumo de DPPH pela amostra,

maior é a sua atividade antioxidante. Sendo assim, quanto maior a concentração da amostra e menor porcentagem, maior o consumo de DPPH, conforme fórmula utilizada (NASCIMENTO, *et al.* (2011), *apud* RUFINO, *et al.*, (2007), SOUSA, *et al.* (2007), ALVES, *et al.*, (2007).

Figura 9: Reação de redução do DPPH· a difenil-picril-hidrazina



Fonte: SANTOS, *et al.* (2011)

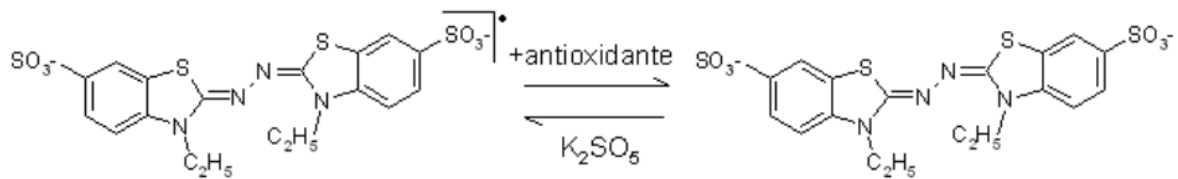
Adicionou-se 100µL da amostra e 3,9mL do radical DPPH 24µg/mL em tubos de ensaio, e assim que se adicionou o primeiro radical no primeiro tubo dá-se início ao cronômetro, aguardando 30 minutos para a leitura. A adição é feita em 3 tubos a cada 2 minutos. O branco é feito com metanol puro. É feito um controle com metanol 30% (usado como extrator para as amostras) antes de iniciar as leituras. A leitura da absorbância no espectrofotômetro é feita no comprimento $\lambda = 515\text{nm}$ (RUFINO, M. *et al.*, 2007).

2.3.6.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS-

A reação utilizando o radical ABTS é utilizada para medir a atividade antioxidante através da captura do radical pela reação entre o radical ABTS e o persulfato de potássio (Figura 10) produzindo o cromóforo azul/verde $\text{ABTS}^{\cdot+}$ (RE,

R, *et al.*, 1998), que pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática (VIGNOLI, *et al.*, 2011), podendo-se medir a atividade sequestrante de radicais livres de compostos hidrofílicos e lipofílicos (RUFINO, *et al.*, 2007 *apud* KUSKOSKI, *et al.*, 2005).

Figura 10: Reação de estabilização do radical ABTS·⁺ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio



Fonte: Rufino *et al.* (2009)

Para o preparo do radical ABTS·⁺ faz-se com antecedência a solução estoque de ABTS 7mM, na concentração de 192mg de ABTS por 50mL de água destilada, e a solução estoque de persulfato de potássio 140mM, na concentração de 378,4mg de persulfato de potássio por 10mL de água destilada, onde, então, se adiciona 5mL da solução estoque de ABTS e 88µL da solução estoque de persulfato de potássio.

Adicionou-se 33µL da amostra e 3mL do radical ABTS·⁺ em tubos de ensaio. A reação dura 6 minutos e o branco é feito com álcool etílico puro. A leitura da absorbância no espectrofotômetro é feita no comprimento de 734nm (RUFINO, *et al.*, 2007). E assim como o DPPH, quanto maior a atividade antioxidante menor a porcentagem, de acordo com a fórmula utilizada.

2.3.7 Análise estatística dos resultados

A análise estatística dos resultados foi realizada através de análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Cor, Sólidos Solúveis Totais (SST), acidez total e vitamina C

3.1.1 Cor

Um dos primeiros determinantes da qualidade de frutas e vegetais para o consumidor no momento da compra de frutas e vegetais está relacionado a apresentação e a imagem percebida do alimento, sendo a cor um dos principais atributos associados a essa aceitação, sendo a cor verde a mais característica e atrativa para as verduras verdes e frescas. (AYALA-SILVA, *et al.*, 2005).

Analisando os resultados (Tabela 2) observa-se que as cores da couve-manteiga se mostram de tonalidade e cor verde (tonalidade verde - grau Hue próximo de 180°, cor verde – a* negativo) e luminosidade escura (L* entre 30 e 40) com leves tons amarelos (b* positivo), além de alta saturação e brilho (Chroma).

Para o parâmetro L*, houve diferença significativa entre:

- Crua e os tratamentos de 100°C, VAPOR e ÓLEO;
- 100° e o tratamento MICRO;
- VAPOR e os tratamentos MICRO E ÓLEO;

Para o parâmetro a^* , apenas não houve diferença significativa entre o tratamento MICRO e ÓLEO. Para o parâmetro b^* houve diferença significativa entre a verdura CRUA e os tratamentos MICRO e ÓLEO. Para o ângulo Hue não houve diferença significativa entre os tratamentos. Para o parâmetro Chroma houve diferença significativa entre os tratamentos MICRO e ÓLEO com os demais 100°C, VAPOR e com a verdura CRUA.

Tabela 2: Resultados obtidos das análises de colorimetria para a couve-manteiga para os parâmetros L^* , a^* e b^* , Hue e Chroma.

| Couve | L^* | a^* | b^* | Hue | Chroma |
|-------|------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|
| Crua | 39,28±2 ^a | -6,60±1 ^d | 9,15±4 ^b | 179,76±0 ^a | 72,31±47 ^b |
| 100°C | 33,46± ^{b,c} | -8,40±1 ^c | 11,41±2 ^b | 179,78±0 ^a | 110,46±42 ^b |
| VAPOR | 33,05±2 ^b | -2,89±2 ^b | 10,14±3 ^b | 182,64±5 ^a | 67,52±35 ^b |
| MICRO | 38,32±2 ^{a,d} | 11,48±1 ^a | 16,50±2 ^a | 179,86±0 ^a | 194,29±52 ^a |
| ÓLEO | 35,90±2 ^{c,d} | 10,82±2 ^a | 15,43±3 ^a | 179,85±0 ^a | 236,31±59 ^a |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

O almeirão (Tabela 3) apresentou cor e tonalidade verde (tonalidade verde - ângulo Hue próximo de 180°C e cor verde – a^* negativo), luminosidade escura (luminosidade L^* - entre 38 a 50), porém menos escura que a couve-manteiga e alguma cor amarela (cor amarela – b^* positivo), mais pronunciada que a da couve-manteiga, além de alta saturação e brilho (saturação – alto valor de Chroma), também mais pronunciada que a couve-manteiga).

Para o parâmetro L^* houve diferença significativa entre a verdura CRUA e os tratamentos de 100°C, MICRO e ÓLEO; para a^* houve diferença significativa entre o tratamento VAPOR e os tratamentos MICRO e ÓLEO; para b^* , Hue e Chroma não houve diferenças significativas entre os tratamentos e a verdura crua.

Tabela 3: Resultados obtidos das análises de colorimetria para o almeirão para os parâmetros L*, a* e b*, Hue e Chroma.

| Almeirão | L* | a* | b* | Hue | Chroma |
|----------|----------------------|--------------------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| Crua | 49,58±3 ^a | (-)11,78±1 ^a | 27,99±4 ^a | 181,30±1 ^a | 529,81±114 ^a |
| 100° | 38,23±4 ^b | (-)11,81±1 ^a | 24,09±5 ^a | 180,51±0 ^a | 352,06±127 ^a |
| VAPOR | 43,16±9 ^a | (-)12,64±2 ^a | 31,09±10 ^a | 181,82±2 ^a | 665,00±278 ^a |
| MICRO | 41,05±7 ^b | (-)8,80±4 ^b | 23,73±9 ^a | 174,47±12 ^a | 385,5±379 ^a |
| ÓLEO | 40,01±5 ^b | (-)9,70±2 ^{a,b} | 21,74±7 ^a | 180,88±1 ^a | 317,78±225 ^a |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.1.2 Sólidos solúveis

Assim como a cor dos vegetais, a quantidade de sólidos solúveis totais (açúcares, ácidos orgânicos, sais, proteínas) também é um fator a ser percebido – através do sabor, pela percepção do sabor dos açúcares – e considerado no momento do consumo dos alimentos e consequente aceitação (LIMA s/d), além de influenciar nas propriedades termofísicas, químicas e biológicas das hortaliças (COSTA, *et al.*, 2004).

Os sólidos solúveis (Tabela 4) variaram de 5,22 a 5,6 °Brix para a couve, sem diferença significativa entre os tratamentos, e de 0,67 a 2 °Brix para o almeirão, com diferença significativa entre o tratamento de 100°C e os demais. Observando-se, portanto, que a couve-manteiga possui mais sólidos solúveis que o almeirão.

Tabela 4: Resultados obtidos de sólidos solúveis em °Brix para a couve e o almeirão.

| °Brix | Couve | Almeirão |
|-------|---------------------|-----------------------|
| 100° | 5,23±1 ^a | 0,67±0,2 ^a |
| VAPOR | 5,22±0 ^a | 2±0 ^b |
| MICRO | 5,6±0 ^a | 2±0 ^b |
| ÓLEO | 5,37±0 ^a | 2±0 ^b |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.1.3 Acidez titulável

A acidez é um importante atributo e parâmetro de qualidade relacionado ao sabor e ao aroma e que costuma declinar após a colheita de verduras, frutas e hortaliças, podendo ser útil, inclusive, na redução de crescimento bacteriano na hortaliça (MORETTI, 2007). A acidez total (Tabela 5) para a couve variou de 361,03 a 551,63mg/100g para 100°C e MICRO, respectivamente, sendo que a diferença entre os tratamentos só não foi significativa entre os tratamentos MICRO e ÓLEO, portanto esses tratamentos contêm os maiores valores para acidez. Para o almeirão, a acidez variou de 628,71 a 719,81 mg/100g e não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 5: Média dos teores de acidez total para os quatro diferentes tratamentos da couve-manteiga e do almeirão.

| Acidez total | Couve (mg/100g) | Almeirão (mg/100g) |
|--------------|------------------------|-------------------------|
| 100° | 361,03±69 ^c | 642,21±64 ^a |
| VAPOR | 449,88±41 ^b | 680,45±138 ^a |
| MICRO | 551,1±63 ^a | 628,71±43 ^a |
| ÓLEO | 535,36±20 ^a | 719,81±58 ^a |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.1.4 Vitamina C

A concentração de vitamina C (Tabela 6) em mg por g de amostra de couve variou de 18,26 a 58,1, sendo o menor valor para o tratamento VAPOR e o maior para o MICRO, houve diferença significativa entre o maior valor e os demais, portanto, o tratamento MICRO foi o que menor influenciou na concentração de

vitamina C. O almeirão, por sua vez, teve sua concentração de vitamina C (mg/g de amostra) variando de 2,68 a 3,28, sendo o menor valor para o tratamento 100°C e maior o ÓLEO, respectivamente. Houve diferença significativa entre o tratamento ÓLEO e o tratamento 100°C.

Tabela 6: Resultado para as concentrações de Vitamina C para a couve-manteiga e almeirão nos quatro diferentes tratamentos.

| Vitamina C | Couve (mg/g) | Almeirão(mg/g) |
|------------|------------------------|-----------------------|
| 100° | 23,32±1,5 ^b | 2,68±0,3 ^b |
| VAPOR | 18,26±2 ^b | 2,89±0,4 ^a |
| MICRO | 58,1± 12 ^a | 3,16±0,3 ^a |
| ÓLEO | 27,11±2 ^b | 3,28±0,3 ^a |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.2 Compostos fenólicos totais, flavonoides totais carotenoides totais

3.2.1 compostos fenólicos

Analisando os resultados (Tabela 7) verifica-se que a couve apresentou valores de concentração de 1212,12 a 1605,58 ($\mu\text{g/g}$) para os compostos fenólicos, sendo o menor valor o tratamento de 100°C e o maior o ÓLEO. Houve diferença significativa entre o tratamento ÓLEO e os demais. Enquanto isso, o almeirão apresentou valores de compostos fenólicos ($\mu\text{g/g}$) variando de 281, 11 (MICRO) a 1010,3 (VAPOR), havendo diferença estatística para todos os tratamentos exceto para ÓLEO e VAPOR.

Tabela 7: Média dos teores de compostos fenólicos totais para os quatro diferentes tratamentos da couve manteiga e do almeirão.

| Fenólicos Totais | Couve ($\mu\text{g/g}$) | Almeirão ($\mu\text{g/g}$) |
|------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 100°C | 1212,25 \pm 213 ^b | 507,97 \pm 40 ^c |
| VAPOR | 1239,67 \pm 167 ^b | 1010,3 \pm 36 ^a |
| MICRO | 1275,39 \pm 58 ^b | 281,11 \pm 10 ^b |
| ÓLEO | 1605,58 \pm 90 ^a | 974,08 \pm 16 ^b |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.2.2 Flavonoides totais

Para flavonoides totais (Tabela 8) (mg/g de amostra), a couve apresentou valor mínimo de 1,21 (100°C) e valor máximo de 2,67 (ÓLEO), tendo diferença significativa entre ÓLEO e os tratamentos VAPOR e MICRO. O almeirão, por sua vez, apresentou concentração (mg/g) de flavonoides totais mínima de 0,85 (100°C) e máxima de 4,77 (ÓLEO), tendo diferença significativa entre ÓLEO e os demais tratamentos.

Tabela 8: Média dos teores de flavonoides totais para os quatro diferentes tratamentos da couve manteiga e do almeirão.

| Flavonoides Totais | Couve (mg/g) | Almeirão (mg/g) |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 100°C | 1,21 ^a | 0,85 \pm 0,1 ^b |
| VAPOR | 1,38 \pm 0,2 ^b | 1,34 \pm 0,1 ^b |
| MICRO | 1,37 \pm 0,4 ^b | 0,97 \pm 0,1 ^b |
| ÓLEO | 2,67 \pm 0,4 ^a | 4,77 \pm 2 ^a |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.2.3 Carotenoides totais

Para os carotenoides totais, o menor valor obtido para a couve foi 13 μ g/g para o tratamento ÓLEO, e o maior valor foi obtido no tratamento VAPOR, com 196 μ g/g, tendo diferença significativa entre o tratamento VAPOR e os tratamentos MICRO E ÓLEO, e entre o tratamento MICRO e o ÓLEO. O almeirão obteve o menor valor de 66 μ g/g no tratamento ÓLEO e o maior de 81 μ g/g para MICRO, havendo diferença significativa entre o ÓLEO e os demais tratamentos.

Tabela 9: Teor de carotenoides totais das amostras de couve-manteiga e almeirão para os quatro diferentes tratamentos.

| Carotenoides Totais | Couve (μ g/g) | Almeirão (μ g/g) |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|
| 100°C | 184 \pm 26 ^a | 77 \pm 14 ^a |
| VAPOR | 196 \pm 19 ^a | 80 \pm 11 ^a |
| MICRO | 155 \pm 30 ^b | 81 \pm 12 ^a |
| ÓLEO | 130 \pm 24 ^c | 66 \pm 13 ^b |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.3 Radicais livres DPPH· e ABTS·

3.3.1 DPPH

A porcentagem de inibição para DPPH (Tabela 10) da couve teve seu menor valor em 76,39 (ÓLEO), portanto maior poder antioxidante, e maior valor em 85,91 (MICRO), portanto menor poder antioxidante, com diferença significativa entre o tratamento MICRO e os demais. O almeirão seguiu a mesma tendência que a couve

tendo seu menor valor em 67,05 (ÓLEO) e maior 94,39 (MICRO) não havendo diferença significativa apenas entre MICRO e 100°C.

Tabela 10: Porcentagem de inibição do sequestro de radicais livres DPPH para a couve e o almeirão nos quatro diferentes tratamentos.

| DPPH(%) | Couve | Almeirão |
|---------|----------------------|----------------------|
| 100°C | 82,02±4 ^a | 88,98±3 ^a |
| VAPOR | 80,19±3 ^b | 56,57±5 ^b |
| MICRO | 85,91±2 ^a | 94,39±3 ^a |
| ÓLEO | 76,39±2 ^b | 67,05±5 ^c |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

3.3.2 ABTS

A porcentagem de inibição para ABTS (Tabela 11) da couve teve seu menor valor em 71,09 (ÓLEO), portanto maior atividade antioxidante, e maior valor em 82,57 (100°C), não havendo diferença significativa apenas entre o tratamento VAPOR E MICRO. O almeirão teve seu menor valor em 71,0 (VAPOR), portanto maior atividade antioxidante, e maior 92,68 (MICRO) e diferenças significativas exceto para ÓLEO e 100°C.

Tabela 11: Porcentagem de inibição do sequestro de radicais livres ABTS para a couve e o almeirão nos quatro diferentes tratamentos.

| ABTS (%) | Couve | Almeirão |
|----------|----------------------|----------------------|
| 100°C | 82,57±4 ^a | 83,88±2 ^b |
| VAPOR | 79,51±2 ^b | 71,00±4 ^c |
| MICRO | 78,19±1 ^b | 92,68±1 ^a |
| ÓLEO | 71,09±3 ^c | 86,39±2 ^b |

Médias com letras minúsculas na mesma coluna em cada região, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: A Autora (2015)

Não é senso comum qual método de cozimento traz mais ou menos perdas

para os compostos bioativos uma vez que os estudos trabalham com diferentes condições de cozimento e vegetais. Há evidências de que o cozimento a vapor gera perdas nos compostos antioxidantes, de acordo com FALLER; FIALHO (2009) enquanto SINGH, *et al.*, (2015), verificou que os resultados para vapor resultaram em menos perdas quando comparado com o uso de água a 100°C. Porém, outro estudo sugere que diferentes métodos de cozimento favorecem a liberação de compostos antioxidantes e que as perdas pelos processos não são tão deletérias, e como recomendação final sugere que cozimentos utilizando aquecimentos brandos são os que mantêm as melhores condições para o aproveitamento dos compostos antioxidantes (TURKMEN, N., *et al.*, 2005), condição também sustentada por SINGH (2015), ao acrescentar que o uso de água no cozimento é quase inevitável e que utilizá-la moderadamente e a temperaturas amenas é uma forma de manutenção da composição das verduras.

Nesse presente estudo o tratamento utilizando óleo para fritura obteve os melhores resultados para a couve-manteiga e foi o segundo melhor tratamento para o almeirão, fato que se assemelhou ao estudo de SUBHUDI; BHOI (2015) utilizando os mesmos tipos de cozimento e obtendo os melhores resultados para a fritura a óleo; porém, de acordo com trabalho desenvolvido por MIGLIO, *et al.* (2008), constatou-se que a fritura proporcionou os piores resultados para os vegetais testados, entretanto, o mesmo estudo discute que para cada tipo de vegetal e verdura pode haver um melhor método de cozimento que o favoreça não podendo determinar, assim, um melhor método perante outros.

CONCLUSÃO

Através dos resultados deste trabalho, observa-se que não há uniformidade nas perdas dos compostos bioativos depois dos tratamentos, constatando-se que diferentes cozimentos geram diferentes alterações.

As maiores perdas para a couve-manteiga ocorreram no cozimento utilizando água a 100°C, seguido do cozimento utilizando vapor, enquanto que seus melhores valores foram obtidos para o cozimento utilizando fritura a óleo, seguido do tratamento com micro-ondas; enquanto que para o almeirão os tratamentos utilizando o cozimento a vapor e fritura a óleo obtiveram os melhores resultados e o tratamento com água a 100°C se repetiu como sendo o das maiores perdas.

Portanto, o melhor tratamento térmico para a couve-manteiga é o cozimento utilizando fritura a óleo seguido do cozimento no microondas; e os melhores tratamentos para o almeirão são aqueles utilizando o cozimento a vapor ou a fritura a óleo.

REFERÊNCIAS

- ABTS. Comunicado técnico online. Julho, 2007. Disponível em <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf> Acesso em 25/04/2015.
- ANGELO, P; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 66, n. 1, 2007. Disponível em <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-9855207000100001&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 16/02/2015.
- AYALA-SILVA, T, SCHNELL, R. J., MEEROW, A. W., WINTERSTEIN, M., CERVANTES, C., BROWN, J. S. Determination of color and fruit traits of half-silb families of mango (*Mangifera indica* L.). **PROC. FLA. State Hort. Soc.** 118:253-257. 2005. Disponível em <<http://fshs.org/proceedings-o/2005-vol-118/118/253-257.pdf>>. Acesso em 16/02/2015.
- BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arq.BrasEndocrinolMetab.** 2009; 53/5.
- BORTOLINI, G. A. GUBERT, M. B.; SANTOS, L. M. P. Food consumption Brazilian children by 6 to 59 months of age. **Cad.SaúdePública**, Rio de Janeiro , v. 28, n. 9, Sept. 2012. Disponível em <http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2012000900014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 13/10/2014.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014. **Guia alimentar para a população brasileira**. Disponível em <http://www.foodpolitics.com/wp-content/uploads/Brazil-Dietary-Guidelines_2014.pdf>. Acesso em 13/10/2014
- CAVALCANTI, A. L.; KOLIVEIRA, K. F. , PAIVA, P. S.; DIAS, M. V. R.; COSTA, S. K. P.; VIEIRA, F, F. Determinação dos sólidos solúveis Totais (°Brix) e pH em bebidas lácteas e sucos de frutas industrializados. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, vol. 6, núm. 1, janeiro-abril, 2006, pp. 57-64. Disponível em <<http://www.redalyc.org/pdf/637/63760110.pdf>>. Acesso em 13/10/2014
- COSTA, W. S., FILHO, J. S., MATA, M. E. R. M. C., QUEIROZ, A. J. M. Influência da concentração de sólidos solúveis totais no sinal fotoacústico de polpa de manga. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, n.2, p.141-147, 2004. Disponível em: <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev62/Art625.pdf>>. Acesso em 02/05/2015
- CNPAT. **Comunicado Técnico online n° 128**. Disponível em <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf>. Acesso em 17/02/2015 16:00.
- COZZOLINO, F. **Biodisponibilidade de Nutrientes** – 4ª edição atualizada e ampliada. Capítulo 35, pg. 697.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

Hortalças na Web. Disponível em <<http://www.cnph.embrapa.br/hortalicasnaweb/almeirao.html>>. Acesso em 13/10/2014 14:43.

FALLER, A. L. K e FIALHO, E. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking.

FoodResearchInternational. Volume 42, Issue 11, Janeiro de 2009, pg 210-215. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996908002111>. Acesso em 20/02/2015.

FAO. Food and Agriculture Organization. **Notícias.** Disponível em

<<https://www.fao.org.br/DMA2011a.asp>>. Acesso em 13/10/2014 15:00

HUI, Y.H., **HANDBOOK OF FRUIT AND VEGETABLE FLAVORS.** 2010. Wiley. Disponível em Google books. Acesso em 13/02/2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Primeira edição digital.

INSUMOS. Os flavonoides na prevenção da oxidação de alimentos. **ADITIVOS & INGREDIENTES.** Disponível em <http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/576.pdf>. Acesso em 13/02/2015 16:00

JACOBY, E.; KELLER, I. LA PROMOCIÓN DEL CONSUMO DE FRUTAS Y VERDURAS EN AMÉRICA LATINA: BUENA OPORTUNIDAD DE ACCIÓN INTERSECTORIAL POR UNA ALIMENTACIÓN SALUDABLE. **Rev. chil. nutr.**, Santiago, v. 33, supl. 1, oct. 2006. Disponível em

<http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182006000300003&lng=es&nrm=iso> . Acesso em 13/10/2014.

JAIME, P. C.; FIGUEIREDO, I. C. R. ; DE MOURA, E.; MALTA, D. C. Fatores associados ao consumo de frutas e hortaliças no Brasil, 2006. **Revista Saúde Pública**, 2009; 43 (Supl2): 57-64. Disponível em < www.revistas.usp.br/rsp/article/download/32707/35143> . Acesso em 13/10/2014.

LIMA, M. A. C. **Agência de Informação Embrapa.** Disponível em

<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia22/AG01/arvore/AG01_147_24112005115227.html>. Acesso em 17/02/2015 16:00.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S.. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, 2008. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500051&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 13/02/2015.

MAZZEO, T., N'DRI, D., CHIAVARO, E., VISCONTI, A., FOGLIANO, V., PELLEGRINI, N. (2011). Effect of two cooking procedures on procedures on phytochemical compounds, total antioxidant capacity and colour of selected frozen

vegetables. **Food Chemistry**, Volume 128, Issue 3, Pages 627-633.
DOI:10.1016/j.foodchem.2011.03.070

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; SANTANA, A. P. M. Antioxidant capacity of vegetables submitted to thermal treatment. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = **J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP, v. 34, n. 1, p. 85-95, abr. 2009.

MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B.; Systematic identification of flavonoids. **Springer-Verlag**; New York, USA; 354 pp., 1970.

MIGLIO, C., CHIAVARO, E., VISCONTI, A., FOGLIANO, V., PELLEGRINI, N.; Effects of Different Cooking Methods on Nutritional and Physicochemical Characteristics of Selected Vegetables. **J. Agric. FoodChem.** 2008, 56, 139–147. Disponível em <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf072304b>>. Acesso em 20/02/2015.

MORETTI, C. L. Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Embrapa Hortaliças**, (2007). 531 p. ISBN 978-85-7333-431-9. Disponível em <[http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/36FCA506BEFF1EBC8325735B0069D07D/\\$File/NT00036102.pdf](http://201.2.114.147/bds/bds.nsf/36FCA506BEFF1EBC8325735B0069D07D/$File/NT00036102.pdf)>. Acesso em 02/05/2015.

NASCIMENTO, J. C., LAGE, L. F. O., CAMARGOS, C. R. D., AMARAL, J. C., COSTA, L. M., SOUSA, A. N., OLIVEIRA, F. Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da Bauhiniavariegata. **Rev. Bras. Farm.** 92(4): 327-332. (2011).

NESTLÉ. **Enciclopédia de Nutrição**. Disponível em: <<https://www.nestle.com.br/site/cozinha/enciclopedia/ingredientes/couve/nas-compras.aspx>>. Acesso em: 13/10/2014 14:34

NOVO, M. C. S. S. et al . Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Hortic. Bras., Brasília** , v. 28, n. 3, Sept. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362010000300014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 16/02/2015.

NOVO MCSS; PRELA-PANTANO A; TRANI PE; BLAT SF. 2010. Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Horticultura Brasileira** 28: 321-325.

OREGON STATE UNIVERSITY. LINUS PAULING INSTITUTE. **MICRONUTRIENT INFORMATION CENTER**. Disponível em <<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminC/index.html#function>>. Acesso em 15/02/2015.

AN, MIN-HSIUNG; LAI, CHING-SHU; DUSHENKOV, S; HO, CHI-TANG. Modulation of Inflammatory Genes by Natural Dietary Bioactive Compounds. **J. Agric. FoodChem.** 2009, 57, 4467–4477. Disponível em <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf900612n>>. Acesso em 13/02/2015.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying in improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, Vol. 26, Nos. 9/10, pp. 1231–1237, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **A guide for carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: International Life Sciences Institute Press, 1999, 59p.

RUFINO, M. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., DE MORAIS, S. M., SAMPAIO, C. G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre. 2007. Disponível em <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf> Acesso em 15/02/2015.

SANTOS, S. N.; CASTANHA, R. F.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; SCRAMIM, S.; MELO, I. S. Comunicado 50: Determinação quantitativa da atividade antioxidante de extratos brutos de microrganismos pelo método de captura de radical livre DPPH como o Brasil. 2011. Disponível em <http://www.cnpma.embrapa.br/download/comunicado_50.pdf> Acesso em 15/02/2015.

SIKORA, E; BODZIARCZYK, I. Composition and antioxidant activity of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) raw and cooked. **Acta Sci Pol Technol Aliment**. 2012 Jul-Sep;11(3):239-48. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22744944>> Acesso em 15/02/2015.

SINDICATO RURAL DE MOGI DAS CRUZES. **Informativos**. Disponível em <<http://www.sindicatroruralmc.com.br/artigos/brasil-destaque-na-producao-folhosas.html>>. Acesso em 13/10/2014 14:41

SINGH, S., SWAIN, S., SINGH, D.S., SALIM, K. M., NAYAK, D., ROY, S. D. Changes in phytochemicals, anti-nutrients and antioxidant activity in leafy vegetables by microwave boiling with normal and 5% NaCl solution. **Food Chemistry**. Volume 176, 1 June 2015, Pages 244–253.

SINGLETO, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, San Diego, v. 299, p. 152-178.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. **Química Nova Interativa**, 2003. Disponível em <<http://qnint.s bq.org.br/novo/index.php?hash=tema.11>>. Acesso em 17/02/2015.

SOUZA, C. M. de M., SILVA, H. R., VIEIRA-JR, G. M., AYRES, M. C. C., COSTA, C. L. S., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S., ARAÚJO, P. B. M., BRANDÃO, M. S., CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quím.Nova** vol.30 no.2 São Paulo Mar./ABr. 2007.

SUBHUDI, B. B., BHOI, A., Antioxidative effects of *Brassica juncea* and *Moringa oleifera* prepared by different processing methods. **J Food Sci Technol**. 2014 Apr;51(4):790-4.

TURKMEN, N., SARI, F., VELIOGLU, Y. S.; the effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. **Food Chemistry**. Volume 93, Issue 4. Dezembro 2005. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605000531>>. Acesso em 20/02/2015.

VIGNOLI, J. A., BASSOLI, D. G., BENASSI, M. T., Atividade antioxidante de cafés torrado e solúvel: padronização e validação de métodos. **Coffee Science**, Lavras, v. 7, n. 1, p. 68-75, 2012.

DADOS FINAIS

De acordo,

Aluna: Isabella Canton Grillo

De acordo,

Profª Orientadora Célia Maria de Sylos

Araraquara, 25 de Maio de 2015.