

Validação de critérios para controle de perdas de vitamina C em hortaliças preparadas em unidade de alimentação e nutrição hospitalar

Validation of criteria to control loss of vitamin C in vegetables prepared in a hospital food service unit

Ceres Mattos DELLA LUCIA^{1*}, Flávia Milagres CAMPOS¹,
Daniela da Silva OLIVEIRA¹, Helena Maria PINHEIRO-SANT'ANA¹

Resumo

Este estudo teve como objetivo validar critérios testados em laboratório, visando à preservação de vitamina C (Ácido Ascórbico (AA) e Ácido Desidroascórbico (DHA) em couve e tomate preparados em Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) hospitalar. Os critérios foram: armazenamento por 24 horas sob refrigeração (10 °C), sanitização por 15 minutos e distribuição logo após o preparo. Avaliou-se também o conteúdo e a retenção de vitamina C após diferentes tempos de exposição para consumo, rotineiramente utilizados pela UAN. As análises foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando como fase móvel fosfato de sódio 1 mM, EDTA 1mM, diluídos em água ultrapura, pH 3,0 ajustado com ácido fosfórico. A ANOVA ($\alpha = 0,05$) foi utilizada para análise dos dados. Não houve diferenças significativas quanto ao conteúdo de vitamina C após as etapas de manipulação das hortaliças, confirmando alta estabilidade da vitamina quanto aos critérios adotados. Entretanto, observou-se redução da retenção de AA em couve aos 60 minutos de exposição para consumo (retenção: 46,94%) e em tomate aos 120 minutos de exposição (retenção: 71,81%). Os critérios mostraram-se eficientes no controle de perdas de vitamina C, recomendando-se sua adoção em outras UAN.

Palavras-chave: ácido ascórbico; ácido desidroascórbico; tomate; couve; UAN hospitalar.

Abstract

This study aimed to validate laboratory tested criteria to preserve vitamin C (Ascorbic Acid (AA) and Dehydroascorbic Acid (DHA)) in collard and tomato prepared in a Hospital Food Service (HFS). The criteria were: 24 hour-storage under refrigeration (10 °C), cleansing for 15 minutes, and distribution right after preparation. The consume exposure times, frequently used by the HFS, were also analyzed. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was the analysis method employed, using as mobile phase sodium phosphate 1 mM, EDTA 1 mM, all diluted in ultra pure water, and pH 3.0 adjusted with phosphoric acid. ANOVA ($\alpha = 0.05$) was used to data analysis. No significant differences were found as to the content of vitamin C after the steps of vegetables handling showing high vitamin stability with the adopted criteria. However, a reduction of AA retention was observed in collard after 60 minutes of exposure to consumption (retention: 46.94%) and in tomato after 120 minutes of exposure (retention: 71.81%). The criteria contributed to control vitamin C loss in vegetables; therefore, their implementation is suggested to be applied in other HFS.

Keywords: ascorbic acid; dehydroascorbic acid; tomato; collard; hospital food service.

1 Introdução

As hortaliças são bastante consumidas no Brasil e no mundo e podem fornecer quantidades apreciáveis de vitaminas, compostos que participam na regulação de funções fisiológicas de grande importância para o organismo. Entretanto, o valor nutricional desses alimentos pode ser reduzido durante as várias etapas a que são submetidos desde a colheita até a ingestão pelo consumidor (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

A vitamina C é um nutriente de destaque devido a sua grande importância em nutrição. Essa vitamina é representada por 2 componentes que possuem atividade biológica: o Ácido Ascórbico (AA), principal componente e o Ácido Desidroascórbico (DHA). Há poucas décadas, o DHA era tido como um produto da oxidação do AA e não como uma molécula com sua importância química e características biológicas. Embora ambas as moléculas tenham atividade antiescorbútica quando ingeridas

oralmente, o DHA possui outras propriedades que o distinguem do AA. Por exemplo: o DHA é mais reativo e menos instável em solução que o AA. Além disso, o DHA pode ser reduzido a AA ou rapidamente hidrolisado e oxidado, funcionando tanto como um agente oxidante quanto redutor (DEUTSCH, 2000).

A vitamina C é necessária para a prevenção do escorbuto e manutenção da saúde da pele, mucosas e vasos sanguíneos. Essa vitamina é também conhecida por possuir diversas atividades biológicas, como a formação de colágeno, absorção de ferro inorgânico, redução dos níveis de colesterol plasmático, inibição da formação de nitrosaminas, melhora do sistema imune e reação com o oxigênio e outros radicais livres. Como um antioxidante, a vitamina C reduz o risco de arteriosclerose, doenças cardiovasculares e ainda algumas formas de câncer (LEE; KADER, 2000).

Recebido para publicação em 16/6/2007

Aceito para publicação em 8/5/2008 (002557)

¹ Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Av. P.H. Rolfs, s/n, CEP 36570-000, Campus Universitário, Viçosa - MG, Brasil,

E-mail: ceresnut@yahoo.com.br

*A quem a correspondência deve ser enviada

Nos últimos anos tem havido uma maior preocupação, por parte dos consumidores, em relação à qualidade nutricional dos alimentos. No caso da vitamina C, existe um interesse tanto dos consumidores quanto dos fabricantes de alimentos, uma vez que esse nutriente é um dos mais sensíveis às condições de processamento e de armazenagem, e a sua degradação está relacionada com diversos fatores, tais como oxigênio, pH, luz, temperatura e conteúdo de umidade ou atividade de água (GABAS; TELIS-ROMERO; MENEGALLI, 2003).

O Brasil, apesar de rico em frutas e hortaliças, caracteriza-se pela grande desigualdade social e econômica, o que poderia explicar a ocorrência da deficiência de vitamina C, devido à dificuldade de acesso a alimentos de qualidade (COSTA, 2001).

Embora as hortaliças, em geral, forneçam quantidades menores de vitamina C do que as frutas, destacam-se por causa do seu amplo consumo, o que as coloca como alimentos fonte da vitamina (LEE; KADER, 2000).

As etapas de pré-preparo dos alimentos podem levar a perdas variáveis de vitaminas, dependendo, principalmente, do tempo de manipulação. Quanto maior for este tempo, maior será o contato do alimento com condições de degradação, como calor, oxigênio e luz, podendo ocorrer oxidação e degradação das vitaminas. Além disso, a perda de vitaminas hidrossolúveis também pode se dar por lixiviação durante etapas de higienização dos alimentos, devido ao contato direto com a água. A higienização de vegetais em água corrente pode resultar em perdas, e estas são aumentadas se estes são deixados de molho por longos períodos de tempo. As perdas também podem ocorrer durante o preparo, devido à ação do calor. Em vista disso, é importante um controle eficiente do tempo e temperatura de cocção (RODRIGUES, 2005).

A utilização de boas práticas de manipulação no controle de perdas do valor nutricional é de grande utilidade. Entretanto, é necessário estabelecer quais medidas podem ser tomadas para controlar a perda de vitaminas, sem ferir os critérios já estabelecidos para garantir a qualidade microbiológica. A aplicação dessas medidas de controle não permite excluir por completo a perda de vitaminas dos alimentos, mas auxilia na manutenção desse controle, padronizando as etapas de manipulação. Conhecendo a extensão das perdas, é possível planejar cardápios que se complementem de forma a atingir a recomendação de vitaminas (CAMPOS, 2006).

O objetivo deste estudo foi validar critérios, testados em escala experimental, visando o controle de perdas de vitamina C em hortaliças preparadas em uma UAN hospitalar, por meio da avaliação do conteúdo desse nutriente antes e após condições padronizadas de estocagem, preparo e distribuição. Pretendeu-se, ainda, propor a adoção desses critérios para minimizar perdas de vitaminas em hortaliças, de modo geral, utilizando as perdas de vitamina C como indicador.

2 Material e métodos

2.1 Material

Foram utilizados couve (*Brassica oleracea*, var. *manteiga*) e tomate (*Lycopersicon esculentum*, var. *santa cruz*) preparados

em uma UAN hospitalar. As amostras foram transportadas até o Laboratório de Análise de Vitaminas da Universidade Federal de Viçosa, embaladas em sacos plásticos, acondicionadas em isopor com gelo.

2.2 Equipamentos

Para a preparação das amostras, foram utilizados os seguintes equipamentos: microtritador, modelo MA 102, Marconi; bomba de vácuo, modelo CA Fanem; e centrífuga Excelsa Baby II, com cruzeta angular 4 x 100 mL, modelo 206-R, Fanem. Para determinação do teor de sólidos solúveis totais, foi utilizado um refratômetro LEICA, modelo AR-200 DIGITAL. A fase móvel foi degaseificada em vibrador ultrassônico Odontobrás, T-14. Para a medição do pH da fase móvel, foi utilizado pHmetro UB -10, Hexis.

As condições cromatográficas utilizadas, de acordo com Campos (2006), foram: cromatógrafo líquido de alta eficiência, Shimadzu, munido de bomba de alta pressão, modelo LC-10AT VP; injetor automático com *loop* de 50 µL, modelo SIL-10AF; detector de arranjo de diodos UV-Visível modelo SPD-M10A; software *Multi System* modelo Class VP 6.12, para controle de até 4 sistemas; coluna Merck Lichospher 100 RP-18, 250 x 4 mm; fase móvel composta de 1 mM de NaH₂PO₄ e 1 mM de EDTA, em pH 3 ajustado com H³PO₄; fluxo 1 mL/minuto; tempo de corrida de 6 minutos. Os cromatogramas foram obtidos a 245 nm.

2.3 Reagentes e outros materiais

Para preparo das amostras, foram utilizados os seguintes reagentes com grau de pureza para análise (p.a.): ácido metafosfórico da Proquimius; ácido acético da Vetec, grau HPLC; ácido sulfúrico 90% da Mallinckroat Chemicals, USA, EDTA; e água ultrapura Milli Q[®]. Para a filtração das amostras, foram usados papel de filtro livre de cinzas, Quanta, 9 cm de diâmetro; seringas descartáveis esterilizadas de 5 mL, da Plastipack 25 x 7, parede fina 22G1; unidades filtrantes HV Millex, em polietileno, 0,45 µm de porosidade da Millipore, Brasil. Para preparação das fases móveis, foram utilizados o fosfato de sódio monobásico anidro da Synth, ácido fosfórico da Proquimius, EDTA e água ultrapura Milli Q[®].

2.4 Métodos

UAN colaboradora e experimentos realizados

Participou do estudo uma UAN hospitalar de médio porte, situada na cidade de Viçosa, MG. A rotina de manipulação das hortaliças foi analisada e registrada através de formulários previamente estabelecidos (Tabela 1).

O estudo foi dividido em dois experimentos:

- Experimento 1 - nesta fase, foram testados, em conjunto, os efeitos do armazenamento por 24 horas em temperatura de refrigeração, seguido por imersão em solução sanitizante por 15 minutos. Amostras representativas de cada hortaliça foram coletadas, na própria UAN, na forma

Tabela 1. Condições de transporte, recepção, armazenamento, preparo e distribuição de hortaliças na UAN hospitalar.

Etapas	Hortaliças	
	Couve	Tomate
Transporte	A UAN conta com dois fornecedores, um rural e outro local. O produtor rural realiza o transporte em caminhonete aberta, e o local, em motocicleta. Geralmente a hortaliça é colhida cerca 14 horas antes da entrega (produtor rural).	A UAN conta com um fornecedor local. O transporte é realizado em motocicleta.
Recepção	Quando servida no jantar, a recepção ocorre no mesmo dia do preparo. Quando servidas no almoço, a recepção geralmente ocorre no dia anterior.	Quando maduro e servido no jantar, a recepção ocorre no mesmo dia do preparo. Quando servido no almoço, a recepção ocorre no dia anterior.
Armazenamento	Acondicionamento em geladeira (em torno de 10 °C) em sacos plásticos da própria instituição até o momento do pré-preparo.	Tomates verdes: armazenamento em sacos plásticos do fornecedor na área de estocagem seca até maturação. Tomates maduros: acondicionamento em geladeira (em torno de 10 °C) em sacos plásticos próprios da instituição até o momento do pré-preparo.
Higienização e Pré-preparo	As folhas são lavadas individualmente em água corrente. As partes inaproveitáveis são retiradas manualmente. A sanitização ocorre em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm (marca desconhecida), durante cerca de 15-20 minutos.	Os tomates são lavados individualmente em água corrente. A sanitização ocorre em solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm (marca desconhecida), durante cerca de 15-25 minutos.
Preparo	Fatiada com faca, no setor de pré-preparo de vegetais. Armazenada novamente em geladeira (em torno de 10 °C) por aproximadamente 2 horas até o início da distribuição.	Cortados em cubinhos, com um picador manual de vegetais. Também são servidos fatiados em rodelas, com o auxílio de uma faca. Armazenado novamente em geladeira (em torno de 10 °C) por cerca de 2 horas até o início da distribuição.
Distribuição	Quando refogada, a diferença entre o primeiro tempo de espera e o último (quando o último paciente recebe a refeição) é de aproximadamente 1 hora.	A diferença entre o primeiro tempo de espera (quando o tomate retorna à geladeira, após ser preparado) e o último (quando o último paciente recebe a refeição) é de aproximadamente 2 horas.

inteira, armazenadas em sacos plásticos, identificadas e acondicionadas em isopor com gelo para transporte até o laboratório, que levou, em média, 15 minutos.

- Experimento 2 - nesta fase, foram analisados, em conjunto, os efeitos das condições de sanitização por 15 minutos e distribuição imediatamente após o preparo.

As amostras obtidas após a sanitização foram coletadas na forma inteira, e aquelas coletadas imediatamente após o preparo estavam fatiadas (tomate: cubos ou fatias; couve: rasgada ou fatiada).

Esses foram os critérios utilizados (selecionados após testes em escala laboratorial, em condições controladas) para controle de perdas da vitamina C. Entretanto, para avaliar se os tempos reais de distribuição utilizados pela UAN acarretariam perdas significativamente maiores quando comparados aos critérios adotados, coletou-se o tomate, que não sofreu tratamento térmico, com 60 e 120 minutos de espera até a distribuição e a couve refogada, 30 e 60 minutos após o preparo. Como a frequência de couve no cardápio era reduzida, somente a couve refogada teve suas concentrações da vitamina avaliadas.

As amostras foram coletadas aleatoriamente, no momento da recepção ou após cada etapa de manipulação, buscando-se escolher hortaliças que possuíssem características que fossem representativas das demais, em relação ao estágio de maturação. As amostras também foram armazenadas em sacos plásticos, identificadas e acondicionadas em isopor com gelo para transporte até o laboratório, que levou, em média, 15 minutos.

O experimento foi realizado em diferentes dias, sempre respeitando a frequência das hortaliças no cardápio da UAN.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (Controle, Armazenamento e Sanitização) e três repetições para cada hortaliça, na Fase 1 e cinco tratamentos (Controle, Armazenamento/Sanitização, Tempo 0, Tempo 1 e Tempo 2) e três repetições para cada hortaliça, na Fase 2.

2.5 Extração e análise de vitamina C

Com exceção das determinações de sólidos, todas as análises químicas foram realizadas com as luzes apagadas, tomando-se o cuidado de proteger os pigmentos da luz, usando papel alumínio para cobrir as vidrarias, frascos de vidro âmbar e cortinas do tipo *black-out*.

As condições para extração e análise da vitamina C foram baseadas em metodologia otimizada no mesmo laboratório (CAMPOS, 2006): foram pesados cerca de 5 g de tomate e 3 g de couve; a seguir, foram adicionados à amostra em torno de 15 mL de solução contendo 3% de ácido metafosfórico, 8% de ácido acético, 0,3 N de ácido sulfúrico e 1 mM de EDTA, sendo a amostra triturada em microtriturador por 5 minutos. O material foi então filtrado a vácuo em funil de büchner, utilizando-se papel de filtro e diluído para um volume de 25 mL com água ultrapura. Posteriormente, a amostra foi centrifugada a uma velocidade de 4000 rpm durante 15 minutos e acondicionada em geladeira (em torno de 10 °C) até o momento da análise por CLAE. Antes da injeção, o material foi novamente filtrado utilizando-se unidades filtrantes.

A conversão do DHA a AA foi realizada conforme metodologia proposta por Campos, 2006. Foi adicionado 1 mL de tampão Trizma 0,5 M (pH 9,0) contendo 40 mM de DTT a 1 mL do extrato de tomate e couve crua. Para a couve refogada, foi utilizado 1,5 mL de tampão. A adição de tampão ao extrato elevou o pH para próximo à neutralidade (pH 6,0). A reação ocorreu em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, durante 10 minutos. Depois de transcorrido esse tempo, foi adicionado 0,5 mL de ácido sulfúrico (H^2SO^4) 0,4 M nas amostras de tomate e 1 mL de H^2SO^4 0,4 M nas amostras de couve refogada, para reduzir novamente o pH antes da injeção cromatográfica.

2.6 Determinação de sólidos totais

Para determinação de sólidos totais da couve, foi utilizado o procedimento descrito por Silva (1981), com modificações. As amostras foram pesadas (cerca de 10 g) em balança analítica. Em seguida, foram secas em Placas de Petri (previamente secas em estufa a 105 °C por 4 horas, resfriadas em dessecador e pesadas) em estufa com circulação forçada de ar a 105 °C por 2 horas. Em seguida, foram resfriadas em dessecador e pesadas.

2.7 Determinação de sólidos solúveis

Foram determinados os teores de sólidos solúveis totais do tomate empregando-se refratômetro digital. A amostra de tomate foi esmagada manualmente e cerca de duas gotas foram transferidas para o refratômetro. Os resultados foram expressos em graus Brix.

2.8 Preparo da curva-padrão, identificação e quantificação de ácido ascórbico

Para construção da curva-padrão de AA, após a quantificação em espectrofotômetro, foram injetados na coluna cromatográfica 5, 20 e 50 μ L de uma solução de AA 50 μ L.mL⁻¹. Os valores obtidos foram plotados em gráfico.

A identificação da vitamina nas amostras de hortaliças foi feita comparando-se os tempos de retenção obtidos para os padrões e para as amostras, analisados sob as mesmas condições. Além disso, foram comparados os espectros de absorção do padrão e dos picos de interesse nas amostras, utilizando o detector de arranjos de diodos.

2.9 Testes de recuperação

Testes de recuperação de AA foram realizados pela adição de padrão às amostras de tomate, couve crua e couve refogada na proporção de cerca de 50% do conteúdo médio original das amostras. Foram realizadas duas repetições para cada hortaliça. As porcentagens de recuperação foram obtidas a partir da diferença percentual entre os teores iniciais analisados e os adicionados às amostras previamente homogeneizadas.

2.10 Cálculos

O conteúdo de DHA foi calculado por diferença entre o conteúdo de vitamina C total (após conversão do DHA) e o conteúdo de AA inicial.

As porcentagens de retenção de AA, DHA e vitamina C total foram calculadas de acordo com a equação: $100 - [(contéudo\ inicial - contéudo\ final) / contéudo\ inicial \times 100]$, em que o conteúdo inicial corresponde à amostra controle (antes de qualquer manipulação) e conteúdo final, às amostras após cada uma das etapas de manipulação.

Para que pudessem ser realizadas comparações entre as quantidades reais de vitamina C na couve crua e refogada, as porcentagens de retenção real de vitamina C foram calculadas de acordo com a técnica proposta por Murphy et al. (1975), citado por De Sá e Rodriguez-Amaya (2004), utilizando a Equação 1:

$$\%RR = \frac{\text{conteúdo do nutriente por grama de alimento cozido} \times \text{peso em grammas do alimento cozido}}{\text{conteúdo do nutriente por grama de alimento cru} \times \text{peso em grammas do alimento cru}} \times 100 \quad (1)$$

onde: RR = retenção real.

3 Resultados e discussão

3.1 Procedimentos operacionais utilizados pela UAN

A partir das observações do processo de produção das hortaliças estudadas, evidenciou-se a presença de condições que provavelmente estariam contribuindo para a perda de vitamina C, como transporte inadequado das hortaliças até a UAN, realizado em caminhonete aberta ou motocicleta; manutenção das hortaliças em temperatura ambiente após o preparo; falhas durante o processo de sanitização, uma vez que as hortaliças não ficavam completamente submersas na solução e esta era de marca desconhecida, obtida no almoxarifado do hospital, era distribuída aos demais setores e não possuía rótulo; e o grande intervalo de tempo entre o preparo e a distribuição (Tabela 1).

3.2 Teores de sólidos totais em couve

Os valores de sólidos totais em couve crua variaram de 1,03 a 1,41%. Nas amostras de couve refogada, tais valores variaram de 1,98 a 2,66%, sendo encontrada diferença estatisticamente significativa entre os teores de sólidos totais das amostras cruas e daquelas submetidas à cocção ($p < 0,05$). A couve refogada perde água e absorve óleo, contribuindo para o aumento de sólidos totais após o processo.

3.3 Teores de sólidos solúveis em tomate

A quantificação de sólidos solúveis teve como objetivo caracterizar as amostras de tomate, proporcionando maior homogeneidade entre elas, uma vez que o teor de sólidos solúveis na hortaliça está diretamente relacionado ao seu grau de maturação. Assim, valores semelhantes indicam que as amostras encontram-se em estágios semelhantes do processo de maturação e, portanto, com menor interferência quanto ao conteúdo vitamínico, quando avaliadas as mesmas etapas do processamento, em diferentes repetições. Os sólidos solúveis, registrados sob a forma de graus Brix, estiveram entre 2,82 e 4,47, não sendo encontrada diferença estatisticamente significativa entre as amostras ($p > 0,05$), o que

assegurou a utilização da hortaliça em condições similares de maturação em todas as repetições.

3.4 Análises qualitativas

O perfil cromatográfico obtido para vitamina C mostra uma eficiente separação, indicando que a quantificação do teor das vitaminas foi realizada de forma confiável (Figura 1).

3.5 Recuperação do padrão vitamínico

A recuperação média de AA foi de 95,64% (couve refogada), 96% (couve crua) e 85,22% (tomate). Tais resultados revelam uma excelente taxa de recuperação, o que demonstra que as condições de extração e análise de vitamina C nas amostras estão adequadas. Rizzolo et al. (2002) encontraram resultados inferiores nas taxas de recuperação de AA em pêra. A porcentagem de recuperação variou de 60 a 85%. Os autores relatam que pequenas variações de temperatura e exposição à luz durante a extração afetam significativamente a recuperação do AA.

3.6 Conteúdo e retenção de vitamina C nas amostras

Os conteúdos e retenção de AA, DHA e vitamina C total ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) nas amostras controle e após armazenamento e sanitização são apresentados na Tabela 2.

Os conteúdos de AA em tomate variaram entre 11,66 e 16,20 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$. Em couve, esses valores mostraram varia-

ção entre 88,27 e 99,71 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$. Em estudo realizado na cidade de Viçosa, MG, o tomate (*Var. santa cruz*) apresentou conteúdo de AA entre 14,7 e 24,6 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$, enquanto a couve (*Var. acephala*) apresentou teores de AA entre 94,4 e 103,8 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ (RODRIGUES, 2005).

São poucos os trabalhos que analisaram o conteúdo total de vitamina C (AA e DHA) em hortaliças. Os resultados encontrados estão de acordo com o relatado por Wills et al. (1984) para tomates, em que o DHA representou 7 % da vitamina C total (18,7 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de AA e 1,5 $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de DHA). Em outro trabalho, o DHA representou cerca de 22 % do conteúdo total de vitamina C em tomate (VANDERSLICE et al., 1990).

Os dados obtidos mostram que o conteúdo de vitamina C nas amostras submetidas ao armazenamento e à sanitização não apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle, em ambas as hortaliças estudadas, mesmo que os valores de retenção tenham sido diferentes. Isso demonstra que as condições padronizadas de estocagem (sob refrigeração) e sanitização (15 minutos a 200 ppm), ao serem aplicadas na UAN, foram importantes para controlar perdas de vitamina C. Apesar disso, sabe-se que as etapas de higienização dos alimentos estão associadas com a perda de vitaminas hidrossolúveis, através do processo de lixiviação, uma vez que o contato direto da água com o alimento interfere no teor dessas vitaminas. A higienização de vegetais em água corrente pode acabar resultando em perdas, aumenta-

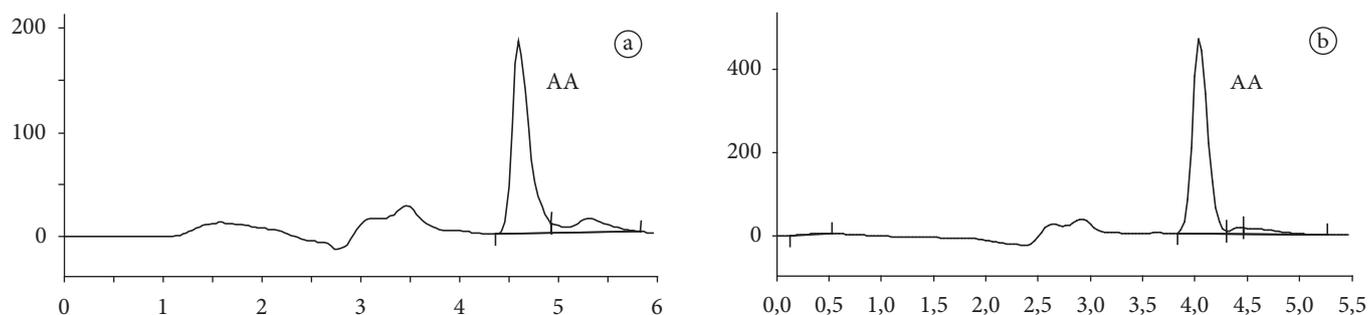


Figura 1. Análise por CLAE de vitamina C total (AA), após reação com DTT, a) em couve; e b) tomate. Condições cromatográficas: Fase móvel: fosfato de sódio 1 mM, EDTA 1 mM, diluídos em água ultrapura, pH 3,0 ajustado com ácido fosfórico; Coluna Merck Lichrospher 100, RP-18, 5 μm ; 250 X 4,6 mm, detector de arranjos de diodos; vazão 1mL/min.

Tabela 2. Conteúdo e retenção de AA, DHA e vitamina C total nas hortaliças após armazenamento por 24 horas em temperatura de refrigeração, seguido por imersão em solução sanitizante por 15 minutos.

Conteúdo de vitamina/retenção	Fase 1					
	Controle**		Armazenamento		Sanitização	
	Couve*	Tomate*	Couve*	Tomate*	Couve*	Tomate*
AA ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$)	99,71 \pm 5,61 ^a	11,66 \pm 4,12 ^b	84,27 \pm 13,32 ^a	16,20 \pm 3,89 ^b	90,24 \pm 22,91 ^a	13,33 \pm 1,47 ^b
Retenção AA (%)	-	-	84,51 \pm 6,83	138,94 \pm 40,26	90,50 \pm 5,17	114,32 \pm 4,15
DHA ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$)	8,75 \pm 5,45 ^a	0,75 \pm 0,46 ^b	15,15 \pm 6,62 ^a	1,28 \pm 0,75 ^b	10,69 \pm 10,59 ^a	1,25 \pm 0,94 ^b
DHA(% da vitamina C total)	8,06	6,04	15,23	7,32	10,58	8,57
Vitamina C total($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$)	108,46 \pm 10,93 ^a	12,40 \pm 3,80 ^b	99,42 \pm 18,91 ^a	17,48 \pm 3,18 ^b	100,93 \pm 32,40 ^a	14,57 \pm 2,31 ^b
Retenção vitamina C (%)	-	-	91,66 \pm 9,18	140,97 \pm 5,84	93,05 \pm 7,12	117,50 \pm 9,23

Os valores correspondem à média \pm desvio padrão (três repetições); a = couve; b = tomate; *médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si ($p > 0,05$) pela Análise de Variância; **controle: não sofreu armazenamento, sanitização, fatiamento ou cocção; e retenção = $100 - [(\text{conteúdo inicial} - \text{conteúdo final})/\text{conteúdo inicial}] \times 100$.

das pela imersão por períodos prolongados (RODRIGUES; PINHEIRO-SANT'ANA, 2003). Campos (2006) verificou que o armazenamento sob refrigeração beneficiou a retenção de AA em tomates, uma vez que a retenção média foi de 89% à temperatura de 10 °C e de 81% à temperatura ambiente (média de 24 °C).

Valores de retenção maiores que 100% podem indicar síntese de AA em tomate, que permanece armazenado na UAN até adequada maturação. O processo de amadurecimento continua durante o tempo de armazenamento e a síntese de AA pode superar a perda. Segundo Lee e Kader (2000), tomates acumulam ácido ascórbico durante o processo de amadurecimento, mesmo que este seja realizado após a colheita. Verifica-se, entretanto, que a retenção cai com o tratamento de sanitização, mesmo que nenhuma dessas diferenças tenha sido estatisticamente significativa.

Os resultados obtidos para a segunda fase do estudo estão apresentados na Tabela 3. Os efeitos de cada um dos tratamentos foram comparados aos efeitos da amostra controle.

Os conteúdos de AA variaram entre 10,19 e 14,19 mg.100 g⁻¹ em tomate. Em couve, esses valores apresentaram variação entre 51,23 e 112,60 mg.100 g⁻¹. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas quanto ao conteúdo de vitamina C nas amostras de tomate e couve submetidas às diferentes etapas de manipulação. Uma vez que o trabalho foi realizado em condições reais de aquisição e manipulação das hortaliças, não foi possível controlar as matérias-primas utilizadas (com relação ao tipo de fornecedor e local de cultivo, por exemplo), o que certamente influencia no conteúdo inicial de AA nas amostras coletadas em diferentes dias e torna o teste estatístico menos sensível para detectar diferenças. Entretanto, observou-se redução importante da taxa de retenção dessa vitamina quando as amostras são comparadas ao controle, muito superior à redução ocorrida no Experimento 1. Em couve, aos 60 minutos de exposição para consumo, somente 46,94% de seu conteúdo inicial de AA foi preservado. Com relação ao tomate, semelhantemente ao que foi observado no experimento 1, as perdas foram menores: 71,81% do conteúdo inicial de AA foi preservado aos 120 minutos de espera para distribuição. Isso, provavelmente, deve-se ao fato de a matriz do tomate ser mais estável às condições de processamento. De acordo com Pedro (2004), os sólidos insolúveis do tomate são basicamente constituídos de celulose e pectina. Enquanto a celulose é uma fibra presente na membrana celular, a pectina constitui o material de ligação entre as células do fruto, sendo conhecida como cimento celular. Esta fibra também é responsável pela estrutura rígida do fruto inteiro e pela viscosidade dos produtos acabados, característica intimamente relacionada ao rendimento no momento de sua aplicação culinária.

A comparação com o armazenamento e a sanitização realizados em escala laboratorial, sob condições controladas, mostra bons resultados. Enquanto a retenção de vitamina C total foi de 79,5% após 24 horas de armazenamento a 10 °C e

sanitização por 15 minutos em laboratório (CAMPOS, 2006), na UAN hospitalar a retenção nessas mesmas condições foi de 88,77%.

O aumento do conteúdo de DHA no tomate e na couve, provavelmente, deve-se à conversão de AA a DHA, ocorrida durante as etapas de manipulação (DEUTSCH, 2000).

De maneira geral, os valores de AA encontrados para as duas hortaliças foram compatíveis com os relatados pela Tabela Americana de Composição de Alimentos (USDA, 2006). Ressalta-se que os dados das tabelas de composição química dos alimentos correspondem, normalmente, a alimentos isolados na sua forma crua, não considerando possíveis modificações durante o preparo e a cocção (RIBEIRO et al., 1995), devendo ser utilizados criteriosamente. Lee e Kader (2000) encontraram valores de AA semelhantes para tomate (10,6 mg.100 g⁻¹), enquanto Gökmen et al. (2000) encontraram valores inferiores para a mesma hortaliça (7,9 mg.100 g⁻¹). Rodrigues (2005) encontrou valores mais elevados de AA para tomate e couve (18,62 e 97,88 mg.100 g⁻¹, respectivamente), nas mesmas variedades utilizadas no presente estudo.

Segundo Zhang e Hamauzu (2004), os processos de cocção provocam mudanças nas características físicas e na composição química dos vegetais, principalmente no teor de vitamina C, devido a sua alta solubilidade e instabilidade térmica.

O fatiamento executado durante a etapa de preparo expõe os tecidos vegetais à incidência de luz e temperatura ambiente, acarretando a diminuição do conteúdo de vitamina C. Segundo Rodrigues (2005), o ideal seria que o fatiamento das hortaliças ocorresse próximo ao horário de servir e que os pedaços fossem maiores para reduzir a exposição das vitaminas ao oxigênio, responsável pela oxidação. Nesse mesmo estudo, entre as hortaliças folhosas, a couve foi a que apresentou menor perda do seu teor de vitamina C, durante as etapas de preparação, o que foi justificado pela maior resistência de suas folhas. Estudo realizado por Barry-Ryan e O'Beirne (1999) demonstrou que o fatiamento manual retém melhor o AA do que o fatiamento mecânico. No presente estudo, não foram analisadas as diferenças quanto ao conteúdo de vitamina C nas hortaliças submetidas a diferentes cortes, uma vez que se optou por serem analisados os cortes comumente utilizados na UAN.

O transporte inadequado, o grande intervalo de tempo entre o preparo e a distribuição, a exposição das hortaliças à temperatura ambiente e ao oxigênio após o seu preparo e a ausência de balcão refrigerado para exposição são fatores que podem promover a redução dos teores de AA (RODRIGUES, 2005). De acordo com Giannakourou e Taoukis (2003), as condições de temperatura após o processamento e a flutuação da temperatura determinam o grau de velocidade de degradação da qualidade e da vida útil dos vegetais.

Tabela 3. Conteúdo e retenção de AA, DHA e vitamina C total nas hortaliças após armazenamento e sanitização por 15 minutos, e distribuição nos tempos 0, 1 e 2. Conteúdo de vitamina/retenção

	Fase 2														
	Controle**			Armazenamento/Sanitização			Tempo 0***			Tempo 1***			Tempo 2***		
	Couve*	Tomate*	Total*	Couve*	Tomate*	Total*	Couve*	Tomate*	Total*	Couve*	Tomate*	Total*	Couve*	Tomate*	Total*
AA (mg.100 g ⁻¹)	112,60 ± 17,90 ^a	14,19 ± 2,74 ^b	75,80 ± 20,17 ^a	13,33 ± 1,47 ^b	51,23 ± 14,81 ^a	11,88 ± 4,20 ^b	58,01 ± 1,95 ^a	10,97 ± 1,89 ^b	55,66 ± 11,25 ^a	10,19 ± 1,90 ^b					
Retenção AA (%)	-	-	67,32 ± 12,19	93,94 ± 8,95	45,49 ± 4,96	83,72 ± 34,55	51,52 ± 11,57	77,30 ± 5,67	46,94 ± 13,61	71,81 ± 11,15					
DHA (mg.100 g ⁻¹)	3,15 ± 0,63 ^a	0,50 ± 0,07 ^b	6,91 ± 3,30 ^a	1,25 ± 0,94 ^b	14,48 ± 10,39 ^a	1,69 ± 0,82 ^b	4,91 ± 1,08 ^a	2,51 ± 1,05 ^b	14,67 ± 11,06 ^a	2,84 ± 0,46 ^b					
DHA (% da vitamina C total)	2,72	3,40	8,35	8,57	22,03	12,45	7,80	18,62	20,86	21,78					
Vitamina C (mg.100 g ⁻¹)	115,75 ± 18,52 ^a	14,69 ± 2,81 ^b	82,70 ± 17,92 ^a	14,57 ± 2,31 ^b	65,71 ± 20,18 ^a	13,57 ± 4,46 ^b	62,92 ± 3,00 ^a	13,48 ± 1,60 ^b	70,32 ± 11,87 ^a	13,04 ± 2,31 ^b					
Retenção vitamina C (%)	-	-	71,45 ± 9,03	99,18 ± 5,58	47,48 ± 4,76	92,37 ± 31,67	54,35 ± 8,27	91,76 ± 5,50	60,75 ± 2,96	88,77 ± 12,75					

Os valores correspondem à média ± desvio padrão de três repetições; a = couve; b = tomate; *médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si (p > 0,05) pela Análise de Variância; ** controle: não sofreu armazenamento, sanitização, fatiamento ou cocção; ***tempo 0 = logo após o preparo; tempo 1: 30 ou 60 minutos após o preparo (couve refogada e tomate, respectivamente); tempo 2: 60 ou 120 minutos após o preparo (couve refogada e tomate, respectivamente); e retenção = 100 - [(conteúdo inicial - conteúdo final) / conteúdo inicial] x 100.

4 Conclusões

Embora não tenham sido encontradas diferenças estatisticamente significativas quanto ao conteúdo dos componentes analisados em ambas as hortaliças durante as diversas etapas de manipulação, observou-se redução importante da taxa de retenção de vitamina C, especialmente em couve, após os tempos de espera para distribuição. Em couve, aos 60 minutos de exposição para consumo, menos da metade de seu conteúdo inicial de AA foi preservado, enquanto foi observado aumento do conteúdo de DHA, produto da oxidação do AA, durante o processamento. Com relação ao tomate, as perdas foram menores após o último período de exposição para consumo, uma vez que a matriz, mais resistente, atuou como elemento protetor.

Para a manipulação dessas hortaliças em UAN, recomenda-se a adoção dos critérios propostos: armazenamento em temperatura de refrigeração, imersão em solução sanitizante pelo tempo recomendado pelo fabricante (15 minutos) e distribuição imediatamente após o preparo, principalmente para a couve.

A utilização desses critérios pode ser uma medida eficiente na redução de perdas de vitaminas em hortaliças preparadas em UAN, uma vez que a vitamina C, em função de sua alta sensibilidade, pode ser utilizada como um indicador da severidade das condições de processamento.

Agradecimentos

Ao PIBIC/CNPq/UFV, pelo apoio financeiro.

Referências bibliográficas

- BARRY-RYAN, C.; O'BEIRNE, D. Ascorbic acid retention in shredded iceberg lettuce as affected by minimal processing. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 3, p.498-500, 1999.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.
- CAMPOS, F. M. **Avaliação de práticas de manipulação de hortaliças visando à preservação de vitamina C e carotenóides**. Viçosa, 2006. 130p. Dissertação - (Mestre em Ciência da Nutrição), Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa - UFV.
- DE SÁ, M. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Optimization of HPLC quantification of carotenoids in cooked green vegetables - Comparison of analytical and calculated data. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, n.1, p. 37-51, 2004.
- DEUTSCH, J. Dehydroascorbic acid - Review. **Journal of Chromatography A**, v. 881, n. 1-2, p. 299-307, 2000.
- GIANNAKOUROU, M. C.; TAOUKIS, P. S. Kinetic modeling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. **Food Chemistry**, v. 83, n.1, p. 33-41, 2003.
- GÖKMEN, V.; KAHRAMAN, N.; DEMIR, N.; ACAR, J. An enzymatically validated liquid chromatography method for the determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 309-316, 2000.
- LEE, S. 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.
- PEDRO, A.M.K. **Determinação simultânea e não destrutiva de sólidos totais e solúveis, licopeno e beta-caroteno em produtos de tomate por espectroscopia no infravermelho próximo utilizando calibração multivariada**. Campinas, 2004. 118p. Dissertação - (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
- PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Evaluation of total carotenoids, α - and β -carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 39-44, 1998.
- RIBEIRO, M. A.; STAMFORD, T. L. M.; FILHO, J. E. C. Valor nutritivo de refeições coletivas: tabelas de composição de alimentos versus análise em laboratório. **Revista de Saúde Pública**, v. 29, n. 2, p. 120-126, 1995.
- RIZZOLO, A.; POLESELLO, S. Review: chromatographic determination of vitamins in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 624, n. 103, p. 103-152, 1992.
- RODRIGUES, C. M. A. **Utilização dos Princípios da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na Prevenção de Perdas de Vitamina C em Hortaliças Preparadas em Restaurante Institucional e Comercial**. Viçosa, 2005. 102p. Dissertação - (Mestrado em Ciência da Nutrição), Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa - UFV.
- RODRIGUES, C. M. A.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. É possível prevenir perdas de vitaminas em alimentos? **Nutrição em Pauta**, v. XI, n. 63, p. 12-18, 2003.
- SILVA, D. J. **Análise de Alimentos (Métodos Químicos e Biológicos)**. 1 ed. Viçosa: Imprensa Universitária, 1987.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. **USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 17**. Nutrient Data Laboratory, 2004. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>>. Acesso em: 12 jul. 2006.
- VANDERSLICE, J. T. et al. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid content of foods-as eaten. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 3, p. 105-118, 1990.
- WILLS, R. B. H.; WIMALASIRI, P.; GREENFIELD, H. Dehydroascorbic acid levels in fresh fruit and vegetables in relation to total vitamin C activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 1904, n. 320, p. 836-838, 1984.
- ZHANG, D.; HAMAUZU, Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. **Food Chemistry**, v. 88, p. 503-509, 2004.