

BANDSST

ANÁLISE DOS EFEITOS DE  
DIFERENTES PARÂMETROS NA  
ESTABILIDADE DE VITAMINA C  
EM VEGETAIS PROCESSADOS

07/90

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANÁLISE DOS EFEITOS DE DIFERENTES  
PARÂMETROS NA ESTABILIDADE DE VITAMINA

Parecer C EM VEGETAIS PROCESSADOS

*Este exemplar corresponde  
a redação final da tese  
defendida por Marta de  
Toledo Benassi e aprovada  
pela Comissão Julgadora  
em 17.05.90.*

Marta de Toledo Benassi *st*

*Campinas, 17 de  
maio de 1990.*

Engenheiro de Alimentos

*Dr. Dr.*

Prof. Dr. Aloísio José Antunes *st*

Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos  
da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de  
Mestre em Ciência de Alimentos

- 1990 -

BANCA EXAMINADORA

*P/ Aloísio José Antunes*

Prof. Dr. Aloísio José Antunes  
(orientador)

*P/ Délia Rodrigues Amaya*

Profa. Dra. Délia Rodrigues Amaya  
(presidente da banca)

*Pilar Rodriguez de Massaguer*

Profa. Dra. Pilar Rodriguez de Massaguer  
(membro)

*Emílio Contreras Guzmán*

Prof. Dr. Emílio Contreras Guzmán  
(membro)

*Suplente*

Prof. Dr. Morris Willian Montgomery  
(membro)

Campinas, 17 de maio de 1990.

Ao Fábio.

Aos meus pais, Reinaldo e Donátilla.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Aloísio José Antunes, pela orientação em todas as etapas de realização da tese.

Aos Professores Délia Rodrigues Amaya, Emílio Contreras Guzmán, Pilar Rodriguez de Massaguer e Morris Willian Montgomery, pelas sugestões apresentadas ao trabalho.

Às companheiras de trabalho no laboratório, Nadeje Handam de Moraes e Eliana Maria Pettirosi Motta, pelo apoio e pela ajuda valiosa durante a realização do trabalho.

Ao FAP, pelo suporte financeiro da pesquisa.

À CAPES, pela bolsa de pós-graduação.

À ABIA, pelas cópias da tese.

# ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
RESUMO .....	x
SUMMARY .....	xii
I - INTRODUÇÃO .....	001
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	003
1. FONTES E IMPORTÂNCIA DA VITAMINA C NA DIETA .....	003
2. ATIVIDADE DE VITAMINA C .....	005
3. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA VITAMINA C .....	007
3.1. MÉTODOS BASEADOS NA OXIDAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO .....	009
3.2. MÉTODOS BASEADOS EM REAÇÕES DO ÁCIDO DEHIDROASCÓRBICO .....	012
3.3. MÉTODOS BASEADOS EM REAÇÕES DO ÁCIDO DICETOGULÔNICO .....	012
4. PERDAS DE VITAMINA C DURANTE O PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DE VEGETAIS .....	014
4.1. COZIMENTO EM ÁGUA .....	020
4.2. COZIMENTO EM VAPOR .....	026
4.3. COZIMENTO EM MICROONDAS .....	029
4.4. ESTOCAGEM À TEMPERATURA AMBIENTE, REFRIGERADA E CON- GELADA .....	031
III - MATERIAIS E MÉTODOS .....	037
1. MATERIAIS UTILIZADOS .....	037
1.1. MATÉRIA PRIMA .....	037
1.2. REAGENTES .....	037
1.3. EQUIPAMENTOS .....	038
2. METODOLOGIA .....	039
2.1. DETERMINAÇÃO DO ÁCIDO ASCÓRBICO .....	039
2.1.1. Amostragem .....	039
2.1.2. Extração .....	041
2.1.2.1. Escolha da solução de extração .....	041
2.1.2.2. Quantidade de solução de extração .....	041
2.1.2.3. Concentração da solução de extração .....	042
2.1.2.4. Homogeneização da amostra .....	042
2.1.2.5. Método de extração .....	043
2.1.3. Determinação .....	045

2.2. DETERMINAÇÃO DA DUREZA DE ÁGUA .....	045
2.3. DETERMINAÇÕES ENZIMÁTICAS .....	046
2.3.1. Determinação da oxidase do ácido ascórbico .....	046
2.3.2. Determinação da peroxidase .....	047
2.4. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	048
2.4.1. Cozimento em água .....	048
2.4.2. Cozimento em vapor .....	049
2.4.3. Cozimento em microondas .....	050
2.4.4. Estocagem à temperatura ambiente .....	050
2.4.5. Estocagem refrigerada e congelada .....	051
2.5. DETERMINAÇÃO E CÁLCULO DOS DADOS CINÉTICOS .....	052
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS .....	053
<b>IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>054</b>
1. ADAPTAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE .....	054
1.1. ESCOLHA DA SOLUÇÃO DE EXTRAÇÃO .....	054
1.2. HOMOGENEIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	058
1.3. ESCOLHA DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO .....	060
2. COZIMENTO EM ÁGUA .....	063
3. COZIMENTO EM VAPOR .....	104
4. COZIMENTO EM MICROONDAS .....	115
5. ESTOCAGEM À TEMPERATURA AMBIENTE, REFRIGERADA E CONGELADA .....	123
<b>V - CONCLUSÃO .....</b>	<b>143</b>
<b>VI - BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>146</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

	pag.
TABELA 1. Processamento e estocagem de produtos vegetais estudados com relação ao teor final de vitamina C	016
TABELA 2. Processamento e estocagem de produtos vegetais estudados com relação à perda de vitamina C durante o processo	018
TABELA 3. Alteração no teor de vitamina C com o aumento da quantidade de água no cozimento	022
TABELA 4. Comparação entre os cozimentos em água e vapor com relação ao teor de vitamina C retida no produto, solubilizada e degradada no processamento	028
TABELA 5. Características dos extratos de vegetais obtidos com ácido metafosfórico e oxálico	055
TABELA 6. Teor de vitamina C (mg/100g) de vegetais utilizando diferentes soluções extratoras	055
TABELA 7. Teor de vitamina C (mg/100g) obtido com diferentes soluções extratoras e armazenado a temperatura ambiente (20°C a 25°C) e refrigerada (3°C a 5°C)	057
TABELA 8. Teor de vitamina C (mg/100g) em extratos vegetais homogeneizados por diferentes tempos	059
TABELA 09. Teor de vitamina C (mg/100g) de vegetais obtido em cada etapa da extração (Método 2)	062
TABELA 10. Comparação entre os teores de vitamina C (mg/100g) de vegetais obtidos por diferentes métodos de extração	062
TABELA 11. Teor de vitamina C (mg/100g) em couve cozida em água (T = 100°C)	066
TABELA 12. Teor de vitamina C (mg/100g) em pimentão cozido em água (T = 100°C)	066
TABELA 13. Teor de vitamina C (mg/100g) em couve-flor cozida em água (T = 100°C)	067
TABELA 14. Valores de k (min <sup>-1</sup> ), t <sub>1/2</sub> (min), r e nível de significância da correlação para o cozimento de vegetais em água (T = 100°C)	067
TABELA 15. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em diferentes proporções de água / vegetal (1:4 e 1:8) (T = 100°C)	073

TABELA 16.	Teor (mg/100g) de vitamina C em couve cozida em diferentes proporções de água / vegetal (1:4 e 1:8) (T = 100°C) .....	074
TABELA 17.	Teor (mg/100g) de vitamina C em pimentão cozido em diferentes proporções de água / vegetal (1:4 e 1:8) (T = 100°C) .....	076
TABELA 18.	Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em diferentes proporções de água / vegetal (1:4, 1:12 e 1:16) (T = 100°C) .....	080
TABELA 19.	Valores de k (min <sup>-1</sup> ), t <sub>1/2</sub> (min), r e nível de significância da correlação para o cozimento de vegetais em diferentes quantidades de água (T=100°C) ..	083
TABELA 20.	Características da água de torneira utilizada no cozimento : pH e dureza (mg CaCO <sub>3</sub> ) .....	085
TABELA 21.	Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em água destilada e de torneira (T = 100°C) .....	085
TABELA 22.	Teor (mg/100g) de vitamina C em pimentão cozido em água destilada e de torneira (T = 100°C) .....	086
TABELA 23.	Teor (mg/100g) de vitamina C em couve cozida em água destilada e de torneira (T = 100°C) .....	087
TABELA 24.	Valores de k (min <sup>-1</sup> ), t <sub>1/2</sub> (min), r e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em água destilada e de torneira (T = 100°C) .....	091
TABELA 25.	Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em recipientes de diferentes materiais (T=100°C) ..	094
TABELA 26.	Teor (mg/100g) de vitamina C em couve cozida em recipientes de diferentes materiais (T = 100°C) .....	095
TABELA 27.	Teor (mg/100g) de vitamina C em pimentão cozido em recipientes de diferentes materiais (T = 100°C) ...	096
TABELA 28.	Valores de k (min <sup>-1</sup> ), t <sub>1/2</sub> (min), r e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em recipientes de diferentes materiais (T = 100°C) ...	103
TABELA 29.	Teor de vitamina C ( mg/100g) em couve cozida em vapor (T = 100°C) .....	105
TABELA 30.	Teor de vitamina C ( mg/100g) em couve-flor cozida em vapor (T = 100°C) .....	105
TABELA 31.	Teor de vitamina C ( mg/100g) em pimentão cozido em vapor (T = 100°C) .....	106

TABELA 32.	Valores de $k$ ( $\text{min}^{-1}$ ), $t_{1/2}$ (min), $r$ e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em vapor ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )	106
TABELA 33.	Teor de vitamina C (mg/100g) em couve cozida em microondas	116
TABELA 34.	Teor de vitamina C (mg/100g) em couve-flor cozida em microondas	117
TABELA 35.	Teor de vitamina C (mg/100g) em pimentão cozido em microondas	117
TABELA 36.	Valores de $k$ ( $\text{min}^{-1}$ ), $t_{1/2}$ (min), $r$ e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em microondas	121
TABELA 37.	Comparação entre a atividade da oxidase do ácido ascórbico em couve, couve-flor e pimentão durante o cozimento em microondas	122
TABELA 38.	Teor de vitamina C (mg/100g) e alterações sensoriais em couve estocada à temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ a $25^{\circ}\text{C}$ )	124
TABELA 39.	Teor de vitamina C (mg/100g) e alterações sensoriais em pimentão estocado à temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ a $25^{\circ}\text{C}$ )	125
TABELA 40.	Teor de vitamina C (mg/100g) e alterações sensoriais em couve-flor estocada à temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ a $25^{\circ}\text{C}$ )	125
TABELA 41.	Presença de peroxidase em couve-flor, pimentão e couve após diferentes tempos de tratamento em microondas	128
TABELA 42.	Teor de vitamina C (mg/100g) em pimentão estocado à temperatura de refrigeração ( $3^{\circ}\text{C}$ a $5^{\circ}\text{C}$ )	131
TABELA 43.	Teor de vitamina C (mg/100g) em couve-flor estocada à temperatura de refrigeração ( $3^{\circ}\text{C}$ a $5^{\circ}\text{C}$ )	132
TABELA 44.	Teor de vitamina C (mg/100g) em couve estocada à temperatura de refrigeração ( $3^{\circ}\text{C}$ a $5^{\circ}\text{C}$ )	133
TABELA 45.	Teor de vitamina C (mg/100g) em couve-flor estocada congelada ( $T = -18^{\circ}\text{C}$ )	138
TABELA 46.	Teor de vitamina C (mg/100g) em pimentão estocado congelado ( $T = -18^{\circ}\text{C}$ )	139
TABELA 47.	Teor de vitamina C (mg/100g) em couve estocada congelada ( $T = -18^{\circ}\text{C}$ )	140

## ÍNDICE DE FIGURAS

pag.

FIGURA 1.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água (T = 100°C) .....	068
FIGURA 2.	Efeito do tempo de cozimento em água na retenção de vitamina C em couve (T = 100°C) .....	068
FIGURA 3.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água (T = 100°C) .....	069
FIGURA 4.	Efeito do tempo de cozimento em água na retenção de vitamina C em pimentão (T = 100°C) .....	069
FIGURA 5.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água (T = 100°C) .....	070
FIGURA 6.	Efeito do tempo de cozimento em água na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C) .....	070
FIGURA 7.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em diferentes proporções de água produto (1:4 e 1:8) (T = 100°C) .....	076
FIGURA 8.	Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:8) na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C) .....	076
FIGURA 9.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:8) (T = 100°C) .....	077
FIGURA 10.	Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:8) na retenção de vitamina C em couve (T = 100°C) .....	077
FIGURA 11.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:8) (T = 100°C) .....	078
FIGURA 12.	Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:8) na retenção de vitamina C em pimentão (T = 100°C) .....	078
FIGURA 13.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:12) (T = 100°C) .....	081
FIGURA 14.	Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:12) na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C) .....	081

FIGURA 15. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:16) (T = 100°C) .....	082
FIGURA 16. Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:16) na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C) .....	082
FIGURA 17. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água de torneira e destilada (T = 100°C) .....	088
FIGURA 18. Efeito do tempo e de características da água de cozimento na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C) .....	088
FIGURA 19. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água de torneira e destilada (T = 100°C) .....	089
FIGURA 20. Efeito do tempo e de características da água de cozimento na retenção de vitamina C em pimentão (T = 100°C) .....	089
FIGURA 21. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água de torneira e destilada (T=100°C) .....	090
FIGURA 22. Efeito do tempo e de características da água de cozimento na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C) .....	090
FIGURA 23. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e alumínio)(T = 100°C) .....	097
FIGURA 24. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e alumínio) na retenção de vitamina C em couve-flor cozida em água (T = 100°C) .....	097
FIGURA 25. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e alumínio) (T = 100°C) .....	098
FIGURA 26. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e alumínio) na retenção de vitamina C em couve cozida em água (T = 100°C) .....	098
FIGURA 27. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e alumínio)(T = 100°C) .....	099

FIGURA 28.	Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e alumínio) na retenção de vitamina C em pimentão cozido em água (T = 100°C) .....	099
FIGURA 29.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e aço inox) (T = 100°C) ....	100
FIGURA 30.	Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e aço inox) na retenção de vitamina C em couve-flor cozida em água (T = 100°C) .....	100
FIGURA 31.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e aço inox) (T = 100°C) .....	101
FIGURA 32.	Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e aço inox) na retenção de vitamina C em couve cozida em água (T = 100°C) .....	101
FIGURA 33.	Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e aço inox) (T = 100°C) ....	102
FIGURA 34.	Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e aço inox) na retenção de vitamina C em pimentão cozido em água (T = 100°C) .....	102
FIGURA 35.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve em vapor (T = 100°C) .....	107
FIGURA 36.	Efeito do tempo de cozimento em vapor na retenção de vitamina C em couve (T = 100°C) .....	107
FIGURA 37.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de pimentão em vapor (T = 100°C) .....	108
FIGURA 38.	Efeito do tempo de cozimento em vapor na retenção de vitamina C em pimentão (T = 100°C) .....	108
FIGURA 39.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em vapor (T = 100°C) .....	109
FIGURA 40.	Efeito do tempo de cozimento em vapor na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C) .....	109
FIGURA 41.	Efeito do cozimento em água e vapor na inativação da oxidase do ácido ascórbico em couve-flor (T = 100°C).	113
FIGURA 42.	Efeito do cozimento em água e vapor na inativação da oxidase do ácido ascórbico em couve (T = 100°C) ....	113
FIGURA 43.	Efeito do cozimento em água e vapor na inativação da oxidase do ácido ascórbico em pimentão (T = 100°C) ..	114

FIGURA 44.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve em microondas .....	118
FIGURA 45.	Efeito do tempo de cozimento em microondas na retenção de vitamina C em couve .....	118
FIGURA 46.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em microondas .....	119
FIGURA 47.	Efeito do tempo de cozimento em microondas na retenção de vitamina C em couve-flor .....	119
FIGURA 48.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de pimentão em microondas .....	120
FIGURA 49.	Efeito do tempo de cozimento em microondas na retenção de vitamina C em pimentão .....	120
FIGURA 50.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve à temperatura ambiente (20°C a 25°C) ..	126
FIGURA 51.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve-flor à temperatura ambiente (20°C a 25°C) .....	126
FIGURA 52.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de pimentão à temperatura ambiente (20°C a 25°C) .....	127
FIGURA 53.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve-flor branqueada e não branqueada à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C) .....	134
FIGURA 54.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve branqueada e não branqueada à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C) .....	134
FIGURA 55.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de pimentão branqueado e não branqueado à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C) .....	135
FIGURA 56.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve-flor branqueada e não branqueada congelada (T = -18°C) .....	141
FIGURA 57.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de pimentão branqueado e não branqueado congelada (T = -18°C) .....	141
FIGURA 58.	Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve branqueada e não branqueada congelada (T = -18°C) .....	142

## RESUMO

O trabalho foi conduzido no sentido de se estudar a estabilidade e verificar a cinética de perda de vitamina C em diferentes processos, utilizando-se como, matéria prima, vegetais selecionados: couve, couve-flor e pimentão. Foram feitos diferentes tipos de cozimento (água, vapor e microondas) e estocagem (temperatura ambiente, refrigerada e congelada), variando-se os tempos e condições de processamento.

Foi constatado que as perdas de vitamina C nos produtos, durante o cozimento em água, foram, quase que exclusivamente, devidas à solubilização, havendo, em alguns casos, pequena perda por degradação. No caso de couve, após um período determinado durante o qual ocorreram perdas (10 minutos), o teor de vitamina C no produto se estabilizou. O aumento na proporção de água:vegetal também provocou uma elevação nas perdas. Foi observada uma menor retenção de vitamina, quando os cozimentos foram realizados em recipientes de alumínio e aço inox em comparação com material inerte (pirex). Não foi observado aumento nas perdas pela utilização de água de torneira ao invés de água destilada.

Para cozimento em vapor foram encontradas menores perdas do que as constatadas no cozimento em água, não sendo, nesse caso, devidas à solubilização. Essas perdas foram atribuídas à presença de oxigênio, em contato com o tecido cortado, sob alta temperatura.

O cozimento em microondas mostrou perdas inferiores às observadas nos outros dois processos. Essas perdas foram devidas à degradação enzimática, uma vez que foi constatada atividade en-

zimática nos primeiros minutos de cozimento, e térmica, em consequência das altas temperaturas alcançadas nesse processamento.

Para os três tipos de cozimento foi observado que as perdas seguiram uma cinética de primeira ordem.

A estocagem de produtos crus à temperatura ambiente comprovou que o teor de vitamina C, em vegetais, pode ser utilizado como um eficiente índice de qualidade, uma vez que foi constatado que as perdas de vitamina C estavam correlacionadas à perda de qualidade geral do produto (textura, aparência).

A estocagem, em geladeira, de produtos vegetais crus mostrou uma situação muito semelhante à descrita para os mesmos produtos à temperatura ambiente, mas com perdas muito mais lentas de vitamina C e de fatores de qualidade, devido ao abaixamento da temperatura. A estocagem de vegetais branqueados em geladeira mostrou perdas muito mais acentuadas do que as observadas para vegetais crus.

Vegetais crus estocados em freezer tiveram perdas expressivas de vitamina devido ao dano provocado nos tecidos pelo processo de congelamento, que pode ser observado no experimento. Para vegetais branqueados, foram observadas perdas muito baixas durante a estocagem congelada.

Em termos analíticos, foi, ainda, confirmada a possibilidade de se utilizar o ácido oxálico ao invés de ácido metafosfórico como solução de extração, com economia significativa no custo da análise.

## SUMMARY

This work was undertaken to study the stability and verify the kinetics of vitamin C loss in different processes. Kale, cauliflower and green pepper were utilized as raw materials. Different cooking methods (boiling, steaming and microwaving) and storage conditions (ambient temperature, refrigerated and frozen) were used, the length and conditions of processing being varied.

It was found that the vitamin C losses during boiling, were almost exclusively due to leaching. In some cases there was slight loss by degradation. With kale, after a certain time period (10 minutes), during which losses occurred, the vitamin C level remained constant. An increase in the water:vegetable proportion increased vitamin losses. A lower vitamin C retention was observed when the cooking was done in aluminium and stainless steel compared to pyrex containers. Losses were not increased by using tap water instead of distilled water.

Smaller losses were observed in steaming than in boiling. These were not due to leaching but to the presence of oxygen, in contact with the cut tissue, under high temperature

Microwave cooking showed inferior losses to those observed in conventional methods. These losses were due to enzymatic oxidation, enzymatic activity being observed during the first minutes of cooking, and to thermal degradation due to high temperatures attained with this processing.

For the three cooking methods, losses followed a first order kinetic.

The storage of raw vegetables at ambient temperature showed that the vitamin C content, can be used as an efficient quality index, since it was verified that vitamin C losses were related to the product's general quality loss (texture, aspect).

The refrigerated storage of raw vegetables had a similar trend to that found at ambient temperature, but at much lower rate, due to lower temperature. Refrigerated storage of blanched vegetables showed much greater losses than with raw ones.

Frozen storage of raw vegetables showed appreciable vitamin losses due to the tissue damage provoked by freezing. The losses during frozen storage of blanched vegetables were extremely low.

In terms of analysis, the possibility of using oxalic acid instead of metaphosphoric acid as extracting solution was confirmed, with significant reduction in analysis cost.

## I - INTRODUÇÃO

O estudo da perda de vitamina C em processamentos e estocagem de produtos vegetais pode ser justificado por razões de ordem tecnológica, econômica e nutricional. Apesar da existência de uma grande quantidade de trabalhos relacionados a esse assunto, os mecanismos pelos quais ocorre a perda de vitamina não estão devidamente esclarecidos.

Como resultado desta constatação, o objetivo desse trabalho foi estudar a cinética de perda do ácido ascórbico em alguns vegetais selecionados, com relação aos mais diferentes processamentos e obter dados para uma análise do efeito desses processamentos sobre a vitamina C.

O trabalho procurou mostrar a importância de se utilizar os próprios produtos vegetais, devido à dificuldade de simulação adequada de todas as características do produto envolvido.

Foi enfatizada a necessidade da tomada de medidas no decorrer dos processamentos, e não apenas dos teores inicial e final, que fornecem informações limitadas, e, também, a utilização de parâmetros cinéticos ( $k$  e  $t_{1/2}$ ) para a comparação entre diferentes processos.

Os processamentos estudados foram aqueles que, em geral, são mais frequentemente empregados. Foram feitos em escala e técnica semelhantes às utilizadas no preparo doméstico, mas os dados e conclusões obtidos podem ser utilizados como uma indicação do que aconteceria em processos mais complexos.

Foram estudados os cozimentos em água, vapor e microondas, sendo considerados os efeitos de variações nos tempos de cozimento, da proporção água:vegetal e da influência do uso de água não destilada e recipientes de diferentes materiais. Foram também estudadas as alterações nos teores de vitamina C devidas à estocagem à temperatura ambiente, refrigerada e congelada, e, nos dois últimos casos, foram comparados os comportamentos de vegetais branqueados e não branqueados.

Paralelamente a esses experimentos, foi testada uma solução para a extração da vitamina (ácido oxálico) diferente da mais frequentemente utilizada (ácido metafosfórico), e que possibilitaria uma sensível economia na realização das análises de vitamina C.

## II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. FONTES E IMPORTÂNCIA DA VITAMINA C NA DIETA

A vitamina C foi o primeiro nutriente cuja deficiência foi reconhecida como causadora de doença. Provavelmente antes de 1700, já havia sido notado que a falta de frutas e vegetais frescos resultava em escorbuto e que essa doença poderia ser prevenida e curada por uma dieta apropriada (Vilter, 1967; Bates, 1981).

O escorbuto caracteriza-se por um processo de enfraquecimento de estruturas colagenosas que resulta em hemorragia capilar generalizada (RDA, 1989). A vitamina C está envolvida nos processos de formação de tecido conectivo e na cura e prevenção da anemia ferropriva pela ação redutora sobre o ferro, facilitando assim a absorção e o transporte (Jonhson, 1979; Hughes, 1981).

A investigação da ocorrência de ácido ascórbico em produtos tem sido facilitada pela simplicidade dos métodos de determinação da vitamina (Cooke e Moxon, 1981).

Algumas das mais importantes fontes de ácido ascórbico da dieta são citrus, vegetais folhosos, batatas e tomates e outros tipos de frutas e vegetais (Olliver, 1967 b).

O teor de vitamina C de um produto é influenciado por uma variedade de fatores como maturidade, tratos culturais, condições de plantio e manuseio antes e pós-colheita, e estocagem, que podem ser controlados pelo emprego de tecnologia adequada. Atualmente, grande parte dos alimentos consumidos é, de algum modo, processada, trazendo, ao lado dos efeitos benéficos, como me-

hora de características organolépticas e destruição de componentes indesejáveis, diminuição do conteúdo vitamínico dos alimentos. Normalmente, condições de processamento cuidadosas, que conduzem à produção de alimentos com atributos organolépticos satisfatórios, também são razoavelmente eficientes na preservação da vitamina. A vitamina C é um dos nutrientes mais sensíveis à destruição quando submetido a condições adversas, assim, alterações em seu teor podem ser tomadas como indicadores de mudanças gerais de qualidade (Olliver, 1967b; Harris e VonLoesecke, 1971; Kramer, 1977; Buss e Robertson, 1978; Bender, 1978).

Algumas vezes, ácido ascórbico e seus derivados (palmítato de ascorbila e sais de Na e Ca) podem ser adicionados a produtos com o propósito de fortificação ou como aditivos tecnológicos, sendo classificados pelo "Food and Drug Administration" como "substâncias geralmente reconhecidas como inócuas" (G.R.A.S.). O ácido ascórbico apresenta ação sinérgica com outros antioxidantes como tocoferóis, butil-hidroxianisol e butil-hidroxitolueno e além disso exerce ação quelante, ligando-se a metais pesados que funcionam como pró-oxidantes, dando, portanto, maior vida de prateleira a óleos e gorduras. São também usados para controlar escurecimento enzimático em frutas e vegetais processados. É aplicado em refrigerantes para inibição da corrosão em latas e em vinho para proteção do sabor, flavor e limpidez. Em carnes curadas, é utilizado para desenvolvimento e estabilização de cor, e, em panificação, para o fortalecimento do glúten e aumento do volume do pão (Fennema, 1977; Counsell e Hornig, 1981).

## 2. ATIVIDADE DE VITAMINA C

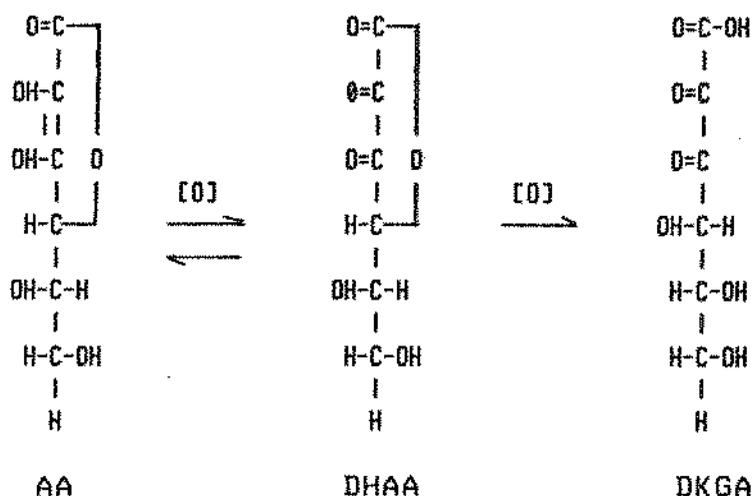
A atividade de vitamina C em alimentos está associada com seu conteúdo de ácido L-ascórbico (AA) (Olliver, 1967 c).

A vitamina C pode ser facilmente oxidada, sendo a intensidade do processo dependente de fatores como luz, temperatura, presença de enzimas oxidantes ou catalizadores metálicos. Cristais secos de ácido ascórbico são estáveis à exposição ao ar e à luz do dia, à temperatura ambiente por longos períodos de tempo. Em soluções aquosas com pH menor que 7,6, o ácido ascórbico não se oxida na ausência de ar, a não ser que substâncias catalizadoras dessa reação estejam presentes. Na presença de ar ou de um catalizador eficiente, é facilmente oxidado a ácido dehidroascórbico. Abaixo de pH 4,0, o ácido dehidroascórbico é razoavelmente estável. No entanto, acima desse pH, torna-se inativo (Jonhson, 1979).

Os íons metálicos, como  $Fe^{+3}$ ,  $Cu^{+2}$  e  $Zn^{+2}$ , e as enzimas, oxidase do ácido ascórbico, citocromo oxidase, fenolase e peroxidase, são catalizadores da oxidação da vitamina C. O ácido ascórbico é reativo em presença de substâncias com grupos amínicos livres, dando reações como a de Maillard. A adição de  $SO_2$  durante o processamento pode proteger a vitamina contra a oxidação (Buss e Robertson, 1978).

O ácido ascórbico (AA), quando em condições desfavoráveis como as descritas acima, oxida-se a ácido dehidroascórbico (DHAA), que é convertido a ácido 2,3 dicetogulônico (DKGA) e, então, a produtos de degradação de pesos moleculares mais baixos

(Olliver, 1967 b).



O ácido ascórbico desempenha, ainda, no organismo, a função de anti-oxidante biológico, uma vez que sua forma oxidada (DHAA) pode ser convertida novamente a ácido ascórbico por vários redutores naturais, mantendo-se assim o seu poder redutor. A atividade de vitamina do ácido dehidroascórbico tem sido discutida por diversos autores, sendo que alguns dizem que essa conversão seria de 75 a 80% (Mills et al., 1949; Association of Vitamin Chemists, 1966) e outros já afirmam que seria totalmente convertido (Gyorgy e Rubin, 1950; Olliver, 1967 a; Jonhson, 1979; Cooke e Moxon, 1981).

O ácido dicetogulônico não apresenta nenhuma atividade vitamínica (Mills et al., 1949; Gyorgy e Rubin, 1950; Association of Vitamin Chemists, 1966; Olliver, 1967a; Cooke e Moxon, 1981).

### 3. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA VITAMINA C

A determinação da vitamina pode ser realizada através de métodos biológicos, químicos e físicos.

Os métodos biológicos medem a atividade total de vitamina C (Dunker et al., 1942). Esses procedimentos são raramente utilizados, já que os métodos químicos fornecem resultados mais precisos, baratos e rápidos.

Os métodos químicos podem medir ácido ascórbico, dehidroascórbico e dicetogulônico, separadamente ou juntos.

A maioria desses métodos é baseada em reações colorimétricas, quando o extrato reage com um agente oxidante. Entre os reagentes recomendados temos : 2,6 diclorofenolindofenol, 2,4 dinitrofenilhidrazina, 4-metoxi-2-nitroanilina, azul de metileno, N-bromosuccinimida, iodo, íons cúpricos, etc ( Association of Vitamin Chemists, 1966; AOAC, 1984b; Contreras-Guzmán et al., 1984).

Métodos espectrofotométricos, onde se faz a determinação do espectro característico antes e após a destruição do ácido ascórbico com íons cúpricos, irradiação e enzimas, e eletrométricos, onde o ponto de viragem do diclorofenolindofenol é determinado através de uma titulação eletrométrica, têm também sido empregados (Morell, 1941; Hocheberg et al., 1943).

São ainda utilizados métodos cromatográficos ( Gyorgy e Rubin, 1950; Association of Vitamin Chemists, 1966; Olliver, 1967 a; Rizzolo et al., 1980; Augustin et al., 1980; Cooke e Moxon, 1981; Molledina e Flink, 1982; Shaw e Wilson, 1982; Wills

et al., 1984). A técnica cromatográfica é utilizada tanto como auxiliar para a purificação do composto entre as etapas de outro método (cromatografia em camada delgada), como na detecção e quantificação de compostos (cromatografia gasosa ou HPLC) (Association of Vitamin Chemists, 1966; Cooke e Moxon, 1981).

Atualmente, são propostos métodos enzimáticos para a determinação da vitamina, onde a enzima oxidase do ácido ascórbico, que possui alta especificidade para esse composto, é utilizada (Esaka et al., 1985). A enzima peroxidase pode também ser utilizada (Pachla et al., 1985).

A extração do ácido ascórbico dos tecidos, para posterior quantificação, é feita com soluções ácidas para prevenir a oxidação da vitamina. Propriedades como pH, capacidade de complexar metais que catalizem a oxidação de ácido ascórbico e capacidade de inativar ou precipitar enzimas que oxidam a vitamina devem ser consideradas na escolha do meio de extração (Freebairn, 1959). Entre as soluções extratoras empregadas (Loeffler e Pointing, 1942; Reid, 1943; Pointing, 1943; Freebairn, 1959; Association of Vitamin Chemists, 1966; Kim et al., 1986) estão as dos ácidos: metafosfórico, oxálico, acético, tricloroacético (TCA) e suas combinações, ou dessas mesmas soluções e ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), etc.

As recomendações de concentração da solução e a relação solução/produto também variam bastante e devem ser otimizadas para cada caso (Reid, 1942). Segundo uma das referências consultadas (Vavich et al., 1945) com uma concentração ótima de solução (no caso trabalhava-se com metafosfórico 3 %) dispensava-se o uso

de atmosfera inerte. Solução de ácido metafosfórico 5% foi usada para extração de vitamina C em vegetais diversos, e não foi observada perda significativa ao nível de 5% durante 4 horas à temperatura ambiente (Kim et al., 1986)

A grande maioria dos trabalhos revistos utiliza o ácido metafosfórico. No entanto, aparentemente, a única vantagem dessa utilização seria a sua grande capacidade de precipitar proteínas (Association of Vitamin Chemists, 1966; Olliver, 1967 a).

A literatura cita que o ácido oxálico pode ser usado com eficiência, quando se trabalha com vegetais, para substituir o ácido metafosfórico, apresentando ainda a vantagem de ser mais econômico e estável (Roe, 1936; Loeffler e Pointing, 1942; Pointing, 1943; Gillam, 1945; Guild et al., 1948; Campbell et al., 1958; Dietrich et al., 1962; Kincal e Giray, 1987; Garrote, 1989).

Quanto à estabilidade dos dois ácidos, o metafosfórico é descrito na literatura como pouco estável, tendo-se que refazer a solução a cada semana. O oxálico é muito mais estável, podendo ser armazenado por várias semanas. Deve, no entanto, ser mantido no escuro para evitar a formação de peróxidos que podem destruir a vitamina (Association of Vitamin Chemists, 1966).

### 3.1. Métodos baseados na oxidação de ácido ascórbico

O maior número de métodos de determinação e os mais utilizados se encontram entre os que medem somente compostos reduzidos pela vitamina C.

São geralmente utilizados métodos colorimétricos e as soluções mais empregadas são:

- iodo e 4-metoxi-2-nitroanilina, utilizado para medicamentos;
- azul de metileno, usado na área da medicina;
- 2,6 diclorofenolindofenol, o mais utilizado no caso de alimentos.

O diclorofenolindofenol é empregado em vários métodos, sendo que a detecção do ponto de viragem pode ser feita visualmente (Gyorgy e Rubin, 1950; Association of Vitamin Chemists, 1966; ADAC, 1984 b), com a ajuda de um colorímetro (Bessey e King, 1933; Tauber e Kleiner, 1935; Roe, 1936; Bessey, 1938; Morell, 1941; Hocheberg et al., 1943; Mills et al., 1949; Gyorgy e Rubin, 1950; Freebairn, 1959; ADAC, 1984 b) ou medida elétrica (Gillam, 1945; Mills et al., 1949; Gyorgy e Rubin, 1950). As duas últimas opções se justificam, quando há dificuldade na determinação do ponto final da titulação, devida à coloração forte, turbidez ou baixas concentrações de vitamina no extrato (Association of Vitamin Chemists, 1966).

Existem também adaptações desses métodos que evitam interferências de outras substâncias redutoras na determinação: adição de acetona ou peróxido de hidrogênio e borbulhamento de nitrogênio são empregados para evitar interferência por dióxido de enxofre; formaldeído e peróxido de hidrogênio para redutoras; extração com xileno e outros solventes; e cromatografia para amostras com muitos pigmentos (Olliver, 1967 a ; Cooke e Moxon, 1981; Pachla et al., 1985).

A literatura cita que, se for realizada somente a determinação de ácido ascórbico na avaliação do teor de vitamina C de um produto, pode-se estar considerando um valor inferior ao real, por não se levar em conta o teor de ácido dehidroascórbico, que também possui atividade de vitamina (Morell, 1941).

Em vegetais crus, enlatados ou preparados em casa, o ácido dehidroascórbico tem uma concentração baixa. Aumento na quantidade aparece após certas condições adversas de processamento e estocagem. As proporções entre a quantidade de ácido ascórbico total e dehidroascórbico parecem variar muito com o vegetal, condições e o tempo de estocagem (Wills et al., 1984). Também já se mostrou que, apesar de esse valor aumentar durante a estocagem, após certo tempo ele diminui com a passagem de dehidroascórbico a dicetogulônico (Mills et al., 1949). Segundo outro autor (Noble e Hanig, 1948), as quantidades de ácido dehidroascórbico, após cozimento, eram similares ou um pouco inferiores as da amostra crua, mostrando que, se o ácido ascórbico era oxidado a dehidroascórbico durante o processo, a forma oxidada era tão rapidamente destruída, quanto a forma reduzida. A porcentagem de retenção de ácido ascórbico total nos vegetais e dissolvida na água de cozimento era praticamente a mesma que se obtinha ao se medir a forma reduzida. Também não foi encontrada diferença entre os teores de ácido ascórbico total e reduzido para o cozimento de brócoli em microondas e cozimento tradicional (Campbell et al., 1958).

Em contraposição a isso, existem afirmações que quantidades significativas de ácido dehidroascórbico tem sido encontra-

das em alimentos cozidos e processados, e ainda que outras substâncias capazes de reduzir o diclorofenolindofenol podem ser formadas durante o processamento e estocagem de alimentos (Association of Vitamin Chemists, 1966).

### 3.2. Métodos baseados em reações do ácido dehidroascórbico

Uma das principais reações é entre o ácido dehidroascórbico e a fenilenodiamina. Pode-se oxidar o ácido ascórbico a dehidroascórbico (com Norit, 2,6 diclorofenolindofenol, N-bromosuccinimida) e medir a atividade de vitamina C (Cooke e Moxon, 1981).

Pode-se, também, converter o ácido dehidroascórbico a ascórbico, por borbulhamento com  $H_2S$  no extrato e removê-lo depois, por borbulhamento de nitrogênio (Gyorgy e Rubin, 1950). Esse procedimento, no entanto, parece provocar alguma perda da vitamina (Tewari e Krisnan, 1961).

### 3.3. Métodos baseados em reações do ácido 2,3 dicetogulônico

A reação colorimétrica com a 2,4 dinitrofenilhidrazina (Morell, 1941; Gyorgy e Rubin, 1950; Association of Vitamin Chemists, 1966) pode ser utilizada em análises complexas para deter-

minar os níveis de ácido ascórbico, dehidroascórbico e dicetogulônico em qualquer tipo de amostra, sendo um dos métodos mais empregados de análise. Em alguns procedimentos, os interferentes são compensados por determinações paralelas com brancos ou pela cromatografia em camada delgada.

A idéia básica é a mesma em todas as adaptações desse método. São tomadas três alíquotas separadas de cada amostra. A primeira é tratada com um oxidante para converter ácido ascórbico a dehidroascórbico, e determina-se o total (ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico + ácido 2,3 dicetogulônico). A segunda é tratada com um estabilizador para prevenir qualquer oxidação de ácido ascórbico, e a somatória de ácido dehidroascórbico e dicetogulônico é determinada. Na terceira, o tratamento com um redutor converte ácido dehidroascórbico a ascórbico, e se estima ácido dicetogulônico. Por subtração, consegue-se o valor de cada uma das três substâncias.

#### 4. PERDAS DE VITAMINA C DURANTE O PROCESSAMENTO E ESTOCAGEM DE VEGETAIS

A contribuição dos vegetais na dieta dá-se, principalmente, como fonte de vitaminas e elementos minerais. Nos EUA, vegetais e frutas são responsáveis por, aproximadamente, 95% do total da vitamina C consumida, 50% da vitamina A, 30% da vitamina B6, 20% da niacina e tiamina e uma grande proporção dos elementos minerais no total da alimentação (Hurt, 1979). Na Inglaterra, 52% da vitamina C da dieta são dados somente por vegetais, sendo 24% devidos ao consumo de batata, 17% a vegetais verdes, 3% a raízes e 8% a outros tipos (Buss e Robertson, 1978). No Brasil, não existem dados tão objetivos.

As perdas de valor nutritivo, no que se refere a proteínas, lípides e carboidratos, são pouco relevantes nos produtos vegetais processados, devido ao fato de esses nutrientes serem mais estáveis às condições de processo (Harris e Von Loesecke, 1971).

Os vegetais, quando processados, sofrem sempre alguma perda nutricional, sendo as únicas exceções aqueles em que a disponibilidade do nutriente é aumentada, ou algum fator antinutricional é inativado (Bender, 1978). A aplicação de agentes químicos ou físicos para a manutenção da sanidade do produto deve ser efetuada de modo a minimizar essas perdas. O processamento de vegetais é realizado de maneira a conseguir a preservação do produto, melhora da palatabilidade e textura, destruição de toxinas e eliminação de microrganismos, mas envolve, quase que obrigatória-

mente, a aplicação de calor, e , em muitos casos, tratamentos com água. Ambos resultam em perda de nutrientes, mesmo que o processo seja conduzido de maneira cuidadosa (Bender, 1978; Harris e Von Loesecke, 1971).

Além das perdas no processamento, há significativos fatores pré-processamento que influenciam o conteúdo de nutrientes: variação genética (Richardson et al., 1937; Van Duyne et al., 1944; Noble, 1951; Nery, 1977; Augustin, 1978), grau de maturação (Wheeler et al., 1939 e Fonseca, 1968), época do ano (Potgieter e Greenwood, 1950), uso e tipo de fertilizante (Mack et al., 1939) e outras práticas de agricultura (Harris, 1971; Von Loesecke, 1971; Hollinsworth e Martin, 1972) além da estocagem pós-colheita (Ezell et al., 1956; Kramer, 1974; Reddy e Sistrunk, 1980).

A integridade dos tecidos, que pode ser comprometida durante colheita, estocagem e transporte, é um dos fatores mais importantes na preservação do ácido ascórbico. Em batatas, por exemplo, é muito comum a existência de partes batidas, que não são visíveis até que se descasque o produto. O conteúdo de vitamina é significativamente menor nessas amostras com o tecido lesado (Mondy et al., 1987).

Muitos trabalhos citam dados relativos à degradação de vitamina C, mas, na maior parte das vezes, restringem-se à análise de medidas tomadas imediatamente antes e após a conclusão de um dado processo ou período de estocagem. A Tabela 1 mostra alguns desses trabalhos, indicando os produtos e processos estudados.

TABELA 1. Processamento e estocagem de produtos vegetais estudados com relação ao teor final de vitamina C.

PRODUTO	PROCESSAMENTO *	REFERÊNCIAS
batata	CA e CV	Richarson et al., 1937
repolho	CA e CV	Wellington e Treeler, 1939
vegetais diversos	EA e ER	Wheeler et al., 1939
vegetais diversos	CA, CV e CM	Mc Intosh et al., 1940
ervilha, repolho, couve-flor e cenoura	CA	Brinkman, 1942
ervilha, cenoura, batata e brócoli	CA	Oser et al., 1943
aspargo e espinafre	CA e EC	Glein et al., 1944
repolho	CA, EA e EC	Van Duyne et al., 1944
batata	CA	Van Duyne et al., 1945
vegetais diversos	CA, EA e EC	Van Duyne et al., 1947
vegetais diversos	CA e CV	Noble e Hanig, 1948
espinafre, brócoli, cenoura, ervilha e vagem	CM	Proctor e Goldblith, 1948
vegetais diversos	CA	Krehl e Winters, 1950
couve	CA e CV	Potgieter e Greenwood, 1950
batata	CA e EC	Leichsering et al., 1957a
repolho, brócoli e ervilha	CM	Campbell et al., 1958
vegetais diversos	CA e CM	Gordon e Noble, 1959a
vegetais diversos	CA	Gordon e Noble, 1959b
vegetais diversos	BA e EC	Gordon e Noble, 1959c
vegetais diversos	CA	Sweeney et al., 1961
vegetais diversos	BA, BV e BM	Noble e Gordon, 1964
brócoli	CA e CM	Eheart e Gott, 1965
brócoli	BA	Eheart, 1969
vegetais diversos	CA e CM	Bowman et al., 1971
vegetais folhosos diversos	CA	Sood e Blat, 1974
brócoli	BA e BV	Odland e Eheart, 1975
batata	CA e CM	Augustin et al., 1981
vegetais diversos	EA	Elkins, 1979
vegetais diversos	CA	Keshinro e Ketiku, 1979
ervilha	CM	Mabesa e Baldwin, 1979
batata doce	CA, CV e CM	Reddy e Sistrunk, 1980
ervilha	CA e CM	Chung et al., 1981
vegetais diversos	BA e EC	Drake et al., 1981
vegetais diversos	BA, BV e BM	Lane et al., 1981
vegetais diversos	CA e CM	Gould e Colledge, 1989

\* As letras na coluna de processamento indicam:

CA = cozimento em água

CV = cozimento em vapor

CM = cozimento em microondas

BA = branqueamento em água

BV = branqueamento em vapor

BM = branqueamento em microondas

EA = estocagem à temperatura ambiente

ER = estocagem refrigerada

EC = estocagem congelada

Para prever realmente a perda desse e de outros nutrientes, em condições determinadas de processamento, um dos métodos mais eficientes é a análise de dados intermediários que permitam determinar a cinética de destruição (Tannenbaum, 1976; Hill e Grieger-Block, 1980; Lenz e Lund, 1980; Norback, 1980; Saguy e Karel, 1980).

Em alguns casos já se podia notar a preocupação de obter-se dados, tomando medidas durante os processamentos. Na Tabela 2, estão alguns desses trabalhos com a indicação dos produtos e processos utilizados.

Existem, ainda, trabalhos nesse sentido na área de cinética de destruição e de otimização de processos, mas, geralmente, enfocam somente alguns dos fatores que afetam a retenção da vitamina, como pode ser observado nos descritos abaixo.

A destruição de ácido ascórbico em suco de tomate foi estudada com relação à temperatura de estocagem, pH e concentração de íons de cobre, e foi encontrado que a reação seguia uma cinética de primeira ordem com respeito à concentração de ácido ascórbico. Assim, pôde ser desenvolvido um modelo para prever a estabilidade da vitamina nesse produto, que poderia simular, por exemplo, testes de vida de prateleira (Lee et al., 1977).

A otimização de processos de esterilização também tem sido feita, evitando-se, então, a perda de nutrientes e fatores de qualidade muito sensíveis a tratamentos térmicos severos. Para isso, torna-se necessário conhecer não só a transferência de calor no produto, mas também parâmetros cinéticos dos fatores que se pretende preservar (Jen et al., 1971; Thijssen et al., 1978).

TABELA 2. Perda de vitamina C em vegetais em função dos métodos de armazenamento e processamento

PRODUTO	PROCESSAMENTO	REFERÊNCIAS
repolho	Estocagem à temperatura ambiente e refrigerada por tempos variados (17,31,47,56,70 e 84 dias)	Gould et al., 1936
ervilha	Cozimento em água durante tempos variados (3,4, 5,6,7,8,10,12,14 min)	Fenton e Tressler, 1938
cenoura	Cozimento em água por tempos variáveis (2,4,6,8, 10,12,15 min)	Fenton et al., 1938
brócoli	Cozimento em água em diferentes tempos (2,5 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> , 11 min)	Barnes et al., 1943
vegetais diversos	Estocagem refrigerada por tempos diferenciados (24,48,72,96,120,168,216 horas)	Zepplin e Elvehjen, 1944
couve-flor e feijão	Estocagem congelada por tempos diversos (1,2,3, 4 meses)	Retzer et al., 1945
brócoli e espinafre	Estocagem congelada por diferentes tempos (20, 60,180 dias)	Fisher e Van Duyne, 1952
batata doce	Estocagem refrigerada durante tempos variáveis (11,18,25 semanas)	Ezzel et al., 1956
couve-flor, vagem e ervilha	Estocagem refrigerada por diferentes tempos (7, 14,21,28,42,56 dias). Foram feitas curvas de perda de vitamina C pelo tempo.	Dietrich et al., 1957
brócoli	Cozimento em microondas por tempos variáveis (3,6,9,12 min)	Chapman et al., 1960
brócoli	Cozimento em água e vapor(5,10,15,20,25 min). Foram feitas curvas de perda de vitamina pelo tempo	Martin et al., 1960
vegetais diversos	Cozimento em água até o amolecimento e "supercozimento" por tempos diversos (5,10,50 min)	Noble, 1967
batata	Cozimento em água por diferentes tempos (2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> , 7 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> ,10,20,30 min) e diversas temperaturas (25, 40,60,80°C).Foram feitas curvas de perda de vitamina em relação a essas variáveis.	Boushell e Potter, 1980
ervilha	Branqueamento em água e vapor(1,2,3,4,5 min). Foram feitas curvas de perda da vitamina pelo tempo	Lathrop e Leung, 1980
batata	Branqueamento em água por tempos diversos (4,8, 12,16,20,24 min)	Kozempel et al., 1983
batata	Branqueamento em água por diferentes tempos (5, 10,15 min) e temperaturas (66,77,88°C)	Artz et al., 1983
batata	Branqueamento em água por tempos e temperaturas diferenciados (65,73,80,90,100°C). Foram feitas curvas de perda de vitamina com relação a essas variáveis.	Kincal e Giray, 1987
batata	Estocagem à temperatura ambiente e refrigerada por tempos diversos(3,6,12 semanas). Foram feitas curvas de perda de vitamina pelo tempo.	Mondy et al., 1987
batata	Branqueamento em água por diferentes tempos e temperaturas (50,65°C). Foram feitas curvas de perda da vitamina com relação ao tempo nas diferentes temperaturas.	Garrote et al., 1989

Muitas vezes, nem as próprias ordens ou mecanismos de reação são de consenso entre os vários autores. Com relação, por exemplo, ao efeito do oxigênio, são citadas cinéticas de primeira (Weisberg e LuValle, 1944; Sakay et al., 1987) e segunda ordem (Eison-Pechonok e Doves, 1982), dependendo das condições (temperatura, quantidade de oxigênio dissolvida na solução, etc) em que a análise foi feita.

O efeito de íons metálicos na catalização da reação de oxidação da vitamina tem sido estudado (Joslyn e Miller, 1949; Miller e Joslyn, 1949 a; Miller e Joslyn, 1949 b; Khan e Martell, 1967a; Khan e Martell, 1967 b). A cinética de destruição do ácido ascórbico tem, também, sido considerada com relação à atividade de água (Labuza, 1972; Lee e Labuza, 1975) e altas temperaturas (Lain et al., 1978), e observou-se que a reação segue uma cinética de primeira ordem.

Existem, ainda, discordâncias quanto ao próprio mecanismo de oxidação do ácido ascórbico. A cinética de oxidação do ácido ascórbico a dehidroascórbico, e deste a ácido dicetogulônico, foi estudada, e constatou-se que poderia haver oxidação do ácido ascórbico sem a formação do intermediário dehidroascórbico, e degradação deste em outros compostos que não ácido dicetogulônico (Hugues, 1985).

A maioria dos trabalhos discutidos acima foi feita com sistemas-modelo, não levando em conta a distribuição do nutriente no vegetal e possíveis interações com outros compostos e dificultando, assim, a extrapolação dos dados para vegetais específicos.

#### 4.1. Cozimento em água

A literatura, quando se refere a perda de vitamina C por cozimento em água, mostra sempre diminuições relevantes do teor desse nutriente no produto final, mas, na maioria das vezes, não fornere uma justificativa para esse fato.

Em trabalhos onde a água de cozimento foi analisada, pode ser constatado nela um nível elevado de vitamina, indicando, assim, que a solubilização seria um fator importante de perda para o cozimento em água de vegetais em geral (Gould et al., 1936; Wellington e Treeler, 1939 ; Simpson, 1943; Noble e Hanig, 1948; Sood e Bhat, 1974) . O mesmo foi observado para feijão (Mack et al., 1939), ervilha (Oser et al., 1943; Lathrop e Leung, 1980), brócoli (Oser et al., 1943), batata (Oser et al., 1943; Artz et al., 1983), e couve (Potgieter e Greenwood, 1950).

Para vegetais diversos, encontrou-se que a porcentagem de ácido ascórbico dissolvida na água de cozimento ficava em torno de 38%. Aproximadamente 15% da vitamina não estava presente nem no vegetal cozido nem na água, tendo sido degradada (Noble, 1967). Para batatas, também foi constatado que as perdas de vitamina C no processamento eram devidas à degradação térmica e lixiviação (Boushell e Potter, 1980). Para ervilha, foram observadas perdas em torno de 7% (Van Duyne et al., 1947) e 15% (Lathrop e Leung, 1980). O mesmo foi constatado para o cozimento de brócoli, com degradação de 12% da vitamina inicial (Barnes et al., 1943) e repolho, 30% (Van Duyne et al., 1944).

Mais recentemente, foi desenvolvido um modelo matemático para descrição do arraste de sólidos solúveis, açúcares e vários minerais durante o cozimento de batatas em água (Kozempel et al., 1981). Esse modelo, baseado somente em difusão, foi utilizado com sucesso para prever a perda de vitaminas hidrossolúveis, entre elas a vitamina C, mostrando que, à baixas temperaturas (no caso 77°C), a perda de vitamina C no branqueamento não era devida à degradação térmica (Kozempel, 1982).

Para batatas, também foi constatado que as perdas de vitamina C durante o branqueamento foram devidas à difusão e não à degradação térmica ou enzimática. Os autores constataram, ainda, que a taxa de difusão da vitamina das batatas para a água aumentou com a elevação da temperatura. A difusividade cresceu muito entre 50°C e 65°C, de 65°C a 100°C esse aumento foi menos expressivo (Garrote et al., 1989).

O tempo de cozimento também tem sido um dos fatores avaliados. Para vegetais diversos, o cozimento, durante 5 a 10 minutos, após o tempo necessário para cozinhar adequadamente as amostras, não implicou em um aumento nas perdas de ácido ascórbico (Noble, 1967). O mesmo foi constatado para ervilhas, com o aumento do tempo de cozimento de 8 para 14 minutos (Fenton e Tressler, 1938), para brócoli, com o tempo variando de 5 1/2 a 11 minutos (Barnes et al., 1943), e para repolho, com variações no tempo de cozimento de 7 para 15 e 25 minutos (Van Duyne et al., 1944).

Para o cozimento de batatas, foi constatado que a perda de vitamina C foi mais intensa durante os primeiros 10 minutos. Os autores consideraram que, com o aumento do tempo de cozimento,

ocorre a gelatinização do amido, que, possivelmente, protege a vitamina C contra a lixiviação por "selar" a superfície (Boushell e Potter, 1980).

Para couve, variações no tempo de cozimento tiveram um efeito muito menor do que alterações na quantidade de água. (Potgieter e Greenwood, 1950).

A importância da quantidade de água utilizada no cozimento também tem sido estudada. A Tabela 3 mostra que, para vegetais diversos, ocorre uma diminuição no teor de vitamina C no produto com o aumento da proporção água/produto no cozimento.

TABELA 3: Alteração no teor de vitamina C com o aumento da quantidade de água no cozimento.

ALTERAÇÃO NA PROPORÇÃO DE ÁGUA/PRODUTO NO COZIMENTO	PRODUTO	ALTERAÇÃO NA RETENÇÃO DE VITAMINA C NO PRODUTO	REFERÊNCIAS
0,03/1 para 0,8/1	ervilha	86% para 68%	Oser et al., 1943
0,3/1 para 1/1	batata	98% para 88%	
0,3/1 para 3,5/1	brócoli	95% para 56%	
0,4/1 para 3/1 e 6/1	couve	77,8% para 55,7% e 41,5	Potgieter e Greenwood, 1950
1/4 para uma quantidade de água suficiente para cobrir o vegetal	aspargos	66,4% para 42,5%	Krehl e Winters, 1950
	beterraba	87,3% para 74,0%	
	brócoli	68,7% para 50,0%	
	repolho	57,4% para 44,3%	
	vagem	64,0% para 58,5%	
	ervilha	70,0% para 51,3%	
	batata	48,4% para 41,0%	
	espinafre	51,7% para 49,1%	
0,5/1 para 4/1	brócoli	74,2% para 44,8%	Eheart e Gott, 1965
	vagem	76,0% para 59,6%	

Com o aumento da quantidade de água no cozimento, paralelamente à diminuição de vitamina C no produto, ocorre, também, um aumento na solubilização da vitamina. A literatura diverge quanto à alteração no teor total de vitamina não degradada (retida no produto e solubilizada), como pode ser observado nos trabalhos discutidos abaixo.

Para ervilha cozida nas proporções de água/vegetal de 0,5/1 e 2/1 houve uma retenção de vitamina C de 74% e 50% no produto, solubilização de 19% e 44% na água de cozimento, e perdas totais de 7% e 6%, respectivamente (Van Duyne et al., 1947).

Para aspargos, obteve-se uma retenção de ácido ascórbico de 81% no produto e solubilização de 22% na solução e retenção de 88% no produto e solubilização de 14% na solução, para cozimento em 1200 ml e 60 ml de água, respectivamente. A quantidade de vitamina solubilizada aumentou com o aumento da quantidade de água, mas não houve alteração no teor de vitamina total (Glein et al., 1944).

O teor de vitamina C de diversas variedades de vagens cozidas em água foi estudado. No primeiro caso, foi colocada, em panela aberta, água suficiente para cobrir o produto durante o período de cozimento (15 a 26 minutos) e, no segundo, o vegetal foi cozido em panela coberta com água apenas suficiente para não queimar por 2 1/4 a 6 1/4 minutos. Em média, foram obtidas retenções de 60% e 71% no produto e solubilização de 13% e 4% na água de cozimento, para panela aberta e coberta respectivamente, não havendo diferença nas perdas totais (17% e 15%) (Noble e Gordon, 1956). No caso de repolho, foram obtidas retenções de ácido as-

córbico de 66% e 26% no produto, solubilização de 8% e 50% na água, e degradação de 26% e 24% da vitamina inicial, para panela coberta e aberta, respectivamente. Com espinafre, foram obtidas retenções da vitamina de 63% e 44% no produto, solubilização de 13% e 39% na água, e perdas de 14% e 17% no total, relativos à panela coberta e aberta (Noble e Hanig, 1948).

Em outros casos, como pode ser observado abaixo, foi constatada uma diminuição do teor total de vitamina, indicando, além do aumento na solubilização, houve uma maior degradação.

Foram observadas diferenças nas perdas totais de ácido ascórbico no cozimento de diversos produtos, quando se trabalhou nas mesmas condições descritas no trabalho anterior, panela coberta com o mínimo possível de água e panela aberta com água suficiente para cobrir o produto durante todo o cozimento. Para couve-flor, retenções de 55% e 37% no produto, solubilização de 4% e 56% na água, e degradação de 41% e 7% da vitamina inicial, correspondendo ao cozimento em panela coberta e aberta. Com ervilhas, foram observadas, para panela coberta e aberta, retenções de ácido ascórbico de 66% e 43% no produto, solubilização de 7% e 38% na água, e perdas de 27% e 19% no total. No caso de aspargos, as retenções foram de 71% e 43% no produto, solubilização de 9% e 20% na água, e perdas de 20% e 37% da vitamina no total, para panela coberta e aberta, respectivamente (Noble e Hanig, 1948). Para repolho, foram observadas retenções de ácido ascórbico de 34% e 64% no produto, solubilização de 47% e 5% na água, e degradação de 19% e 31% no total, relativos à panela aberta e fechada (Noble, 1951).

Para repolho cozido nas proporções água/produto 0,5/1, 2/1 e 4/1, foram constatadas as porcentagens de retenção 79%, 60% e 51% no produto; solubilização de 12%, 24% e 20% na água e 10%, 16% e 29% de perdas totais (Van Duyne et al., 1944).

A proporção água/produto no cozimento é um fator limitante no aumento das perdas até atingir um determinado valor. A partir daí, um aumento nessa proporção não implica em maiores perdas. Para brócoli, com uma modificação na quantidade de água no cozimento de 100 ml para 500 ml e 1000 ml, foram obtidas porcentagens de retenção de vitamina C de 82%, 57% e 53% no produto; solubilização de 10%, 32% e 37% na água de cozimento e degradação de 8%, 11% e 10% da vitamina inicial, respectivamente (Barnes et al., 1943). Foi encontrado que, para pastinaca, uma alteração na quantidade de água de 500 ml para 750 ml não alterou a retenção no produto (81% e 83% respectivamente), a solubilização (10% e 8% respectivamente) ou as perdas por degradação (9% nos dois casos) (Brown e Fenton, 1942).

A literatura faz referência à influência de pró-oxidantes na estabilidade de vitamina C (Mack e Kertesz, 1936; Joslyn e Miller, 1949; Miller e Joslyn, 1949 a; Miller e Joslyn, 1949 b; Khan e Martell, 1967 a; Khan e Martell, 1967 b), mas, geralmente, os estudos são feitos com sistemas-modelo.

A água utilizada no cozimento poderia conter íons catalisadores da degradação da vitamina. A presença de íons metálicos poderia, ainda, estar relacionada ao material do recipiente utilizado para o cozimento dos produtos (Simpson, 1943).

Recipientes de pirex e esmaltados mostraram ser inertes e não influenciar na degradação da vitamina C (Floyd e Fraps, 1940; Brown et al., 1941; Brown e Fenton, 1942; Barnes et al., 1943).

O efeito da utilização de recipientes de alumínio e de aço inox não foi de consenso geral. Para cozimento de brócoli, esses materiais foram considerados inertes (Barnes et al., 1943). Para nabo, foi observado um aumento na perda de vitamina com a utilização de alumínio (Floyd e Fraps, 1940). Para pastinaca, com a utilização de recipientes de alumínio e aço inox, foi observada perda de vitamina C no produto e na vitamina solubilizada na água de cozimento, indicando um aumento na degradação da vitamina (Brown e Fenton, 1942).

#### 4.2. Cozimento em vapor

A literatura mostra também resultados diversos, quando se compara a perda de vitamina C no cozimento em vapor com o cozimento em água, como pode ser observado nos trabalhos abaixo.

Não foi encontrada diferença significativa entre o processamento em água e vapor para cenoura (Brinkman et al., 1942), ervilha (Brinkman et al., 1942; Lane et al., 1985), vagem (Brinkman et al., 1942; Noble e Gordon, 1964; Drake et al., 1981; Lane et al., 1985), batata (Van Duyne et al., 1945; Reddy e Sistrunk, 1980), aspargo (Noble e Gordon, 1964; Drake et al., 1981), e brócoli (Odland e Eheart, 1975).

Em outros casos, foi detectada uma maior retenção da vitamina C no processamento em vapor, para couve-flor (Retzer et al., 1945) e brócoli (Noble e Gordon, 1964), e no cozimento em água, para milho e ervilha (Drake et al., 1981).

É importante salientar que, nos trabalhos citados acima, não foi feita a determinação de vitamina C na água de cozimento.

A Tabela 4 mostra, para vegetais diversos, as retenções obtidas, o teor solubilizado e a porcentagem de vitamina degradada nos dois tipos de processamento.

Pela análise da tabela 4, o processamento em vapor mostrou ser menos danoso à vitamina, obtendo-se melhores retenções de vitamina C no produto. Quando a vitamina C solubilizada foi quantificada, pôde-se observar que a degradação foi maior no cozimento em vapor. Uma vez que a solubilização não foi tão expressiva, as perdas foram mais associadas à oxidação da vitamina.

A enzima oxidase do ácido ascórbico possui alta especificidade para este composto (Dawson e Magee, 1955). Sua presença tem sido constatada em vegetais, frutas e cereais diversos (Lovett et al., 1940; Mc Combs, 1957; Douglas, 1977; Grant e Sood, 1980; Schwimmer, 1981).

Os trabalhos encontrados na área tratam da purificação e caracterização da enzima (Tokuyama et al., 1965; Moller e Poucke, 1970; Lee e Dawson, 1973), sua distribuição nos tecidos (Hallaway et al., 1977), estudos sobre a especificidade do substrato (Marchesini, 1977), e utilização na determinação de oxigênio (Esaka et al., 1985).

TABELA 4: Comparação entre os cozimentos em água e vapor com relação ao teor de vitamina C retida no produto, solubilizada e degradada no processamento.

VEGETAL	COZIMENTO EM VAPOR			COZIMENTO EM ÁGUA			REFERÊNCIAS
	R	S	D	R	S	D	
cenoura	86	-	14	56	33	11	Fenton et al., 1938
ervilha	68	18	14	70	18	12	Mc Intosh et al., 1940
espinafre	73	20	7	70	26	4	
brócoli	79	-	21	60	30	10	Barnes et al., 1943
repolho	67	6	27	26	50	24	Noble e Hanig, 1948
couve-flor	71	4	25	37	56	7	
ervilha	66	14	20	43	38	19	
aspargo	78	8	14	43	20	37	
espinafre	64	13	23	44	39	17	
repolho	68	4	28	34	47	19	Noble, 1951
vagem	76	2	12	60	13	17	Noble e Gordon, 1956
aspargos	78	8	14	43	25	32	Gordon e Noble, 1959 b
brócoli	79	3	18	33	63	4	
cebola	67	27	6	36	58	6	
ervilha	68	11	21	46	32	22	
espinafre	64	12	24	45	39	16	
nabo	61	8	31	45	29	26	

As letras indicam:

R = porcentagem de vitamina C retida no produto

S = porcentagem de vitamina C solubilizada na água

D = porcentagem de vitamina C degradada

Obs: Em vários trabalhos não constam os valores de S no cozimento em vapor, uma vez que os cozedores utilizados não permitiam a solubilização.

### 4.3. Cozimento em microondas

Não existe consenso entre os trabalhos consultados na literatura, quando se compara a perda de vitamina C no cozimento em microondas com outros métodos de cozimento mais tradicionais. Numa revisão dos dados sobre perda de vitamina C em microondas (Lorenz, 1976), foi descrito que as diferenças nos métodos de cozimento (variação no tempo de cozimento, proporção água/vegetal, tamanho das amostras utilizadas, etc), além da variabilidade da matéria prima, faziam com que a comparação entre dados de diferentes laboratórios fosse difícil e, algumas vezes, explicavam a discrepância dos resultados obtidos pelos pesquisadores.

Não foi encontrada diferença significativa no teor de vitamina C entre o cozimento de ervilhas em água ou em microondas (Chung et al., 1981). No estudo do cozimento, em água e em microondas (sem a adição de água), de brócoli congelado, não foi também observada diferença significativa entre os dois processos (Martin et al., 1960). O branqueamento em água não mostrou diferenças significativas, ao nível de 5%, no teor de vitamina C do tratamento em microondas, quando se utilizou como amostra vagem, abóbora, mostarda e ervilhas (Lane et al., 1985).

A retenção de ácido ascórbico em seis vegetais congelados (Gould e Gollidge, 1989) e em repolho e brócoli (Campbell et al., 1958) mostrou ser significativamente maior para o processo em microondas do que para o cozimento em água.

A comparação do cozimento de espinafre por método tradicional e microondas mostrou uma retenção maior no segundo proces-

so (52% para microondas contra 45% para cozimento em água) (Klein et al., 1981). O mesmo comportamento foi constatado para brócoli, que apresentou uma maior retenção quando cozido em microondas (89%), do que em água (72%) (Chapman et al., 1960).

Para batatas, foi observada uma menor perda de vitamina C em um branqueamento combinando microondas e água em ebulição, do que no processamento só com água (Canet e Hill, 1987).

Foi estudada a influência dos tempos de cozimento e da quantidade de água adicionada durante o cozimento de ervilha por diferentes métodos (cozimento em água, cozimento em microondas com e sem adição de água). Os autores observaram que a adição de água e a variação no tempo de cozimento afetavam o conteúdo de ácido ascórbico independentemente do método de cozimento. O cozimento em microondas sem água mostrou ser o mais eficiente na retenção da vitamina (87,2%) (Mabesa e Baldwin, 1979).

A comparação entre as perdas de vitamina C, ocorridas durante o cozimento de diversos vegetais em água e microondas, mostrou a importância da avaliação da solubilização, quando se pretendia comparar os dois processos. No cozimento em microondas, as retenções foram de 80%, 90%, e 87% para repolho, couve-flor e brócoli, respectivamente; no cozimento em água, 38%, 73% e 45% nos mesmos vegetais. Quando foi considerada a vitamina solubilizada na água, foram obtidos 15%, 11% e 0% de perdas, para cozimento em água, e 16%, 6% e 6% para microondas, relativos a repolho, couve-flor e brócoli (Gordon e Noble, 1959 a).

A análise dos trabalhos acima indicou uma superioridade do processo em microondas na retenção de vitamina C no produto.

#### 4.4. Estocagem à temperatura ambiente, refrigerada e congelada

A estocagem à temperatura ambiente de produtos vegetais causa diminuições expressivas no teor de vitamina C desses produtos, como pode ser observado nos casos citados abaixo.

A estocagem de batata doce, a 15°C, durante 6 meses, mostrou perdas significativas da vitamina (em torno de 50%) (Ezell et al., 1956).

Foi observado, em batatas cozidas de diferentes variedades, um decréscimo significativo em seu teor de ácido ascórbico após estocagem por 1 dia, a 1°C. A estocagem por 15 semanas à mesma temperatura, mostrou uma retenção abaixo de 60%, com perdas ocorrendo continuamente durante o período de estocagem, sendo, no entanto, mais rápidas durante as primeiras seis semanas (Leichsering et al., 1957a).

O estudo da perda de vitamina C, em repolho, mostrou a importância da temperatura de estocagem. À temperatura ambiente por 56 dias, a retenção de vitamina C no produto foi de 66%, quando estocado de 8°C a 9°C, obteve-se uma retenção de 63% em 84 dias, e, no mesmo período de tempo, a temperaturas entre 1°C e 3°C, 66% de retenção. A estocagem de repolho cozido a 1°C-3°C mostrou um rápido e linear decréscimo em dois dias, chegando a perdas de, aproximadamente, 50% da vitamina inicial (Gould et al., 1936).

Para aspargo e espinafre, foram constatadas perdas no teor de ácido ascórbico de 40% e 29%, respectivamente, após a es-

tocagem por 24 horas na faixa de 18°C a 25°C. Durante a estocagem por uma semana dos mesmos vegetais, a temperaturas entre 0°C e 4,4°C, as perdas foram de 57% e 35% (Glein et al., 1944).

Em outro estudo, foram observadas perdas muito significativas de ácido ascórbico em vegetais, à temperatura ambiente (20°C a 23°C). Espinafre e alface, perderam em torno de 70% após 48 horas; após 96 horas foram constatadas perdas de 80% para brócoli, 30% para vagem e 85% para acelga. A estocagem refrigerada permitiu um maior tempo de vida de prateleira e maior retenção do ácido ascórbico. Para espinafre e alface, a perda foi ao redor de 60% após 96 horas, e, para vagem, de apenas 5% após o mesmo período de tempo. Após 216 horas, foi constatada perda entre 60 e 65 % para brócoli (Zepplin e Elvehjem, 1944).

A estocagem de brócoli em geladeira (4,4°C) mostrou perdas de 19% no teor de vitamina C em 24 horas de estocagem, e 34%, em 48 horas (Barnes et al., 1943).

Outro estudo sobre a perda de vitamina C em vegetais (brócoli, endiva, alface e espinafre) mostrou também uma redução rápida no teor da vitamina à temperatura ambiente: em média 50% após 3 a 4 dias. A estocagem refrigerada (2 semanas, 1°C a 3°C) reduziu drasticamente as perdas, sendo obtida, no caso de brócoli, aproximadamente, 100% de retenção (Wheller et al., 1939).

Para doze vegetais folhosos, foi comparada a perda de vitamina C à temperatura ambiente e sob refrigeração. A maioria dos vegetais apresentou perdas de 70 a 89% do teor inicial da vitamina após 24 horas. A refrigeração diminuiu as perdas de vitamina em todos os casos (Kailasapathy e Koneshan, 1986).

Estudando as alterações no teor de ácido ascórbico em vegetais estocados congelados, foi observado que o teor da vitamina poderia ser utilizado como um índice de qualidade desses produtos. Os autores trabalharam com couve-flor e constataram uma queda constante e linear no período de 56 dias de estocagem à temperatura de  $-6^{\circ}\text{C}$ , correspondente a uma perda final de 44 % (Dietrich et al., 1957).

A estocagem congelada de brócoli ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) indicou uma perda no teor de ácido ascórbico inferior a 20% após 25 semanas (Martin et al., 1960). Outros autores, trabalhando também com brócoli, observaram, após o branqueamento e uma semana de estocagem, retenção de, aproximadamente, 60%, e, depois de 6 meses, retenção em torno de 50% (Odland e Eheart, 1975).

Pequenas alterações na temperatura de estocagem congelada podem ter grande importância na conservação da vitamina. Para se obter a mesma modificação no conteúdo inicial de ácido ascórbico em couve-flor foram necessários 291 dias a  $-18^{\circ}\text{C}$ , 140 dias a  $-15^{\circ}\text{C}$ , 67 dias a  $-12^{\circ}\text{C}$ , 32 dias a  $-9,4^{\circ}\text{C}$ , 16 dias a  $-6,7^{\circ}\text{C}$  ou 8 dias a  $-4^{\circ}\text{C}$  (Dietrich et al., 1962).

A estocagem congelada de vegetais, durante o período de um ano, mostrou perdas de vitamina C que variavam de acordo com a temperatura e matéria prima utilizada. Após estocagem durante 12 meses a  $-12^{\circ}\text{C}$ ,  $-18^{\circ}\text{C}$  e  $-29^{\circ}\text{C}$  foram obtidas retenções de 10%, 100% e 100% para aspargos; 5%, 70% e 70% para vagem; 15%, 75% e 90% para brócoli; e 10%, 45% e 90% para espinafre. Em todos os casos, o abaixamento da temperatura de estocagem diminuiu sensivelmente as perdas de ácido ascórbico (Guerrant, 1957).

A importância do branqueamento anterior à estocagem congelada de produtos pode ser constatada num estudo com vagem, onde foi observada uma maior perda de ácido ascórbico no produto não branqueado e estocado congelado, do que nas vagens que sofreram um branqueamento inicial. À medida que o produto permaneceu estocado (período de 1 ano) essa diferença aumentou ainda mais (Farrell e Fellers, 1942).

O branqueamento e estocagem congelada de vegetais (-18°C por 6 meses) mostrou que, embora variando em grau de vegetal a vegetal, a perda inicial no branqueamento era maior que a resultante de qualquer estágio posterior do processo. Foi constatado um decréscimo variável no teor de vitamina C para cada vegetal, com a obtenção de porcentagem de retenção de vitamina de 88% para aspargos, 65% para brócoli, 67% para couve de Bruxelas e 47% para vagem (Gordon e Noble, 1959 b).

Em branqueadores industriais, as perdas ocorrem não só durante o branqueamento propriamente dito, mas também durante o resfriamento das amostras (Poulsen, 1986).

Quanto ao processo utilizado para o branqueamento, foi observado, para vegetais diversos (espinafre, ervilha, vagem, brócoli e cenoura), que o branqueamento em microondas apresentava vantagens. O tempo necessário (em torno de 30 seg) era muito inferior ao que deveria ser utilizado para branqueamento em água ou vapor. A retenção de vitamina C foi superior à obtida nos outros métodos (Proctor e Goldblith, 1948).

O branqueamento em água, vapor e microondas mostrou diferenças quanto ao teor final de vitamina C no produto. Para as-

pargos e vagem, o branqueamento em água e vapor apresentou uma maior retenção da vitamina do que o processo em microondas. Para ervilha e milho verde, o branqueamento em água foi significativamente melhor do que o processamento a vapor ou microondas (Drake et al., 1981).

Não houve diferença significativa na quantidade de ácido ascórbico presente em feijão (snap beans) congelado, preparado por branqueamento em água ou vapor, seguido por resfriamento em água, nem diferenças após 1, 3, 6 e 9 meses de estocagem congelada. Resultados similares foram obtidos para couve-flor (Retzer et al., 1945).

A peroxidase foi adotada como o indicador em testes de branqueamento por ser a enzima com maior estabilidade térmica. Além disso, está presente, praticamente, em todos os vegetais e pode ser facilmente detectada (Schwimmer, 1981; Vámos-Vigyázó, 1981).

Estudando o efeito da presença de peroxidase em ervilhas congeladas, foi constatada a importância de um branqueamento adequado na conservação do ácido ascórbico. Tempos muito curtos de branqueamento levavam a uma perda expressiva da vitamina durante o período de estocagem, uma vez que a atividade enzimática ainda era elevada. Tempos superiores ao necessário para inativar a enzima davam amostras com cor e flavor inferiores. Segundo os autores, a peroxidase poderia ser utilizada como um índice de branqueamento que garantisse tanto as condições organolépticas do produto, quanto o teor de vitamina C (Dietrich et al., 1955).

O estudo com couve de Bruxelas, branqueada em variados graus de inativação da enzima, mostrou que o teste qualitativo para a detecção de peroxidase poderia ser usado como um índice satisfatório da adequação do branqueamento, oferecendo uma margem de segurança nas operações (Masure et al., 1953).

O uso de peroxidase como indicador apresenta alguns problemas, geralmente por superestimar o tempo necessário para o branqueamento. Existem indicações de que as qualidades organolépticas de um produto congelado seriam superiores se, após o congelamento, houvesse alguma atividade residual da enzima (Whitaker, 1972; Schwimmer, 1981).

Foi constatado que amostras que apresentavam taxa residual de atividade de peroxidase, mantiveram o ácido ascórbico após a estocagem congelada (Fisher e Van Duyne, 1952).

### III - MATERIAIS E MÉTODOS

#### 1. MATERIAIS

##### 1.1. Matéria prima

Foram utilizados como matéria prima couve-flor, couve e pimentão. Quanto à procedência dos vegetais, couve-flor e pimentão foram adquiridos no Mercado Municipal e a couve foi comprada em uma horta diretamente do produtor, tendo-se o cuidado de manter sempre os mesmos fornecedores durante a realização do trabalho.

##### 1.2. Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes, com grau de pureza para análise:

- Ácido acético glacial, Merck
- Ácido clorídrico, Merck
- Ácido oxálico, Merck
- Ácido metafosfórico, Riedel-deHaen
- Ácido L(+)-ascórbico, Merck
- Bicarbonato de sódio, Merck
- Carbonato de cálcio, Merck
- Cloreto de sódio, Merck
- Cloreto de amônio, Merck

- 2,6-diclorofenolindofenol, sal sódico dihidrato, Riedel-deHaen

- EDTA
- Fosfato dibásico de potássio anidro, Ecibra
- Fosfato monobásico de potássio anidro, Química Moderna
- Guaiacol,
- Peróxido de hidrogênio 30%, Merck
- Vermelho de metila,
- Preto ericromo T,

### 1.3. Equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Balança analítica Sauter, mod. D7470
- Balança semi-analítica eletrônica Acatec, mod. BEC1000
- Banho maria Fanem, mod. 102/1
- Bomba de vácuo Primar, mod. 141
- Chapa elétrica Metalúrgica Borges, 220 V
- Fogão Metal Yanes, 2 bocas
- Forno de microondas Panasonic, 700 W
- Freezer Consul 280L, com compartimento de congelamento rápido
- Liquidificador Arno, mod. LIR-C
- pH-metro Micronal, mod. B374
- Refrigerador Consul 280L, mod. SL

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. Determinação do ácido ascórbico

Foi escolhido um método baseado na oxidação do ácido ascórbico, pois apesar de algumas limitações (item 3.1 da Revisão), é um método eficiente e de fácil execução. O método empregado para a determinação de ácido ascórbico foi o padrão da ADAC (1984 b), modificado de maneira a melhor se adaptar aos objetivos do trabalho.

Amostras de 25 g foram homogeneizadas com 50 ml de solução de extração (ácido oxálico 2%) em liquidificador por dois minutos. Uma alíquota de 10g foi tomada e diluída com a mesma solução extratora para 50ml em balão volumétrico. Uma alíquota de volume conveniente dessa solução foi titulada com 2,6-diclorofenolindofenol 0,01%, sendo o ponto de viragem detectado visualmente.

#### 2.1.1. Amostragem

A importância de uma amostragem bem realizada foi constatada. Nos testes preliminares, pudemos observar que, em processamentos com couve-flor, sempre eram obtidos os menores desvios padrão e, conseqüentemente, as melhores curvas. Todas as amostras haviam sido retiradas da mesma couve-flor, assim, apesar de algumas diferenças no teor de vitamina C, devida à variação na distribuição da vitamina no próprio vegetal, haveria uma uniformidade muito maior que em outros casos. Para que se pudesse obter resultados melhores e curvas mais confiáveis, a uniformização das amostras utilizadas foi um dos pontos mais relevantes, sendo selecionadas sempre porções morfológicamente similares do produto.

Foram analisadas amostras de couve, pimentão e couve-flor. Na escolha dos vegetais foram considerados:

- o teor de ácido ascórbico;
- possibilidade de se obter uma boa amostragem e disponibilidade de compra de matéria prima em boas condições e grau semelhante de maturação durante o tempo de realização do trabalho, tendo em vista que as amostras deveriam ser o mais frescas possível;
- a diversidade de formas, textura, cor e composição entre os vegetais escolhidos.

A amostragem desses vegetais representa uma séria dificuldade, considerando-se a distribuição não uniforme da vitamina no vegetal. Temos, por exemplo, diferenças razoáveis no teor de vitamina entre o talo e cabeça no caso da couve-flor. Essas diferenças entre partes diversas também foram detectadas para ruibarbo (Brown et al., 1941), batata doce (Scoular e Eackle, 1943), brócoli ( Wheeler et al., 1939; Barnes et al., 1943; Martin et al., 1960 ) e couve-flor (Wheeler et al., 1939).

Foram testadas porções maiores do que 25g de amostra, mas a experiência mostrou que não se conseguia uma extração maior. Quanto a quantidades menores, em alguns casos não tivemos uma amostragem adequada. Assim, esse valor de 25 g foi escolhido para todos os vegetais, dando uma amostragem representativa, economia de solvente e amostra, e maior facilidade de manipulação.

Os vegetais foram limpos e lavados com água destilada antes dos tratamentos. Foram ainda removidas partes não comestíveis (sementes do pimentão, talos da couve e couve-flor) e pedaços estragados.

## 2.1.2. Extração

### 2.1.2.1. Escolha da solução de extração

Existem diversas soluções propostas para a extração da vitamina, mas duas se destacam e foram testadas em laboratório: ácido metafosfórico e ácido oxálico. Foram utilizadas soluções de ácido oxálico 2% e ácido metafosfórico 3%- ácido acético 8%.

A maioria dos trabalhos revistos utiliza o ácido metafosfórico, mas existem citações na literatura mostrando que o ácido oxálico poderia ser usado para substituir o ácido metafosfórico.

Na escolha da solução de extração foram levados em conta a cor, turbidez e a estabilidade dos extratos obtidos.

Os dados obtidos, usando os dois ácidos, foram semelhantes e coerentes com os citados em literatura, possibilitando a utilização do ácido oxálico (item 1.1 dos Resultados).

### 2.1.2.2. Quantidade de solução de extração

Na literatura, as proporções entre solução de extração/amostra variam muito de autor para autor, e de acordo com a amostra utilizada. Por exemplo, um vegetal com muito amido exige mais solvente. Relações de 7:1 e 4:1 têm sido recomendadas (Pointing, 1943; Olliver, 1967 a).

A quantidade utilizada de 50 g (aproximadamente 50 ml) foi suficiente para um batimento homogêneo e uma boa extração. Em alguns casos, uma quantidade menor poderia ser usada, mas preferimos padronizar o método para todas as amostras. O uso de mais

solvente não seria interessante do ponto de vista econômico, nem do ponto de vista prático, já que a quantidade inicial de vitamina poderia ser muito diluída, dificultando sua determinação.

A diluição de uma alíquota da amostra a 50 ml foi feita para facilitar a manipulação e filtração do extrato. Geralmente, toma-se uma alíquota de 10 ml, mas, em caso de necessidade, quando a quantidade de vitamina for muito baixa, podemos aumentar para 20 ou 30 ml, dando maior flexibilidade à análise.

### **2.1.2.3. Concentração da solução**

Pelos dados de literatura, temos diferentes concentrações de solução de ácido oxálico para a extração. Os valores mais constantemente citados estão na faixa de 0,5 % (Campbell et al., 1958; Dietrich et al., 1962) a 2 % (Kincal e Giray, 1987).

A solução de ácido oxálico 2 % foi testada e mostrou ser estável na estocagem e eficiente na extração (item 1.1 dos Resultados). Uma maior concentração só seria usada se fosse comprovada sua necessidade para a estabilização da vitamina em solução.

### **2.1.2.4. Homogeneização da amostra**

A amostra e a solução são pesadas diretamente em um recipiente de plástico que se acopla ao copo do liquidificador e, então, são homogeneizadas.

O tempo de homogeneização é dado, na literatura, como variando de um a três minutos. Após teste em laboratório, o tempo de dois minutos mostrou ser o mais adequado (item 1.2 dos Resultados).

### 2.1.2.5. Método de extração

A extração consiste em homogeneizar uma dada quantidade de amostra com um solvente, filtrar essa solução e tomar uma alíquota onde se medirá a vitamina. Esse procedimento não é de execução fácil, tendo em vista que, como vamos trabalhar também com amostras cozidas ou estocadas à baixa temperatura (onde a quantidade de água pode se alterar), e o resultado vai ser dado em termos de amostra crua inicial, tem-se que levar em conta essa modificação no peso da amostra (Elkins, 1979). Foram encontrados erros na literatura, como aumento da vitamina C após um processo de cozimento, por não se considerar a umidade da amostra (Richardson et al., 1937; Scoular e Eakle, 1943). A correção teria que ser feita levando-se em conta os sólidos totais do produto cru e do processado. Para isso, seria necessário calcular a umidade de todas as amostras. No nosso caso, devido ao número muito grande de determinações, isso seria extremamente trabalhoso.

Para eliminar esses problemas, vários métodos foram tentados e os resultados comparados.

#### Método 1:

A amostra (25 g) foi homogeneizada com 40 ml de solução de extração (ácido oxálico 2%) e transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 100 ml. A solução foi então filtrada e uma alíquota tomada para a determinação de vitamina.

O cálculo da vitamina C foi feito da seguinte forma:

$$\text{mg}/100 \text{ g} = \frac{\text{DCF I amostra (ml)}}{\text{DCF I padrão (ml)}} \times \frac{V (100 \text{ ml})}{V \text{ alíquota (ml)}} \times \frac{100 \text{ g}}{m (25 \text{ g})}$$

onde  $V_{\text{DCF I}}$  = volume da solução de diclorofenolindofenol gasto na titulação  
 $V$  = volume do extrato  
 $m$  = massa de amostra crua

### Método 2:

A amostra (25 g) foi homogeneizada com 40 ml de solução de extração (ácido oxálico 2%) e foi filtrada a vácuo. O resíduo foi lavado até exatidão e o volume completado para 100 ml. O cálculo foi feito de maneira similar ao anterior.

### Método 3:

Tendo-se em vista que um dos maiores problemas dos métodos anteriores era garantir que a transferência do material tivesse sido quantitativa, tentou-se um terceiro método.

A amostra (25 g) foi homogeneizada com 50 ml de solução de extração (ácido oxálico 2%). Do extrato obtido retirou-se uma alíquota de 10 g. Esta foi diluída a 50 ml com a solução de extração, filtrada e daí retirou-se uma alíquota para análise.

No caso da amostra crua temos que a massa de amostra é igual à massa de amostra tratada. Quando a amostra já foi tratada (calor, estocagem, etc.), seu teor de água e, portanto, seu peso, podem ser alterados e ela é, então, novamente pesada.

O cálculo da vitamina foi feito como descrito abaixo:

$$\text{mg}/100 \text{ g} = \frac{\text{DCF I amostra (ml)}}{\text{DCF I padrão (ml)}} \times \frac{100 \text{ g}}{m \text{ amostra (g)}} \times \frac{m \text{ solvente + amostra tratada (g)}}{m \text{ alíquota (g)}} \times \frac{V (50 \text{ ml})}{V \text{ alíquota (ml)}}$$

Em nenhum dos métodos fez-se qualquer correção para o fato de a quantidade de sólidos ter-se alterado durante os tratamentos. Tendo-se em vista que a perda de sólidos foi pequena, desconsiderou-se essa perda para facilitar o trabalho.

O método 3 foi o escolhido por se mostrar mais adequado, prático e confiável (ítem 1.3 dos Resultados).

### 2.1.3. Determinação

Uma alíquota do extrato é titulada diretamente, sendo o ponto de viragem detectado visualmente pela mudança de coloração de incolor para rosa. Outros interferentes poderiam aparecer nesse método, mas a literatura diz que o 2,6 diclorofenolindofenol reage preferencialmente com o ácido ascórbico. Assim, uma titulação rápida deve eliminar o perigo de interferências (Bessey e King, 1933; Association of Vitamin Chemists, 1966).

Devido ao método escolhido, onde já ocorre uma certa diluição da amostra, utilizamos uma solução de diclorofenolindofenol 0,01%, mais diluída do que a recomendada pela AOAC, 0,025 %.

Essa solução deve ser estocada no escuro, à baixa temperatura e padronizada diariamente (Olliver, 1967 a). Recomenda-se refazer a solução semanalmente, mas, após testes no laboratório, constatamos que, quando convenientemente estocada, ela se mantém estável por um período de, pelo menos, três semanas.

As análises relativas à determinação e otimização do método de análise foram realizadas em triplicata. Todas as demais análises foram realizadas em duplicata.

## 2.2. Determinação da dureza de água

Foi realizada de acordo com AOAC ( 1984 a). As análises foram realizadas em triplicata.

## 2.3. Determinações enzimáticas

### 2.3.1. Determinação da oxidase do ácido ascórbico

O método de determinação da atividade da oxidase do ácido ascórbico foi baseado em duas referências ( McCombs, 1957; Kanner et al., 1981), e adaptado às condições de trabalho existentes e aos vegetais testados, antes e após cozimento.

A amostra (25g) foi homogeneizada com 150 ml de solução de tampão fosfato 0,1 M (pH 7,0) durante dois minutos, em liquidificador. O extrato foi filtrado. Aliquotas de 10 ml do extrato foram adicionadas a 10 ml de solução de ácido ascórbico  $10^{-3}$  M em tampão fosfato 0,1M (pH 6,0), e incubadas a 40 °C por 20 minutos. Aliquotas de 5 ml foram retiradas e colocadas em erlenmeyer com 5 ml de ácido oxálico 2%. O ácido ascórbico foi determinado por titulação com 2,6 diclorofenolindofenol, conforme descrito anteriormente no item 2.1.3.. Para cada amostra foi feito um branco, que não foi submetido à etapa de incubação. As análises foram realizadas em duplicata.

A relação solução de extração/amostra foi otimizada para possibilitar uma eficiente homogeneização, extração e filtração do material. A concentração da solução de ácido ascórbico ( $10^{-3}$  M) e os volumes das alíquotas foram escolhidos de maneira a propiciar uma boa leitura na titulação. Foram testados vários tempos de incubação (5, 10, 20 e 30 min), o tempo de 20 min foi

adotado após constatarmos que era suficiente para que a enzima atuasse de forma mensurável. A temperatura de incubação de 40°C, superior à recomendada nas referências citadas acima (30°C), foi escolhida devido ao fato da temperatura ambiente na época de realização do experimento ser superior a 30°C.

O cálculo foi feito da seguinte forma:

$$V_{DCFI}(\text{branco}) - V_{DCFI}(\text{amostra}) = V_{DCFI}(\text{relativo ao A.A. consumido pela enzima})$$

onde  $V_{DCFI}$  = o volume da solução de diclorofenolindofenol gasto na titulação

$$\% \text{ de perda} = \frac{\text{mg de A.A. consumido pela enzima}}{\text{mg de A.A. total (branco)}} \times 100$$

Tendo-se em vista que a maior atividade se dará no vegetal cru e que essa atividade deverá diminuir durante os tratamentos (cozimento em água, vapor e microondas), a relação entre a atividade máxima e a atividade em cada ponto poderá ser calculada. Assim, todos os valores poderão ser expressos em termos da atividade inicial no vegetal cru.

$$\text{Atividade} = \frac{\% \text{ de perda no vegetal tratado}}{\% \text{ de perda no vegetal cru}}$$

### 2.3.2. Determinação de peroxidase

Foi adicionado 1 ml de solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,3% e 1 ml de solução de guaiacol 1% às amostras, cortadas em pedaços. O aparecimento de coloração marrom-avermelhada indicou a presença de peroxidase (Nebesky et al., 1950; Masure et al., 1953; Canet e Hill, 1987). As análises foram realizadas em duplicata.

## 2.4. Processamento das amostras

### 2.4.1. Cozimento em água

Amostras de 25 g foram cozidas, determinando-se, então, o teor de vitamina C no produto e na água de cozimento. No experimento, foi utilizada água destilada (100 ml), e as amostras foram colocadas em água já em ebulição (temperatura de aproximadamente 100°C). Foram cozidas em recipientes de vidro pirex tampados.

Foram necessários 20 minutos de cozimento para a obtenção de uma amostra adequadamente cozida, nas condições de trabalho descritas. A frequência das análises foi determinada com base nos dados obtidos nos testes preliminares. Os tempos em que seriam realizadas as determinações de ácido ascórbico foram definidos de maneira a possibilitar uma melhor visualização da perda da vitamina.

As curvas de retenção da vitamina, em função do tempo de cozimento, variavam ligeiramente a cada experimento, devido a diferenças na matéria prima utilizada. Assim, sempre que se pretendeu comparar condições diversas de cozimento, foi feito um experimento padrão. O padrão foi tomado como cozimento em recipiente de pirex com 100 ml de água destilada, no caso de alteração da proporção de água:vegetal e utilização de água de torneira. Para comparação entre diferentes recipientes, alterou-se a quantidade de água para 200ml, mantendo-se a mesma quantidade de amostra para maior funcionalidade dos recipientes envolvidos.

## 2.4.2. Cozimento em vapor

Amostras de 25g foram cozidas em vapor em um cozedor fechado, de alumínio, sendo colocadas somente depois de o cozedor se encontrar cheio de vapor (temperatura de aproximadamente 100°C).

Precisava-se de 30 minutos no cozedor de vapor para a obtenção de amostras adequadamente cozidas.

Foi também observado que alguma água caía sobre as amostras, devido à condensação do vapor na tampa do cozedor, sendo inclusive visível a solubilização de pigmentos na água. Assim, foram efetuados testes com couve-flor para avaliar-se qual a relevância desse processo no caso do cozimento em vapor.

Num primeiro experimento, o cozedor foi mantido aberto durante o processo, para evitar que a condensação do vapor provocasse a perda da vitamina pelo arraste; num segundo experimento, foi mantido fechado. Foram efetuadas análises na água, e não foi verificada a presença de vitamina C em nenhum dos casos, mostrando que não haveria perda por solubilização. Observou-se que, quando o cozedor foi mantido aberto, houve dificuldade para cozinhar as amostras, sendo necessário aumentar o tempo de processo. Uma vez que, para melhorar a eficiência do processo, o cozedor teria que permanecer tampado, para maior segurança sua tampa foi envolvida com um pano, de maneira a evitar condensação.

### **2.4.3. Cozimento em microondas**

Amostras de 25 g foram cozidas em forno de microondas, na potência média, em recipientes de pirex.

Foi utilizado um tempo de processamento de 4 minutos, aonde puderam ser obtidas amostras adequadamente cozidas.

A literatura mostrou que, algumas vezes, o cozimento em microondas resultava em efeitos indesejáveis na textura ou no tecido mais externo do vegetal (Bowman et al., 1971).

No laboratório, constatamos que os vegetais apresentavam problemas de ressecamento na superfície externa e, em alguns casos, chegavam a queimar-se, quando eram cozidos sem água, mesmo que o cozimento fosse realizado em um recipiente tampado para evitar a evaporação da umidade. Assim, para tentar solucionar esse problema, uma quantidade pequena de água destilada (em torno de 2 a 3 ml) foi espalhada na superfície dos produtos. A quantidade de água colocada foi bem padronizada de maneira a não deixar que o vegetal ressecasse e, por outro lado, haver-se evaporado quase que totalmente após o cozimento. Dessa forma, evitou-se a solubilização da vitamina e somente a degradação devida ao cozimento foi considerada.

### **2.4.4. Estocagem à temperatura ambiente**

Os vegetais crus foram mantidos à temperatura ambiente (20°C a 25°C) por períodos de tempo determinados, e, então, cortados em porções de 25g.

#### 2.4.5. Estocagem refrigerada e congelada

Os vegetais, já cortados em porções com peso aproximado de 25 g, crus ou branqueados, foram ensacados e estocados em refrigerador, à temperatura entre 3°C e 5°C, e em freezer, à temperatura de -18°C. Após um dado período, a amostra foi retirada e descongelada na própria solução de extração.

Considerando-se que deveria ser ensacada uma amostra de peso determinado, o vegetal foi cortado de maneira a se aproximar desse peso. Assim, já que o tecido havia sido lesado, era necessário que não ficasse em contato com o ar para evitar oxidações, uma vez que foi simulada a estocagem de um produto que estaria com seu tecido intacto. A retirada do ar do tecido de dentro dos sacos foi feita com um succionador do tipo caseiro.

Para branqueamento, as amostras foram cozidas em forno de microondas em recipientes de pirex tampados, com uma pequena quantidade de água. As amostras de couve e pimentão foram cozidas durante 1,5 minutos e as de couve-flor, 2 minutos.

Nos testes preliminares a estocagem foi realizada na gaveta de vegetais da geladeira, à temperatura de 5°C, e em freezer do tipo horizontal, à temperatura de -15°C. Foram constatados problemas devido ao posicionamento diferenciado das amostras, tanto no freezer, quanto na geladeira. O fato de algumas amostras estarem encostadas nas paredes, fazia com que elas se resfriassem/congelassem mais rapidamente, ocorrendo, então, perdas menores de vitamina do que naquelas que se encontravam em contato somente com as próprias amostras. No caso do freezer, esse problema

foi ainda mais sério, tendo em vista que um congelamento lento poderia danificar os tecidos dos vegetais, liberando enzimas que aceleram a destruição do ácido ascórbico.

Assim, foi feita estocagem em prateleiras, evitando o contato com a parede e com distribuição a mais homogênea possível. O freezer usado anteriormente foi substituído por um vertical, tipo doméstico.

O pré-resfriamento do material a ser estocado foi realizado em outra geladeira, visando uniformizar as condições iniciais e o tempo para cada vegetal chegar à temperatura desejada.

No freezer, as amostras foram colocadas, inicialmente, no compartimento de congelamento rápido e, após congeladas, foram distribuídas nas prateleiras.

## 2.5. Determinação e cálculo dos dados cinéticos

Os dados relativos aos diversos processamentos foram tratados de maneira a determinar a cinética de destruição da vitamina C (King, 1964).

As curvas de retenção da vitamina C em função do tempo mostraram um perfil característico de uma reação de primeira ordem.

$$\frac{-d [\text{vit C}]}{dt} = k [\text{vit C}] \quad \text{onde } k = \text{constante de velocidade}$$

$t = \text{tempo}$

$$\ln [\text{vit C}] - \ln [\text{vit C inicial}] = -kt$$

Graficando-se o log da concentração de vitamina C em função do tempo, a ordem de reação pode ser confirmada pela obtenção de uma reta. A equação da reta obtida pode ser definida por:

$$\log [\text{vit C}] = \log [\text{vit C inicial}] - mt \quad \text{onde } m = \text{inclinação da reta}$$

A constante de velocidade de reação (k) pode ser calculada através da inclinação da reta.

$$k = -2,303 m$$

O tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ), tempo necessário para que o teor de vitamina C seja reduzido à metade, pode ser calculado a partir das equações das retas encontradas.

## 2.6. Análise estatística dos dados

Foi feita análise de variância de um fator e de dois fatores com interação, utilizando-se o programa Microstat. Aplicou-se o teste de Tukey para avaliar a diferença entre as médias (Sokal e Rolf, 1969; O'Mahony, 1986).

Para avaliar a significância da correlação nas regressões lineares foi utilizada o teste t (Fisher, 1970; Fisher e Yates, 1971; O'Mahony, 1986).

## IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1. ADAPTAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE

#### 1.1. Escolha da solução de extração

Foi constatada uma grande diferença na cor e turbidez entre os extratos obtidos com os ácidos metafosfórico e oxálico. A Tabela 5 descreve as características de cada extrato.

Os extratos preparados com ácido metafosfórico apresentavam a vantagem de serem mais claros e límpidos. Através da diluição da solução, de maneira que a cor e a turbidez não prejudicassem a detecção do ponto de viragem, esse problema foi resolvido, possibilitando a utilização do oxálico.

Foi observado, ainda, que, após cozimento das amostras, a extração com ácido oxálico foi bem mais fácil que com ácido metafosfórico, devido a uma filtração melhor e mais rápida, principalmente no caso de couve-flor.

Quanto aos teores de vitamina C, com o ácido oxálico eram obtidos, geralmente, valores um pouco superiores aos encontrados com o metafosfórico (já citado na literatura, Vavich et al., 1945), mas, algumas vezes, a situação se invertia, indicando que parte das diferenças encontradas seria devida à variabilidade intrínseca das amostras. Os resultados podem ser vistos na Tabela 6.

A análise estatística mostrou não haver diferença na utilização dos dois ácidos a um nível de 5% de significância.

TABELA 5. Características dos extratos de vegetais obtidos com ácido metafosfórico e oxálico

VEGETAL	EXTRATO *	
	ÁCIDO METAFOSFÓRICO	ÁCIDO OXÁLICO
PIMENTÃO	Verde-claro; límpido	Verde-escuro; turvo
COUVE-FLOR	Esbranquiçado; límpido	Amarelado; turvo
COUVE	Amarelo-claro; límpido	Amarelo-esverdeado; turvo

\* Diluição de 1:15.

TABELA 6. Teor de vitamina C (mg /100g) de vegetais utilizando diferentes soluções extratoras.

PRODUTO	SOLUÇÃO EXTRATORA			
	ÁCIDO OXÁLICO		ÁCIDO METAFOSFÓRICO	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
COUVE	CRUA	105,81 ± 7,97 <sup>a</sup>	103,91 ± 4,10 <sup>a</sup>	
	COZIDA	91,16 ± 4,64 <sup>a</sup>	89,69 ± 3,19 <sup>a</sup>	
PIMENTÃO	CRU	151,26 ± 7,94 <sup>a</sup>	153,39 ± 9,13 <sup>a</sup>	
	COZIDO	124,81 ± 6,80 <sup>a</sup>	123,86 ± 7,97 <sup>a</sup>	
COUVE-FLOR	CRUA	108,33 ± 2,54 <sup>a</sup>	105,33 ± 2,12 <sup>a</sup>	
	COZIDA	101,51 ± 5,59 <sup>a</sup>	94,69 ± 3,19 <sup>a</sup>	

Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (P < 0,05)

Concluimos, então, que o ácido oxálico poderia substituir o ácido metafosfórico de forma eficiente, com uma maior economia, e, assim, foi o utilizado no trabalho.

Observou-se que, durante períodos curtos, nenhuma das soluções (metafosfórico 3% e oxálico 2%) sofreu alteração quando convenientemente estocadas em geladeira. Após um período de dez dias, a solução de ácido metafosfórico apresentou alguma mudança, enquanto que a de ácido oxálico manteve-se inalterada por até um mês. Essa alteração pode ser observada pela comparação entre os valores obtidos na análise de uma solução padrão de ácido ascórbico diluídas nas soluções estocadas em geladeira contra soluções recém preparadas.

A comparação entre os resultados obtidos com ácido oxálico e metafosfórico à temperatura ambiente (20°C a 25°C) e geladeira (3°C a 5°C) para os três vegetais e solução padrão dos ácidos pode ser vista na Tabela 7.

Existe diferença significativa ao nível de 5% entre a estabilidade de vitamina C nos extratos de vegetais feitos com ácido oxálico à temperatura ambiente e nos extratos de metafosfórico, à temperatura ambiente ou geladeira, sendo que os extratos de metafosfórico mais estáveis. Não foi observada diferença significativa ao nível de 5% entre a estabilidade na estocagem à temperatura ambiente e geladeira para as duas soluções extratoras testadas.

Para a solução padrão não foi observada diferença significativa ao nível de 5% entre os quatro tratamentos.

TABELA 7. Teor de vitamina C (mg/100g) obtido com diferentes soluções extratoras e armazenado a temperatura ambiente (20°C a 25°C) e em geladeira (3°C a 5°C).

AMOSTRA/ TEMPO (h)	TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO			
	AMBIENTE		GELADEIRA	
	AC. OXÁLICO	AC. METAFOSFÓRICO	AC. OXÁLICO	AC. METAFOSFÓRICO
<b>COUVE-FLOR</b>				
0	112,60	109,21	112,60	109,21
2	111,84	108,67	113,00	108,67
18	105,55	107,81	107,65	107,01
24	95,53	101,58	109,51	109,85
46	85,05	93,31	109,51	109,85
112	45,44	77,25	108,35	108,08
184	6,99	54,92	104,85	101,88
<b>COUVE</b>				
0	112,82	113,01	112,82	113,01
2	112,00	112,34	113,19	113,80
18	108,66	110,53	111,52	113,80
24	105,45	105,10	110,81	113,55
46	95,32	100,26	116,77	117,18
112	75,06	79,00	112,60	114,16
184	43,25	50,37	107,24	109,63
<b>PIMENTÃO</b>				
0	154,80	153,96	154,80	153,96
2	155,43	154,54	152,06	154,54
18	152,06	152,84	153,75	154,54
24	148,68	146,05	155,43	156,24
46	135,16	146,05	158,81	156,24
112	104,75	125,67	154,59	154,54
184	50,69	108,01	150,37	149,45
<b>PADRÃO</b>				
0	5,00	5,00	5,00	5,00
2	5,10	5,00	5,00	5,05
18	5,00	4,95	4,95	4,98
24	4,93	4,91	5,00	5,02
46	4,76	4,79	4,98	4,95
112	4,03	4,39	4,91	4,98
184	3,30	4,06	4,91	4,95

Verificamos que os extratos de ácido oxálico 2 % mantinham o mesmo teor de vitamina durante várias horas, sendo, portanto, perfeitamente adequados à análise.

## 1.2. Homogeneização das amostras

Os teores de vitamina C dos extratos vegetais homogeneizados por diferentes tempos (um, dois e três minutos) estão na Tabela 8.

Houve diferença significativa ao nível de 1% entre os tempos de homogeneização de um e três minutos, e entre dois e três minutos.

No tempo de três minutos, houve uma diminuição significativa no teor de ácido ascórbico, provavelmente devida a um excesso de aeração do extrato ou ao aumento de temperatura do copo e pás do liquidificador.

Apesar de não haver diferença significativa entre os dois primeiros tratamentos, observamos que, no tempo de um minuto para a maior parte das amostras, restavam ainda alguns pedaços, enquanto que, no tempo de dois minutos, a amostra estava bem homogeneizada. Assim, o tempo de dois minutos foi escolhido como padrão.

Pôde-se constatar, também, que o tratamento é mais eficiente, se for feito intercalando-se a homogeneização com uma ou duas paradas (5 a 10 segundos). Dessa forma, a temperatura do copo elevou-se menos e a amostra foi mais bem homogeneizada.

TABELA 8. Teor de vitamina C (mg/100g) em extratos vegetais homogeneizados por diferentes tempos

	TEMPO DE HOMOGENEIZAÇÃO (min)					
	1		2		3	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
PIMENTÃO	166,89	± 8,02 <sup>a</sup>	168,07	± 9,27 <sup>a</sup>	144,10	± 7,94 <sup>b</sup>
COUVE	186,54	± 5,87 <sup>a</sup>	194,05	± 5,35 <sup>a</sup>	136,44	± 4,11 <sup>b</sup>
COUVE-FLOR	102,36	± 2,54 <sup>a</sup>	102,48	± 3,66 <sup>a</sup>	94,72	± 4,36 <sup>b</sup>

Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (P < 0,01)

### 1.3. Escolha do método de extração

No método 1, considerava-se o peso inicial da amostra antes do cozimento e supunha-se que a transferência da amostra havia sido quantitativa. A solução obtida era muito viscosa o que dificultava a sua transferência para o balão. Os cálculos mostraram que, realmente, se perdia vitamina nesse método, havendo problema para todos os vegetais após um certo grau de cozimento.

Para o cálculo da vitamina no método 2, considerava-se, também, somente o peso da amostra antes do cozimento. Supunha-se que a transferência da amostra havia sido quantitativa e que a filtração a vácuo e lavagens iriam retirar toda a vitamina da fibra. Foram necessárias três lavagens para conseguir a extração da vitamina, conforme pode ser observado na Tabela 9.

Verificou-se que nem toda a vitamina era retirada nos primeiros 100 ml de solução. Numa segunda e terceira extração, havia sempre uma porcentagem razoável de vitamina e, muitas vezes, podia-se pensar até numa quarta extração. O problema era mais grave, quando se tratava da extração com produtos cozidos, pois, muitas vezes, havia problemas na filtração. O ácido metafosfórico dava sempre um extrato mais difícil de filtrar do que o oxálico. Mesmo com amostras cruas no caso de couve-flor, a filtração não era muito fácil. Uma vez que essa filtração teria que ser completa e efetiva para que o método pudesse ser utilizado, esse era mais um impedimento para o seu uso.

No método 3, havia uma pesagem após processamento, aonde se considerava a alteração do peso da amostra.

Para comprovar a representatividade da alíquota de 10ml, retiraram-se alíquotas em triplicata e, em todos os casos, observou-se que os valores obtidos eram muito semelhantes. Como essa alíquota era novamente diluída a 50ml, tínhamos uma solução menos viscosa e, portanto, mais fácil de ser transferida a balão volumétrico e filtrada, possibilitando, ainda, a repetição da análise, tratando-se apenas uma amostra original.

A comparação entre os dados obtidos com o método 2, por sucessivas extrações, e com o método 3 pode ser observada na Tabela 10. A soma das extrações dava resultados ligeiramente inferiores aos obtidos com o método 3, havendo diferença significativa ao nível de 5%.

Com relação aos vegetais cozidos não foi possível uma comparação, pois nenhum dos dois primeiros métodos podia ser aplicado de maneira satisfatória.

O método 3 foi, portanto, o escolhido por se mostrar mais adequado, prático e confiável.

TABELA 9. Teor de vitamina C (mg/100g) de vegetais obtidos em cada etapa de extração (método 2)

PRODUTO	ETAPAS DA EXTRAÇÃO		
	1ª	2ª	3ª
COUVE-FLOR	96,60 ± 5,30	5,11 ± 0,98	2,02 ± 1,16
PIMENTÃO	77,68 ± 11,23	6,02 ± 1,73	1,55 ± 1,22
COUVE	110,99 ± 8,56	10,46 ± 2,59	5,11 ± 1,82

TABELA 10. Comparação entre os teores de vitamina C (mg/100g) de vegetais obtidos por diferentes métodos de extração

PRODUTO	MÉTODO 2	MÉTODO 3
COUVE-FLOR	103,73 ± 3,51 <sup>a</sup>	112,67 ± 3,64 <sup>b</sup>
PIMENTÃO	85,25 ± 8,72 <sup>a</sup>	90,32 ± 6,02 <sup>b</sup>
COUVE	126,56 ± 8,87 <sup>a</sup>	136,41 ± 8,38 <sup>b</sup>

MÉTODO 2 - Extração da vitamina por lavagens sucessivas do resíduo

MÉTODO 3 - Utilização de uma alíquota de 10 ml do extrato original

Médias, apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha, são significativamente diferentes (P < 0,05)

## 2. COZIMENTO EM ÁGUA

Para todos os vegetais estudados, constatou-se a perda de vitamina C durante o processo de cozimento em água, sendo a maior parte perdida por solubilização e não por degradação térmica, conforme pode ser observado nas Tabelas 11, 12 e 13.

Após 20 minutos de cozimento, obteve-se uma retenção de, aproximadamente, 27%, 47% e 47% para couve, couve-flor e pimentão, respectivamente.

As curvas de porcentagem de retenção da vitamina pelo tempo foram características e diferenciadas para cada vegetal, havendo uma boa reprodutibilidade nos experimentos realizados (Figuras 1, 3 e 5).

As diferenças encontradas mostram a importância do estudo da cinética de retenção de vitamina em cada produto específico, e não através de sistemas-modelo. Além da composição, outros fatores como a distribuição do nutriente no vegetal e área superficial exposta (uma vez que se constatou a relevância da solubilização nas perdas) são importantes para esse estudo e dificilmente poderiam ser simulados. Pudemos constatar uma velocidade de solubilização bem superior no caso da couve, onde uma maior área superficial estaria em contato com a água.

Uma alta proporção da vitamina C perdida do produto encontrava-se solubilizada na água de cozimento. Esse fato já havia sido citado na revisão, mas observou-se que a soma de vitamina C no produto e na água de cozimento (que denominamos vitamina C total) mantinha-se durante o cozimento. Isso não só confirmava

a importância da solubilização, como deixava claro ser ela o mais relevante fator de perda no processo. Na literatura não foram encontrados dados relativos à couve e ao pimentão, mas, para couve-flor, são descritas retenções de 93% (Noble e Hanig, 1948) em condições similares às utilizadas no experimento.

Deve-se considerar, no entanto, que essa vitamina solubilizada dificilmente poderia ser aproveitada, assim, para otimizar o processo seria necessário minimizar a solubilização do nutriente em água.

No laboratório, foi constatado que, para couve e couve-flor, não havia diferença significativa ao nível de 5% entre os teores de vitamina C total durante o cozimento (Tabelas 11 e 13).

Para pimentão foram observadas diferenças ao nível de 1% de significância na vitamina total durante o processo. Até o tempo de 4 minutos o teor de vitamina C não foi significativamente alterado, o prolongamento do cozimento (10 minutos) provocou uma queda na vitamina total. Tempos de processamento acima de 15 minutos mostraram um aumento significativamente maior na degradação, chegando a redução no teor total de vitamina C ao redor de 25% do inicial no cozimento por 20 minutos (Tabela 12).

Na literatura, não se encontrou nenhuma referência a pimentão, mas são descritas, para vegetais diversos, degradações da vitamina C total variando de praticamente zero a 30%, conforme pode ser observado na Tabela 4 do item de Revisão Bibliográfica. Para couve-flor, são citadas desde a retenção total da vitamina (McIntosh et al., 1940) até perdas por degradação de 7% (Noble e

Gordon, 1959b). No caso de couve, foi encontrada degradação da vitamina C total em torno de 5% (Potgieter e Greenwood, 1950).

Os dados de log da concentração da vitamina (mg/ 100g), pelo tempo, foram plotados (Figuras 2, 4 e 6) e encontrou-se que as perdas de vitamina C no produto seguem uma cinética de primeira ordem.

A Tabela 14 mostra valores de k (constante de velocidade de reação),  $t_{1/2}$  (tempo de meia vida) e r (coeficiente de correlação) para as três curvas. No nosso caso, k poderia ser mais adequadamente definida como uma constante de velocidade de solubilização. Foram encontradas boas correlações (1,00, 0,98 e 0,97) e com alto nível de significância (0,1%).

É, também, interessante notar que, para couve, após um tempo determinado (10 min), a solubilização diminuiu, e o teor de vitamina C tendeu a se estabilizar, tanto no produto quanto na água. Assim, um cozimento mais prolongado não acarretaria um aumento na perda de valor nutricional do vegetal. Esse fato havia sido anteriormente mencionado na literatura para outros vegetais (Van Duyne et al., 1944; Noble, 1967).

TABELA 11. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve cozida em água  
(T = 100°C).

TEMPO (min)	RETIDA NO PRODUTO		SOLUBILIZADA		TOTAL *	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	145,96	± 8,46	-	-	145,96	± 8,46 <sup>a</sup>
2	111,09	± 9,99	31,92	± 3,92	143,01	± 6,07 <sup>a</sup>
4	88,67	± 4,36	52,67	± 1,07	141,34	± 3,28 <sup>a</sup>
6	63,67	± 1,54	74,70	± 8,25	138,37	± 6,72 <sup>a</sup>
8	49,55	± 0,50	87,10	± 5,37	136,65	± 4,88 <sup>a</sup>
10	47,41	± 1,97	88,58	± 4,26	135,99	± 2,29 <sup>a</sup>
15	43,55	± 2,14	88,96	± 2,35	132,51	± 0,21 <sup>a</sup>
20	39,17	± 4,63	92,75	± 3,13	131,92	± 1,50 <sup>a</sup>

Médias, apresentando diferentes expoentes, em uma mesma coluna são significativamente diferentes (P < 0,05)

TABELA 12. Teor (mg/100g) de vitamina C em pimentão cozido em água  
(T = 100°C).

TEMPO (min)	RETIDA NO PRODUTO		SOLUBILIZADA		TOTAL	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	176,78	± 5,43	-	-	176,78	± 5,43 <sup>a</sup>
2	146,38	± 2,79	20,48	± 0,85	166,86	± 1,94 <sup>ab</sup>
4	134,88	± 5,83	33,24	± 0,76	168,12	± 5,06 <sup>ab</sup>
6	124,08	± 8,44	34,65	± 1,60	158,73	± 6,84 <sup>b</sup>
8	118,67	± 3,35	35,16	± 3,78	153,83	± 0,43 <sup>b</sup>
10	119,02	± 0,84	40,47	± 0,19	159,49	± 0,65 <sup>b</sup>
15	93,13	± 0,60	42,98	± 0,55	136,11	± 0,05 <sup>c</sup>
20	82,42	± 0,19	51,64	± 6,31	134,06	± 6,12 <sup>c</sup>

Médias, apresentando diferentes expoentes, em uma mesma coluna são significativamente diferentes (P < 0,01)

TABELA 13. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em água (T = 100°C).

TEMPO (min)	RETIDA NO PRODUTO		SOLUBILIZADA		TOTAL *	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	107,94	± 2,02	-	-	107,94	± 2,02 a
2	82,47	± 2,17	16,98	± 2,74	99,45	± 0,57 a
4	82,11	± 0,38	20,30	± 0,86	102,44	± 0,48 a
6	74,99	± 0,42	27,14	± 3,31	102,13	± 2,89 a
8	74,32	± 1,27	25,21	± 4,11	99,53	± 2,84 a
10	67,90	± 1,57	27,14	± 2,54	95,30	± 0,97 a
15	59,27	± 2,19	38,47	± 3,88	97,74	± 1,69 a
20	50,59	± 5,90	47,80	± 4,04	98,39	± 1,86 a

Médias, apresentando diferentes expoentes, em uma mesma coluna são significativamente diferentes (P < 0,05)

TABELA 14. Valores de k (min<sup>-1</sup>), t<sub>1/2</sub> (min), r e nível de significância da correlação para o cozimento de vegetais em água (T = 100°C).

PRODUTO	k x 10 <sup>2</sup>	t <sub>1/2</sub>	r	nível de significância
COUVE	13,60	5,15	1,00	0,1%
PIMENTÃO	3,51	17,14	0,98	0,1%
COUVE-FLOR	3,27	17,50	0,97	0,1%

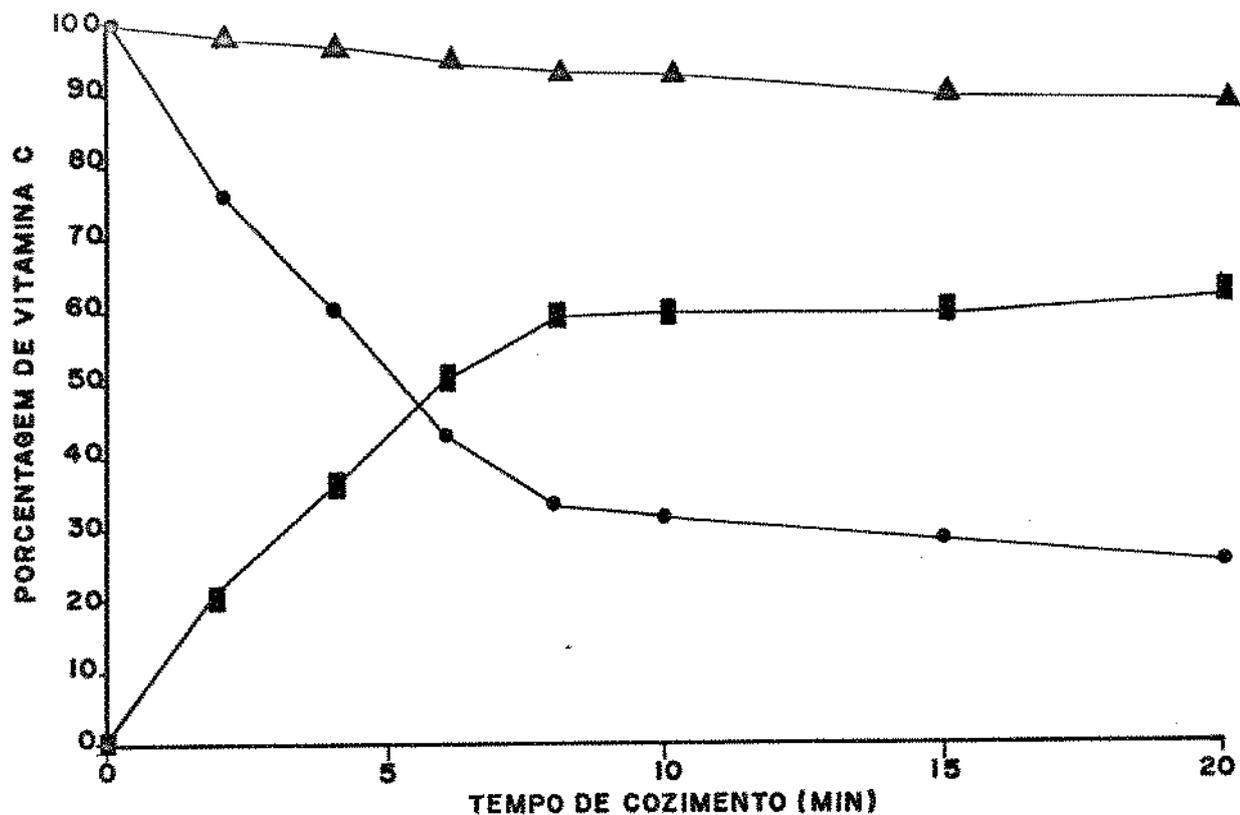


FIGURA 1. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água (T = 100°C)

- Vitamina retida no produto
- Vitamina solubilizada
- ▲ Vitamina total

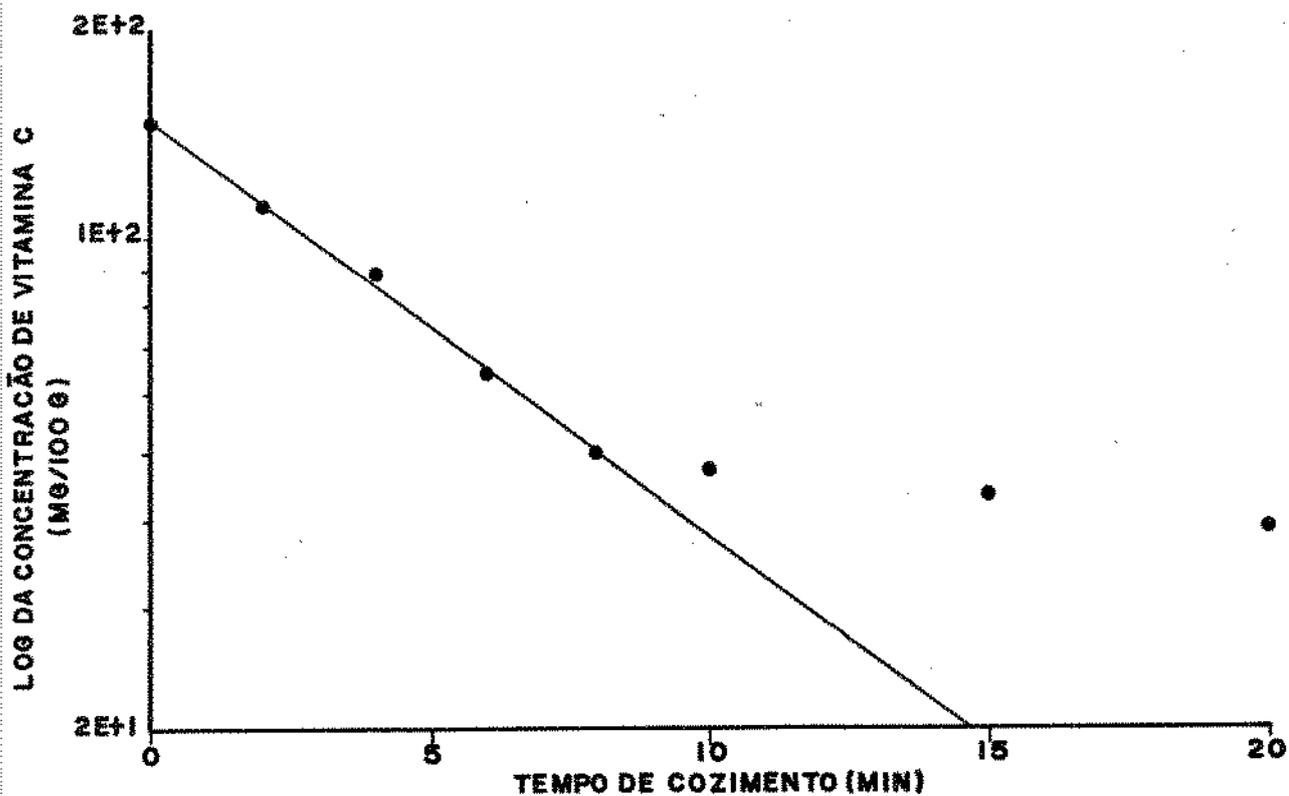


FIGURA 2. Efeito do tempo de cozimento em água na retenção de vitamina C em couve (T = 100°C)

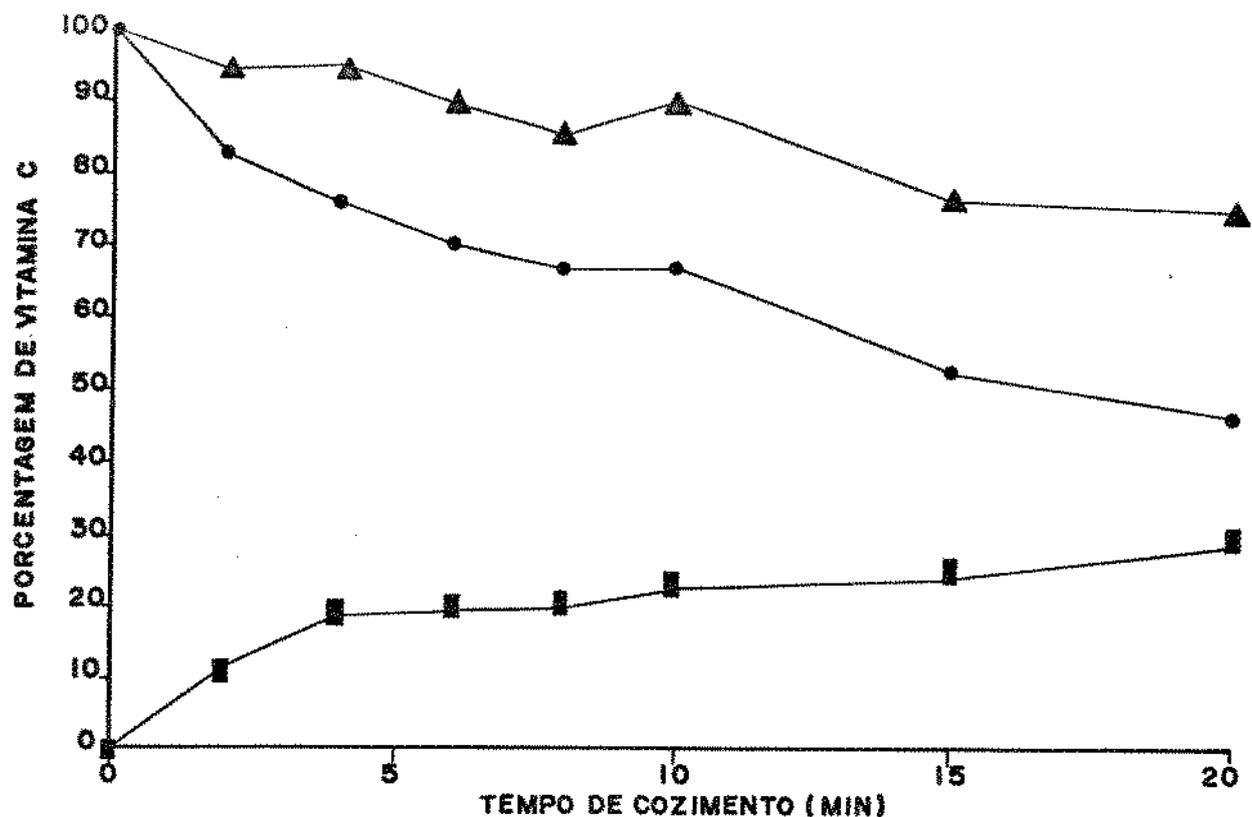


FIGURA 3. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água (T = 100°C)

- Vitamina retida no produto
- Vitamina solubilizada
- ▲ Vitamina total

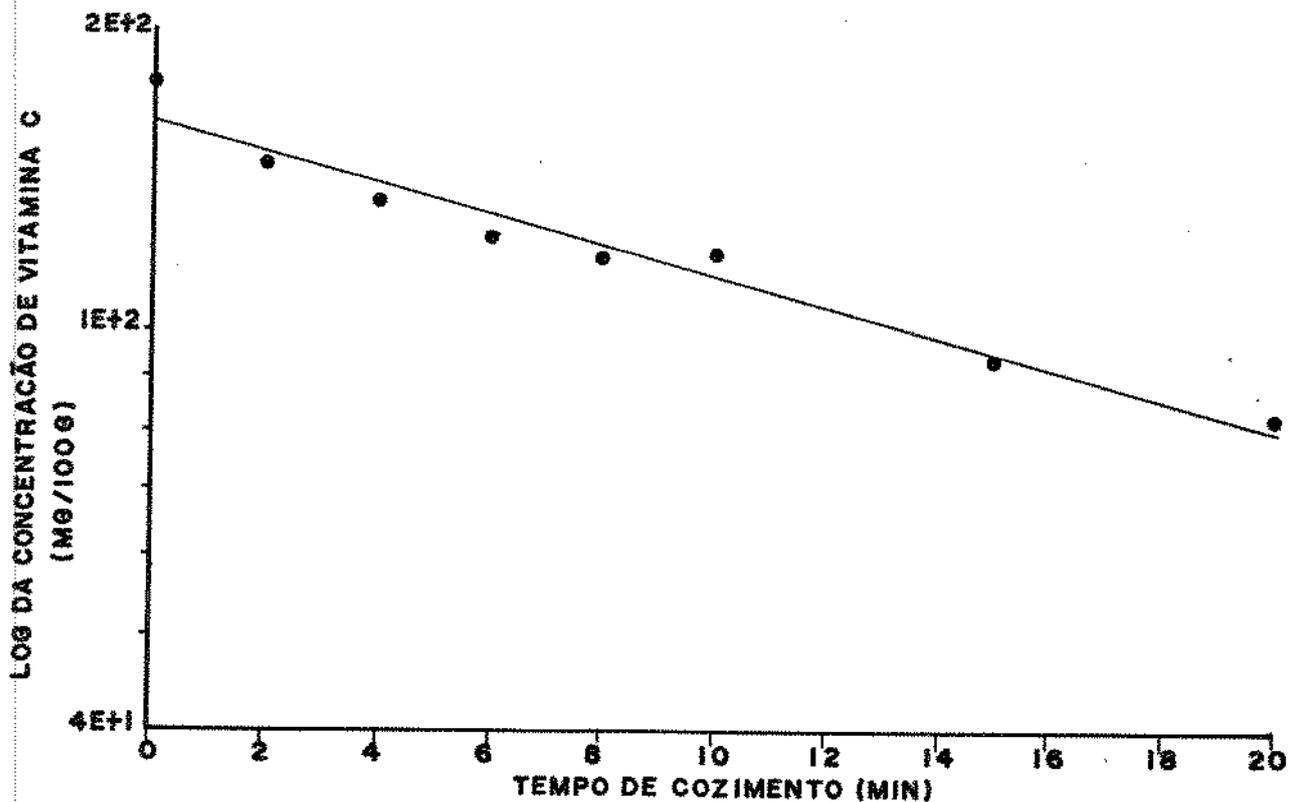


FIGURA 4. Efeito do tempo de cozimento em água na retenção de vitamina C em pimentão (T = 100°C)

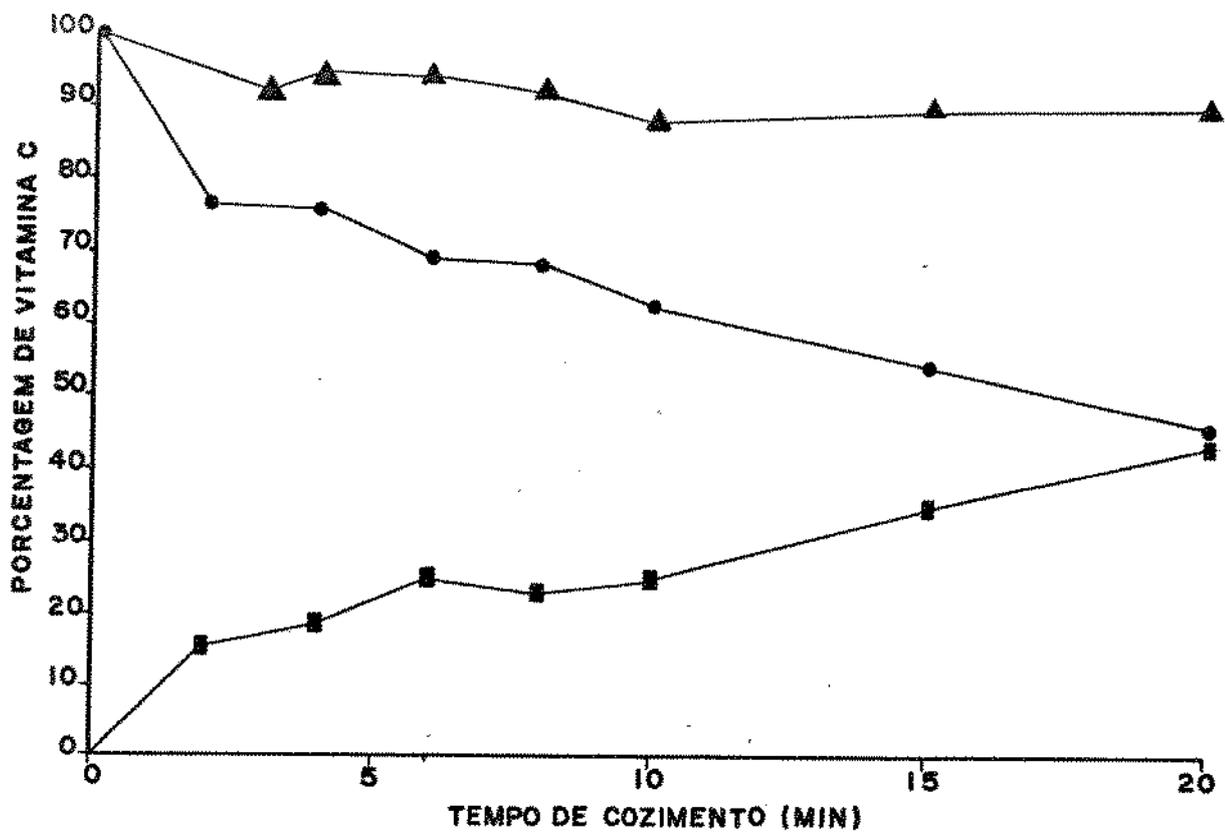


FIGURA 5. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água (T = 100°C)

- Vitamina retida no produto
- Vitamina solubilizada
- ▲ Vitamina total

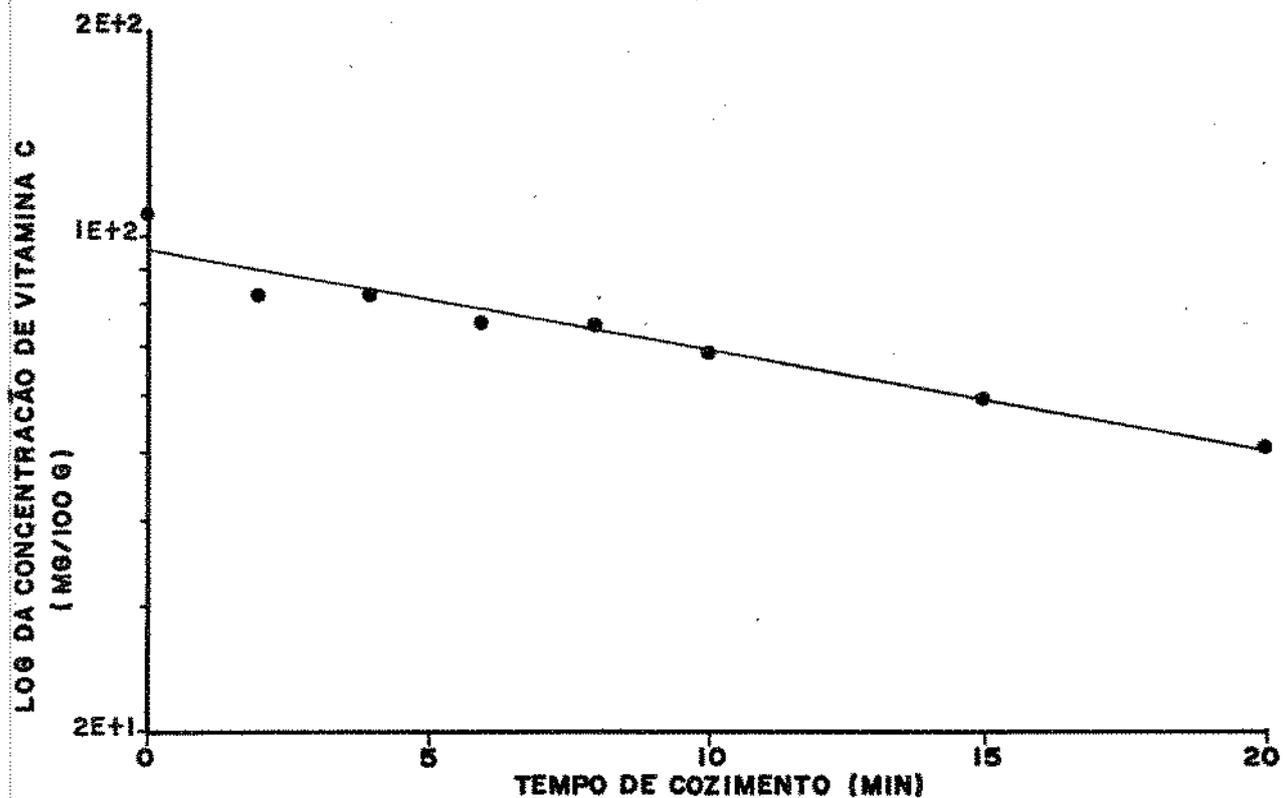


FIGURA 6. Efeito do tempo de cozimento em água na retenção de vitamina C em couve-flor (T = 100°C)

A proporção de água utilizada no cozimento também deveria interferir na retenção da vitamina, segundo a literatura consultada (Erdman, 1979; Simpson, 1943), havendo sempre uma diminuição no teor de vitamina C com o aumento da proporção água/produto no cozimento.

Foi alterada a quantidade de água do cozimento de 100 para 200 ml, aumentando, assim, a relação vegetal:água de 1:4 para 1:8.

A comparação entre os teores de vitamina C obtidos no laboratório para os diferentes tratamentos pode ser vista nas Tabelas 15, 16 e 17.

As Figuras 7, 9 e 11 mostram as porcentagens de vitamina C solubilizada, retida no produto e total para os três vegetais, comparando os cozimentos em diferentes proporções água:vegetal.

Nas Figuras 8, 10 e 12 temos o log da concentração da vitamina (mg/100g) pelo tempo de cozimento. Pudemos observar, em todos os casos, um aumento na constante de velocidade de reação (Tabela 19), indicando perda de vitamina no produto com o aumento da quantidade de água.

A variação na proporção de água realmente provocou uma maior solubilização da vitamina, diminuindo, então, o seu teor no produto, com conseqüente aumento na água de cozimento. Os resultados das análises dos dados diferiram dependendo do vegetal utilizado.

No caso de couve-flor e pimentão, não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os teores de vitamina C no produto ou na água, comparando-se os dois tratamentos (Tabelas 15 e 17).

Para couve, os teores de vitamina C no vegetal diminuíram ao nível de 1% de significância, com o aumento da quantidade de água, a partir de 10 min de cozimento. O teor de vitamina C solubilizado na água de cozimento aumentou ao nível de 1% de significância, no mesmo período (Tabela 16)

Assim, dos três vegetais, o que teve o seu teor mais alterado foi a couve. Isso parece razoável, tendo em vista que a área superficial desse vegetal é maior, e que, nesse caso, a maior limitação para a solubilização seria a proporção água/produto no cozimento.

Constatou-se, também, que o teor de vitamina total (retido no produto e solubilizado) praticamente não se alterou. Foi observado, para os três vegetais, não haver diferença significativa ao nível de 5% entre os dois tratamentos (Tabelas 15, 16 e 17).

TABELA 15. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em diferentes proporções de água / vegetal (1:4 e 1:8) (T = 100°C).

TEMPO (min)	1:4		1:8	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>				
0	92,02	± 0,64	92,02	± 0,64
2	81,31	± 4,63	73,93	± 8,60
5	64,10	± 3,29	58,96	± 8,61
10	58,58	± 9,88	52,19	± 0,28
20	49,77	± 0,47	41,82	± 1,72
<b>SOLUBILIZADA</b>				
0	-	-	-	-
2	18,90	± 1,51	19,58	± 0,69
5	23,01	± 2,19	27,09	± 0,21
10	26,58	± 6,11	30,18	± 0,72
20	38,67	± 2,54	43,60	± 8,21
<b>TOTAL</b>				
0	92,02	± 0,64	92,02	± 0,64
2	100,21	± 3,13	93,51	± 7,91
5	87,11	± 1,10	86,05	± 8,40
10	85,16	± 3,92	82,37	± 0,44
20	88,44	± 2,08	85,42	± 6,49

TABELA 16. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve cozida em diferentes proporções de água/vegetal (1:4 e 1:8) (T=100°C)

TEMPO (min)	1:4		1:8	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>				
0	171,66	± 8,67	171,66	± 8,67
2	117,25	± 7,46	111,57	± 10,56
5	93,01	± 1,04	74,22	± 3,82
10	77,95	± 3,91	47,58	± 3,08
20	61,09	± 4,90	39,10	± 6,89
<b>SOLUBILIZADA</b>				
0	-	-	-	-
2	53,09	± 4,04	63,55	± 8,41
5	90,49	± 4,32	100,96	± 0,81
10	96,60	± 6,49	132,37	± 2,34
20	102,36	± 7,29	134,81	± 4,03
<b>TOTAL</b>				
0	171,66	± 8,67	171,66	± 8,67
2	170,34	± 3,42	175,12	± 2,15
5	183,50	± 3,28	175,18	± 3,01
10	174,54	± 2,58	179,95	± 0,75
20	163,45	± 2,39	173,91	± 2,86

TABELA 17. Teor (mg/100g) de vitamina C em pimentão cozido em diferentes proporções de água / vegetal (1:4 e 1:8) (T= 100°C)

TEMPO (min)	1:4		1:8	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>				
0	71,03	± 6,42	71,03	± 6,42
2	63,93	± 3,19	58,69	± 0,88
5	53,68	± 4,44	49,45	± 4,25
10	43,88	± 10,60	43,32	± 8,61
20	37,75	± 4,21	37,70	± 5,99
<b>SOLUBILIZADA</b>				
0	-	-	-	-
2	9,30	± 0,40	9,32	± 2,14
5	12,67	± 1,46	14,29	± 2,39
10	19,02	± 6,70	23,04	± 2,17
20	23,37	± 1,97	26,09	± 3,15
<b>TOTAL</b>				
0	71,03	± 6,42	71,03	± 6,42
2	68,01	± 1,27	73,23	± 2,80
5	66,35	± 2,98	63,74	± 1,86
10	62,90	± 3,91	66,36	± 6,44
20	61,12	± 2,24	63,79	± 2,69

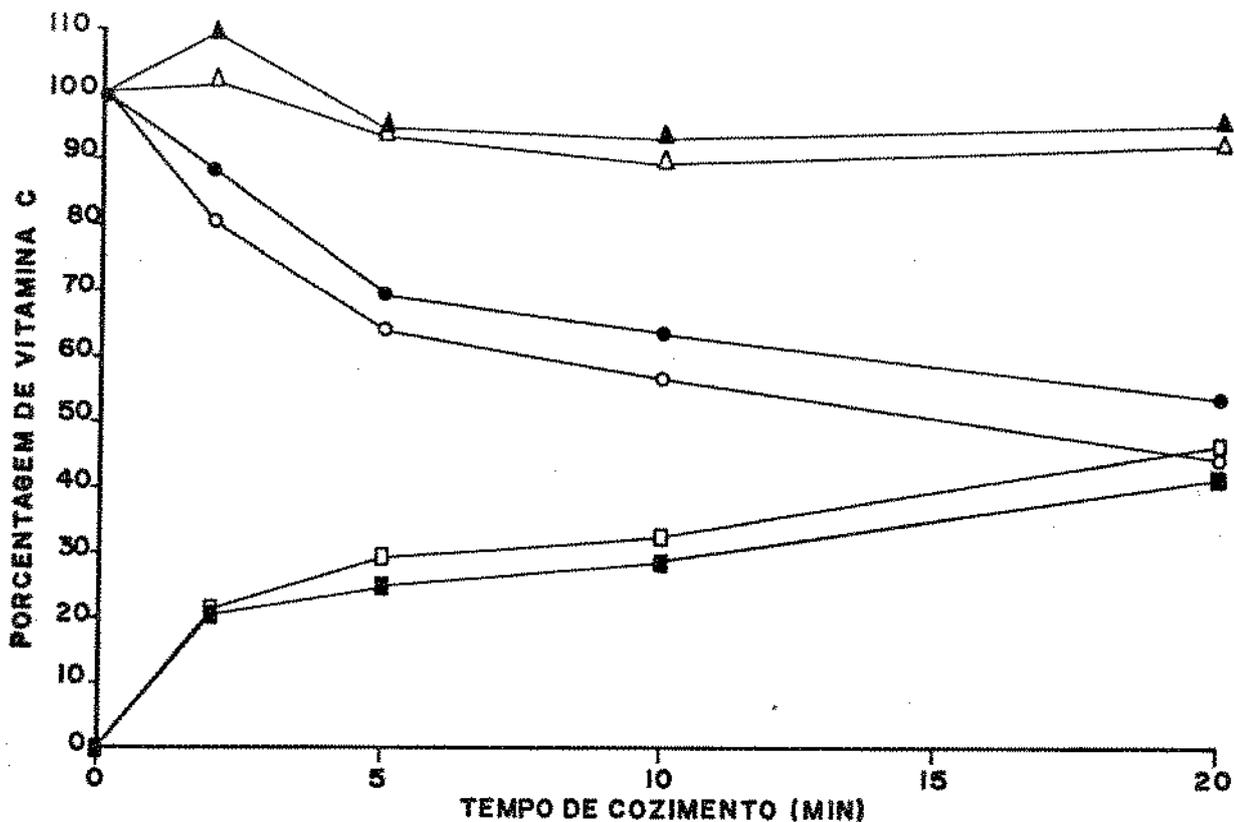


FIGURA 7. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:8) ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (1:4)
- Vitamina solubilizada (1:4)
- ▲ Vitamina total (1:4)
- Vitamina retida no produto (1:8)
- Vitamina solubilizada (1:8)
- △ Vitamina total (1:8)

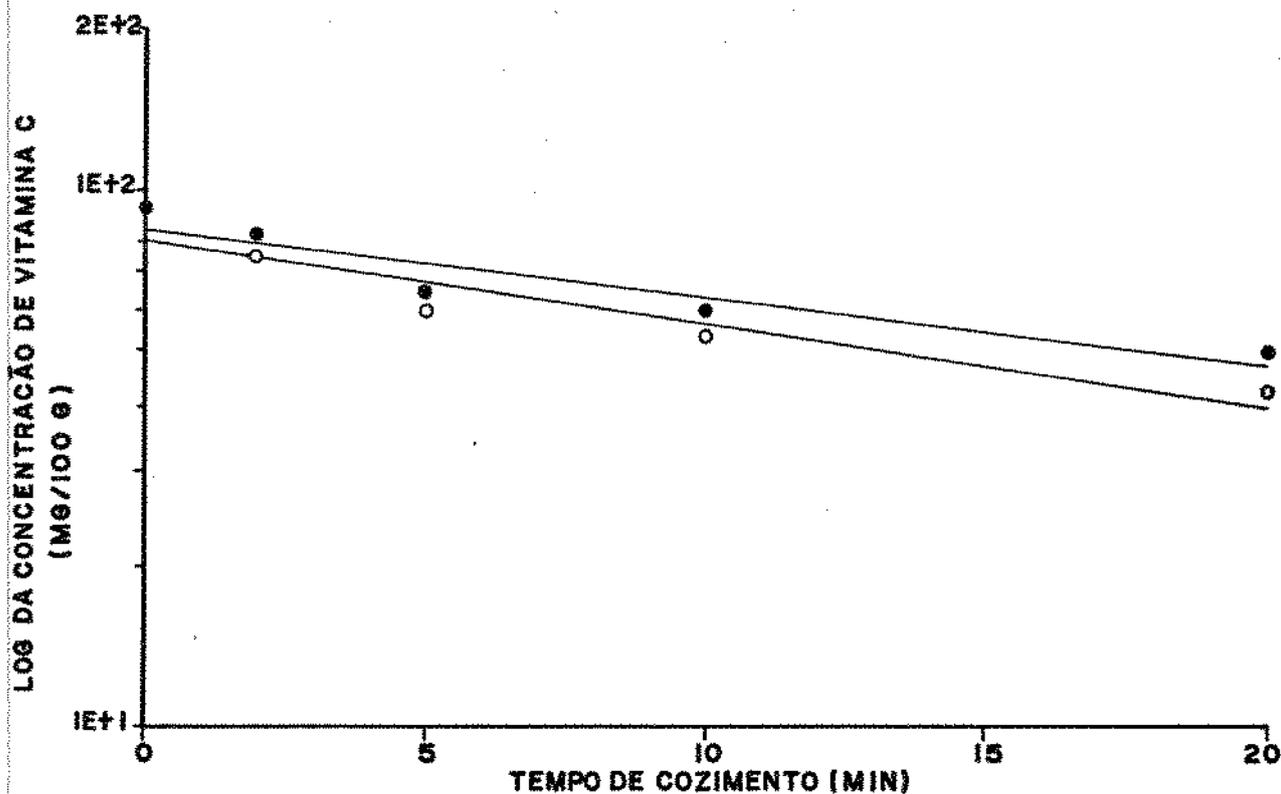


FIGURA 8. Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:8) na retenção de vitamina C em couve-flor ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ ).

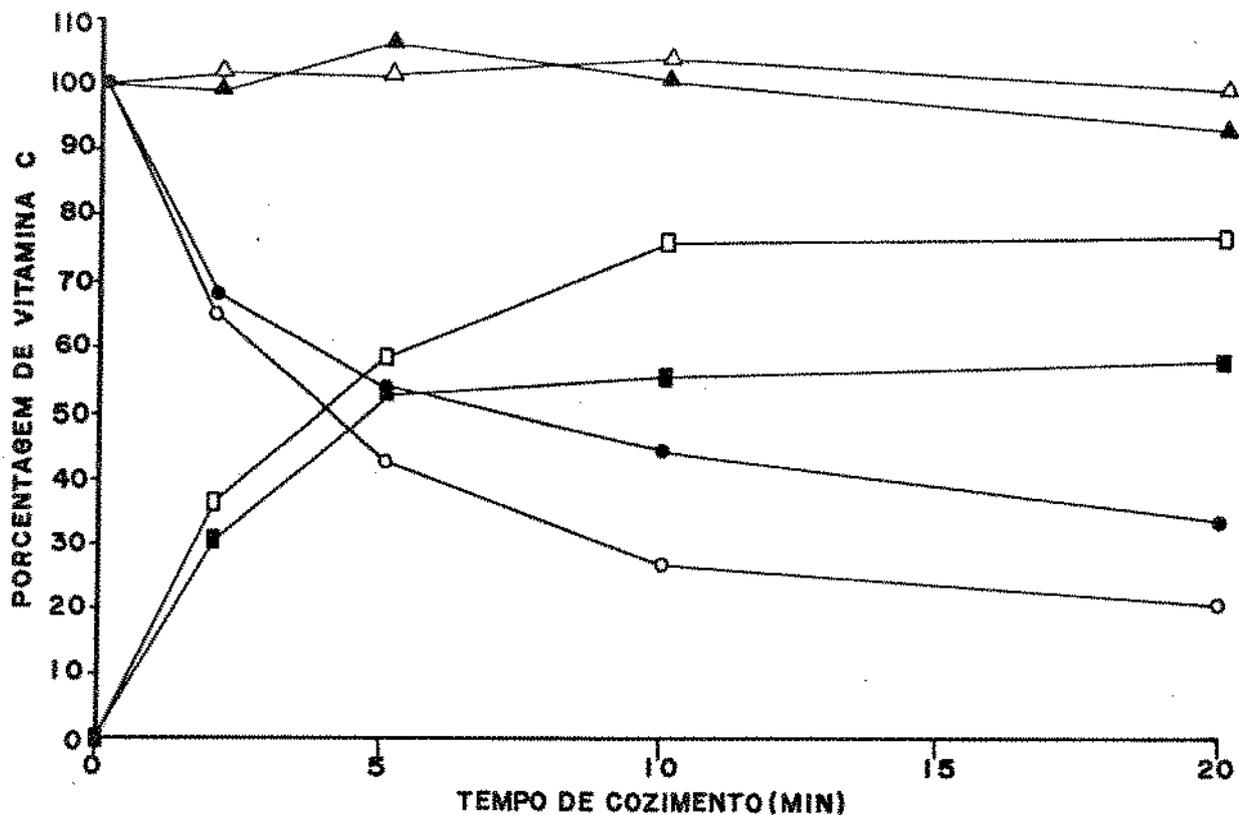


FIGURA 9. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:8) (T = 100°C)

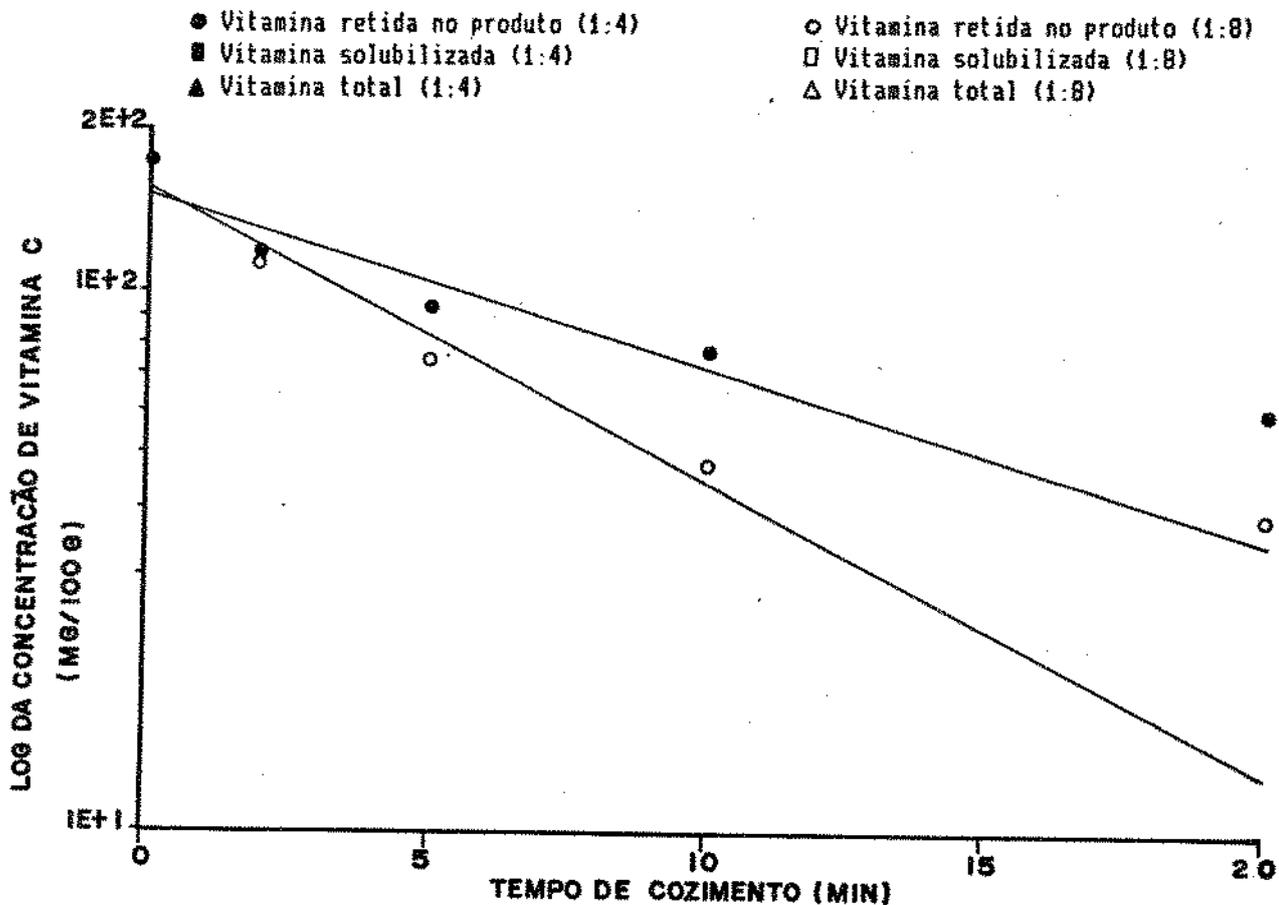


FIGURA 10. Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:8) na retenção de vitamina C em couve (T = 100°C)

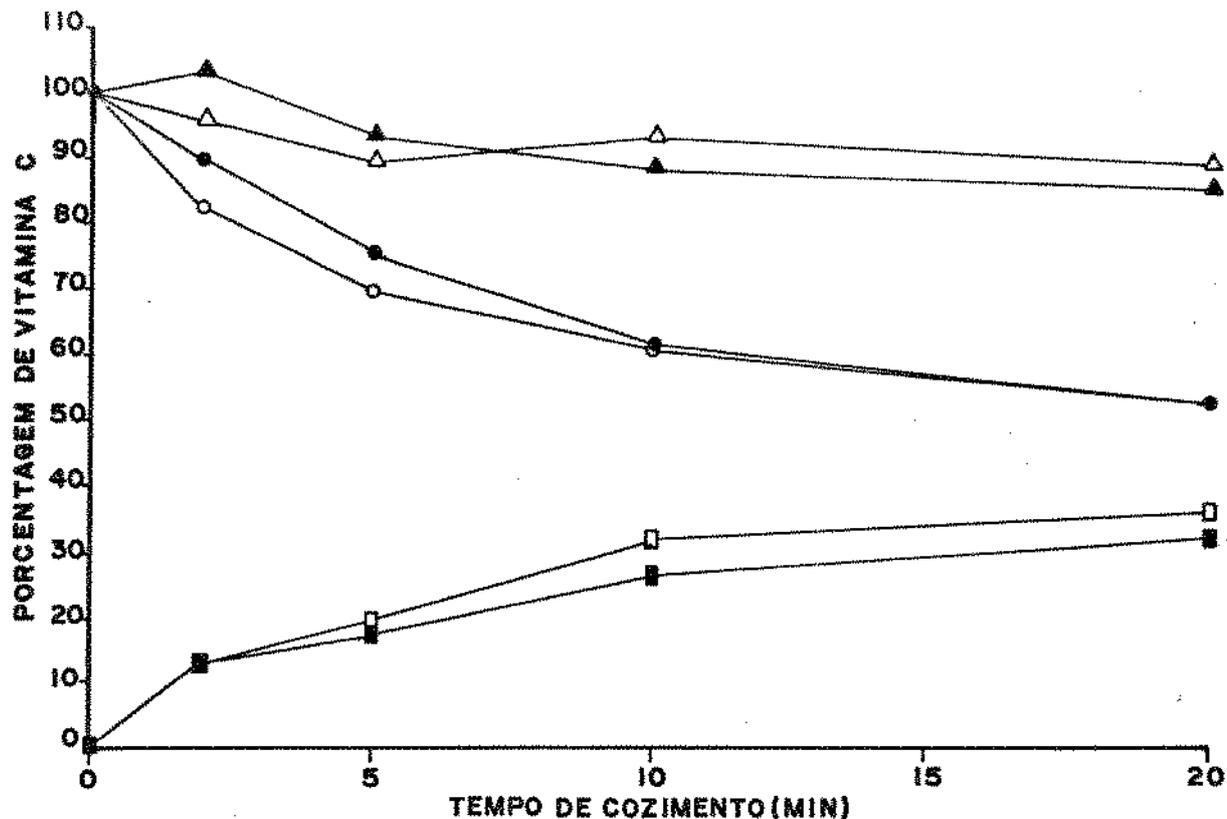


FIGURA 11. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:8) (T = 100°C)

- Vitamina retida no produto (1:4)
- Vitamina solubilizada (1:4)
- ▲ Vitamina total (1:4)
- Vitamina retida no produto (1:8)
- Vitamina solubilizada (1:8)
- △ Vitamina total (1:8)

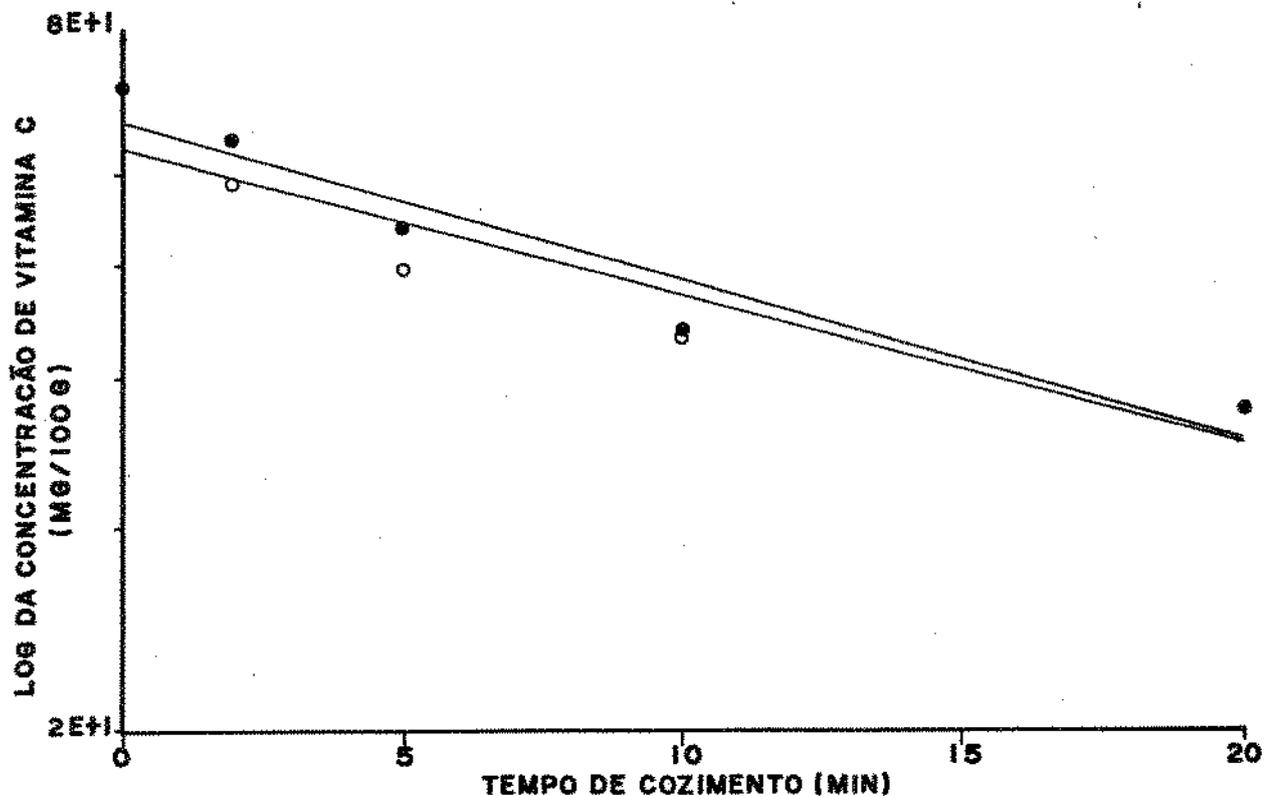


FIGURA 12. Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto (1:4 e 1:8) na retenção de vitamina C em pimentão (T = 100°C)

Para um dos vegetais, couve-flor, no qual não havia sido possível constatar diferença significativa com a mudança no tratamento, foram feitas diferentes variações na proporção de água (1:12 e 1:16), aumentando a quantidade de água de cozimento para 300 e 400 ml, respectivamente.

Os teores de vitamina C podem ser observados na Tabela 18. As porcentagens de retenção da vitamina em cada tipo de cozimento estão nas Figuras 13 e 15.

Não foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% entre os cozimentos na proporção de água/vegetal 1:4 e 1:12 e entre 1:12 e 1:16, com relação à quantidade de vitamina retida no produto e solubilizada na água de cozimento. Houve diferença significativa ao nível de 1% entre os tratamentos na proporção 1:4 e 1:16, havendo uma maior solubilização, com conseqüente diminuição no teor de vitamina no produto (Tabela 18).

O teor total de vitamina C não diferiu significativamente ao nível de 5% entre os tratamentos com diferentes proporções de água/vegetal (Tabela 18).

O log da concentração de vitamina C (mg/100g) retido no produto pelo tempo de cozimento em água está nas Figuras 14 e 16. Pode ser observado o aumento da velocidade de solubilização e a diminuição do tempo de meia vida da vitamina C (Tabela 19).

TABELA 18. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em diferentes proporções de água / vegetal (1:4, 1:12 e 1:16) (T = 100°C).

TEMPO (min)	1:4		1:12		1:16	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>						
0	99,02	± 1,94	99,02	± 1,94	99,02	± 1,94
2	75,82	± 1,70	73,14	± 6,41	70,49	± 2,18
5	61,10	± 2,97	61,27	± 2,26	56,05	± 4,53
10	53,62	± 2,55	51,33	± 1,48	45,90	± 1,59
20	47,61	± 1,92	36,68	± 2,79	35,36	± 0,20
<b>SOLUBILIZADA</b>						
0	-	-	-	-	-	-
2	18,55	± 0,56	17,82	± 0,92	30,42	± 3,22
5	32,43	± 1,11	37,74	± 9,57	43,65	± 3,22
10	36,69	± 5,00	41,64	± 4,06	54,91	± 5,88
20	51,36	± 1,73	54,56	± 7,74	63,04	± 3,29
<b>TOTAL</b>						
0	99,02	± 1,94	99,02	± 1,94	99,02	± 1,94
2	94,37	± 1,14	90,96	± 5,49	100,91	± 1,05
5	93,44	± 1,87	99,01	± 7,31	99,70	± 1,32
10	90,31	± 2,52	92,97	± 2,54	100,81	± 4,29
20	98,97	± 0,18	91,24	± 4,96	98,40	± 3,09

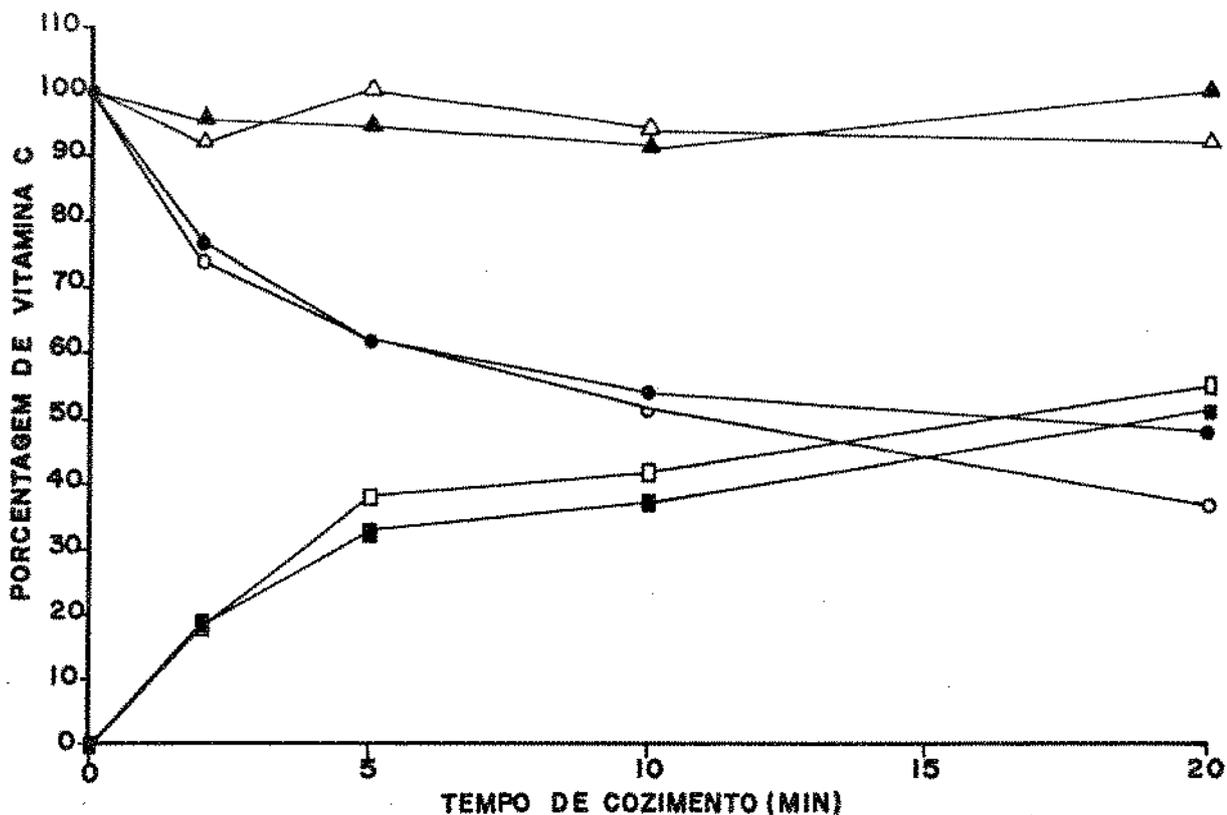


FIGURA 13. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:12) (T = 100°C)

- Vitamina retida no produto (1:4)
- Vitamina solubilizada (1:4)
- ▲ Vitamina total (1:4)
- Vitamina retida no produto (1:12)
- Vitamina solubilizada (1:12)
- △ Vitamina total (1:12)

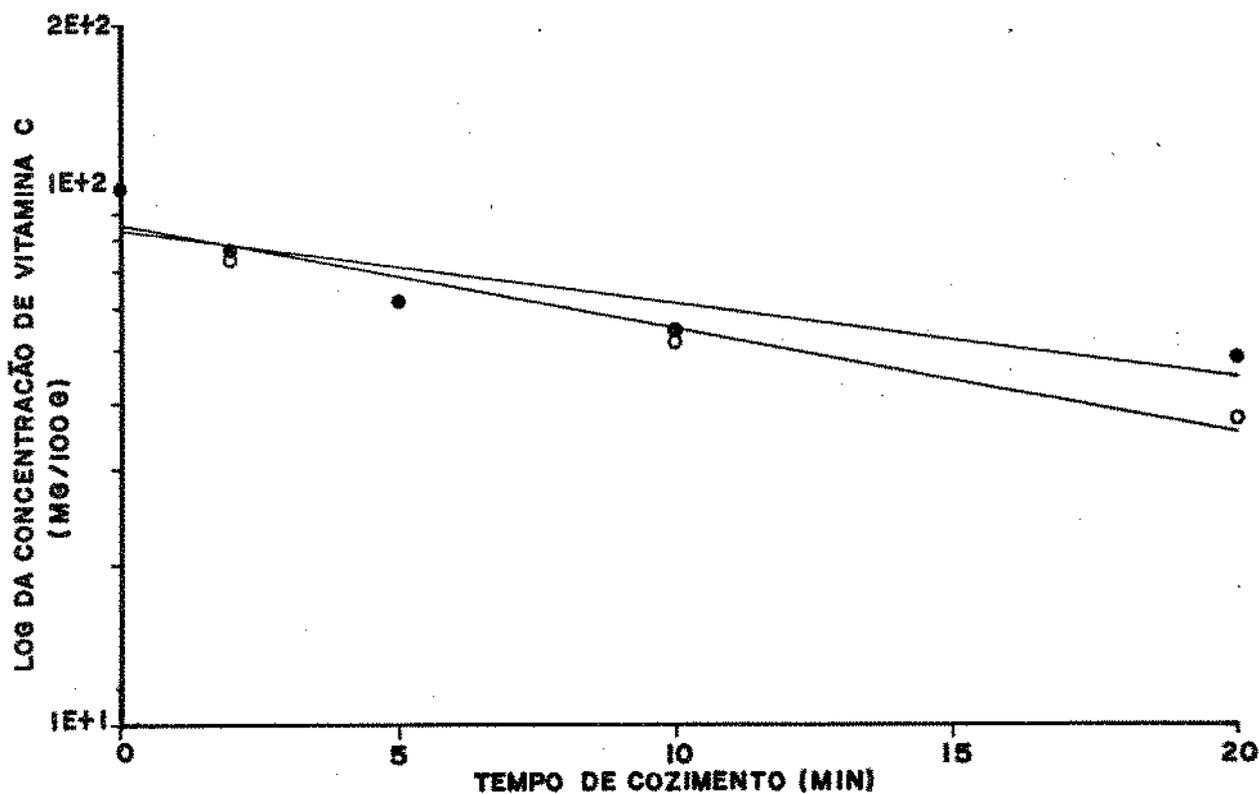


FIGURA 14. Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto na retenção de vitamina C em couve-flor (1:4 e 1:12) (T = 100°C)

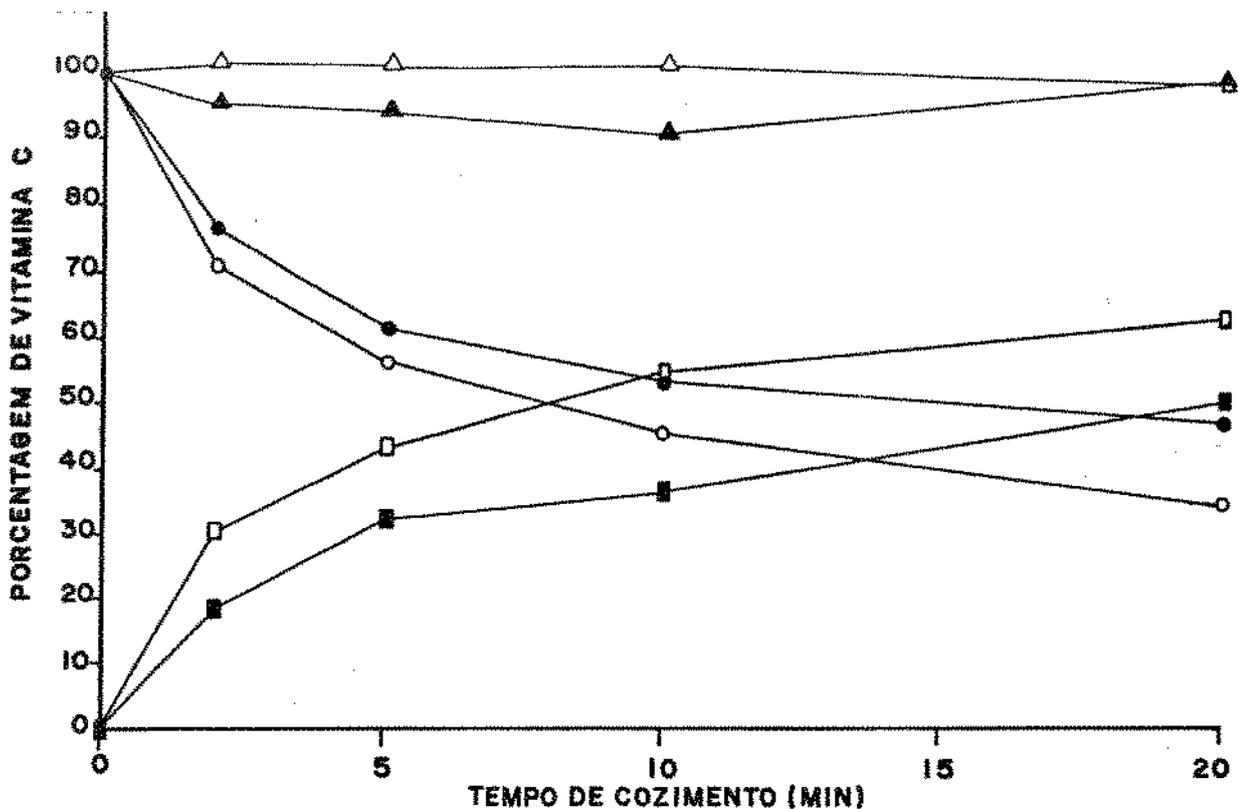


FIGURA 15. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em diferentes proporções de água e produto (1:4 e 1:16) (T = 100°C)

- Vitamina retida no produto (1:4)
- Vitamina solubilizada (1:4)
- ▲ Vitamina total (1:4)
- Vitamina retida no produto (1:16)
- Vitamina solubilizada (1:16)
- △ Vitamina total (1:16)

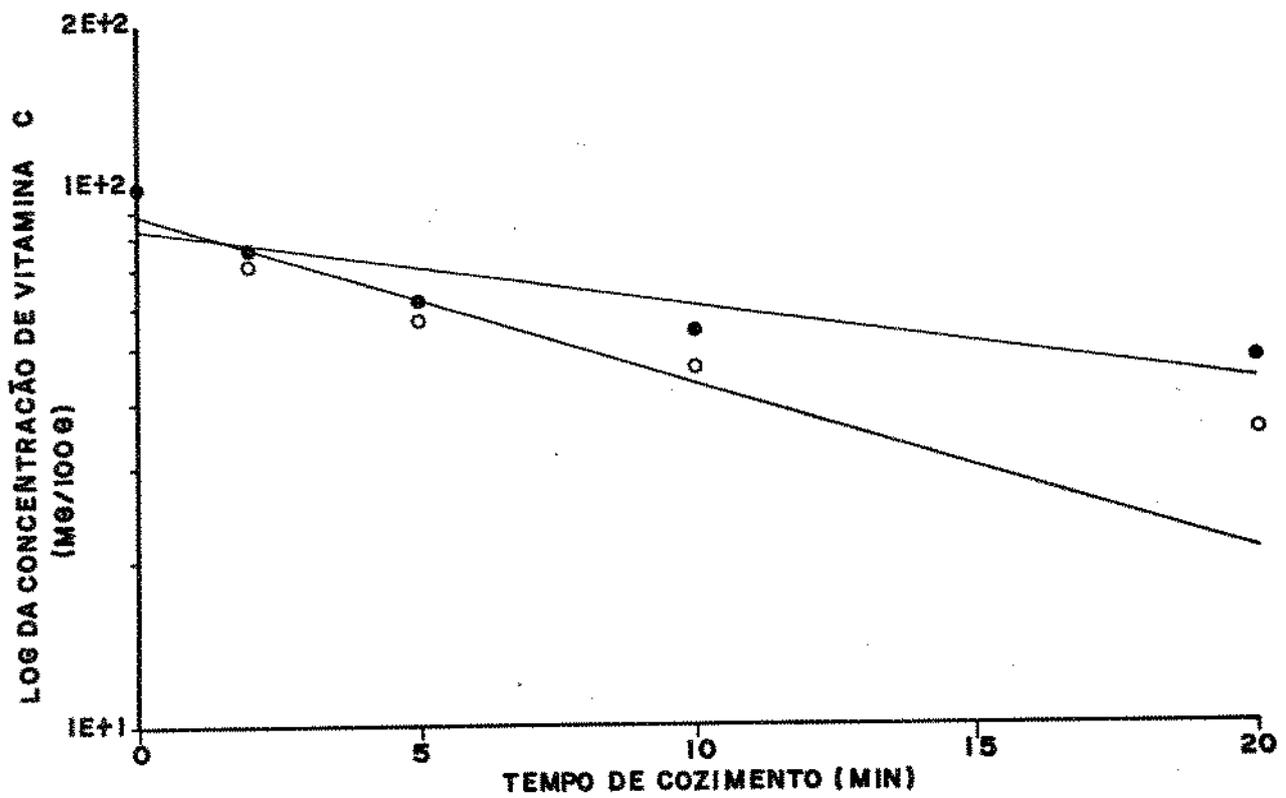


FIGURA 16. Efeito do tempo de cozimento e da proporção entre água e produto na retenção de vitamina C em couve-flor (1:4 e 1:16) (T = 100°C)

TABELA 19. Valores de  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ),  $t_{1/2}$  (min),  $r$  e nível de significância da correlação para o cozimento de vegetais em diferentes proporções de água:vegetal ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ ).

PRODUTO	PROPORÇÃO ÁGUA:VEGETAL	$k \times 10^2$	$t_{1/2}$	$r$	nível de significância
COUVE	1:4	7,30	7,64	0,91	10%
	1:8	12,40	4,69	0,91	10%
PIMENTÃO	1:4	3,13	19,98	0,96	1%
	1:8	2,89	23,90	0,93	2%
COUVE-FLOR	1:4	2,89	20,63	0,93	2%
	1:8	3,59	15,46	0,94	2%
COUVE-FLOR	1:4	3,22	15,91	0,88	5%
	1:12	4,48	12,01	0,96	1%
	1:16	7,20	8,05	0,95	5%

Para se estabelecer a influência de metais na água de cozimento, foi realizado um experimento com água de torneira, a qual deveria conter traços desses metais.

Amostras da água de cozimento foram submetidas à determinação de seu pH e dureza, e observou-se que as condições não eram muito agressivas a conservação da vitamina (Tabela 31).

Os experimentos mostraram uma pequena diminuição do teor de vitamina tanto no produto, quanto na água de cozimento (Tabelas 21, 22 e 23). A análise estatística, no entanto, mostrou que não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os teores de vitamina C retida no produto, solubilizada na água de cozimento e total.

As figuras 17, 19 e 21 mostram a distribuição relativa da vitamina nos vegetais durante o cozimento nos dois tipos de água.

Nas Figuras 18, 20 e 22 temos o log da concentração de vitamina C (mg/100 g) pelo tempo.

Para couve-flor, notou-se uma ligeira diminuição no tempo de meia vida da vitamina. Nos casos de pimentão e couve, praticamente não houve alteração com a utilização da água de torneira (Tabela 24).

TABELA 20. Características da água de torneira utilizada no cozimento: pH e dureza de água (mg CaCO<sub>3</sub>)

PRODUTO	pH	DUREZA
COUVE	6.82	1,11 ± 0,02
COUVE-FLOR	6.95	1.14 ± 0,01
PIMENTÃO	6.76	1.20 ± 0,01

TABELA 21. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em água destilada e de torneira (T = 100°C).

TEMPO (min)	DESTILADA		TORNEIRA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>				
0	94,19	± 10,50	94,19	± 10,50
2	73,39	± 10,29	70,92	± 3,56
5	64,62	± 3,54	62,74	± 3,55
10	49,25	± 0,44	44,70	± 4,60
20	42,82	± 2,15	38,01	± 0,13
<b>SOLUBILIZADA</b>				
0	-	-	-	-
2	16,78	± 0,62	17,88	± 0,22
5	29,12	± 3,54	25,45	± 0,22
10	38,11	± 0,40	36,75	± 7,94
20	44,81	± 0,05	41,68	± 2,91
<b>TOTAL</b>				
0	94,19	± 10,50	94,19	± 10,50
2	90,17	± 9,68	88,80	± 3,34
5	93,74	± 0,92	88,19	± 3,33
10	87,36	± 0,04	81,45	± 3,34
20	87,63	± 2,11	79,69	± 2,79

TABELA 22. Teor (mg/100g) de vitamina C em pimentão cozido em água destilada e de torneira (T = 100°C).

TEMPO (min)	DESTILADA		TORNEIRA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>				
0	104,18	± 10,20	104,18	± 10,20
2	92,45	± 7,50	89,96	± 12,11
5	83,14	± 7,52	85,05	± 4,14
10	68,31	± 9,37	69,04	± 3,49
20	51,07	± 1,02	51,31	± 2,46
<b>SOLUBILIZADA</b>				
0	-	-	-	-
2	9,15	± 2,51	10,28	± 3,22
5	16,63	± 4,54	16,41	± 3,27
10	27,12	± 6,07	24,77	± 4,85
20	36,72	± 8,02	33,72	± 1,90
<b>TOTAL</b>				
0	104,18	± 10,20	104,18	± 10,20
2	101,60	± 4,99	100,24	± 8,89
5	99,77	± 2,98	101,46	± 0,88
10	95,43	± 3,31	93,81	± 1,36
20	87,79	± 7,00	85,03	± 0,57

TABELA 23. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve cozida em água destilada e de torneira (T = 100°C).

TEMPO (min)	DESTILADA		TORNEIRA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>				
0	202,73	± 10,55	202,73	± 10,55
2	143,78	± 7,46	147,38	± 6,23
5	106,69	± 7,53	104,51	± 0,92
10	77,14	± 10,24	74,19	± 9,04
20	55,53	± 3,68	57,58	± 2,01
<b>SOLUBILIZADA</b>				
0				
2	48,66	± 12,58	40,72	± 10,45
5	73,69	± 5,90	75,55	± 9,78
10	100,91	± 8,91	103,91	± 1,78
20	105,14	± 6,91	103,30	± 2,17
<b>TOTAL</b>				
0	202,73	± 10,55	202,73	± 10,55
2	192,44	± 5,12	188,10	± 4,21
5	180,38	± 1,63	180,06	± 8,86
10	178,05	± 1,33	178,10	± 7,25
20	160,67	± 3,23	160,88	± 0,17

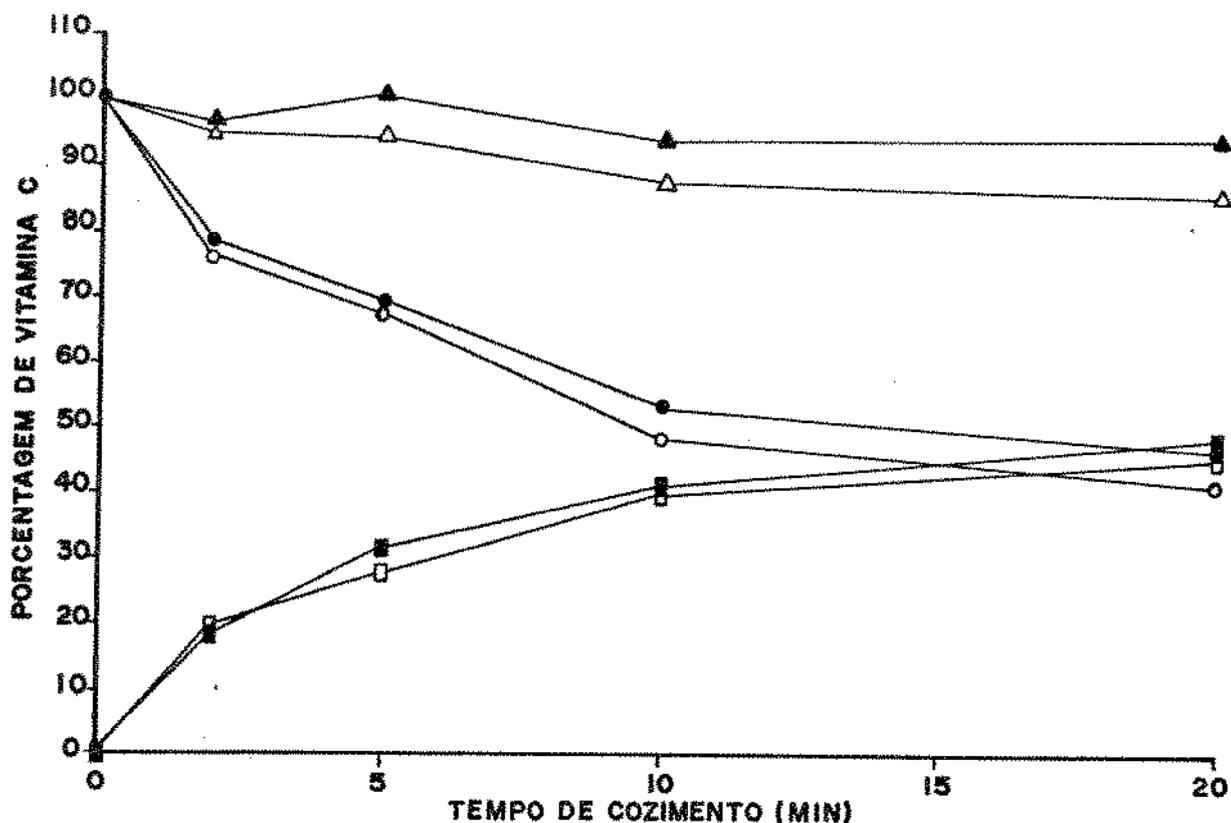


FIGURA 17. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água de torneira e destilada ( $T=100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (destilada)
- Vitamina solubilizada (destilada)
- ▲ Vitamina total (destilada)
- Vitamina retida no produto (torneira)
- Vitamina solubilizada (torneira)
- △ Vitamina total (torneira)

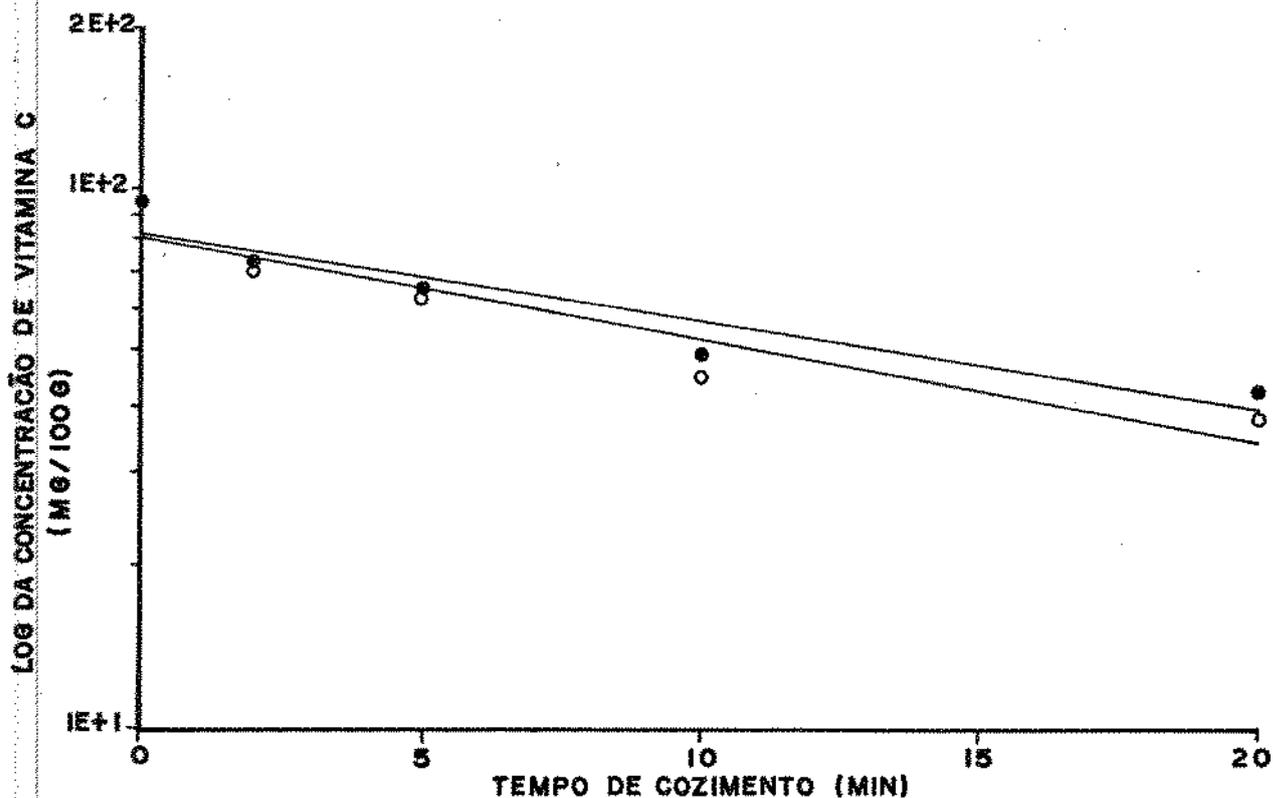


FIGURA 18. Efeito do tempo e de características da água de cozimento na retenção de vitamina C em couve-flor ( $T=100^{\circ}\text{C}$ )

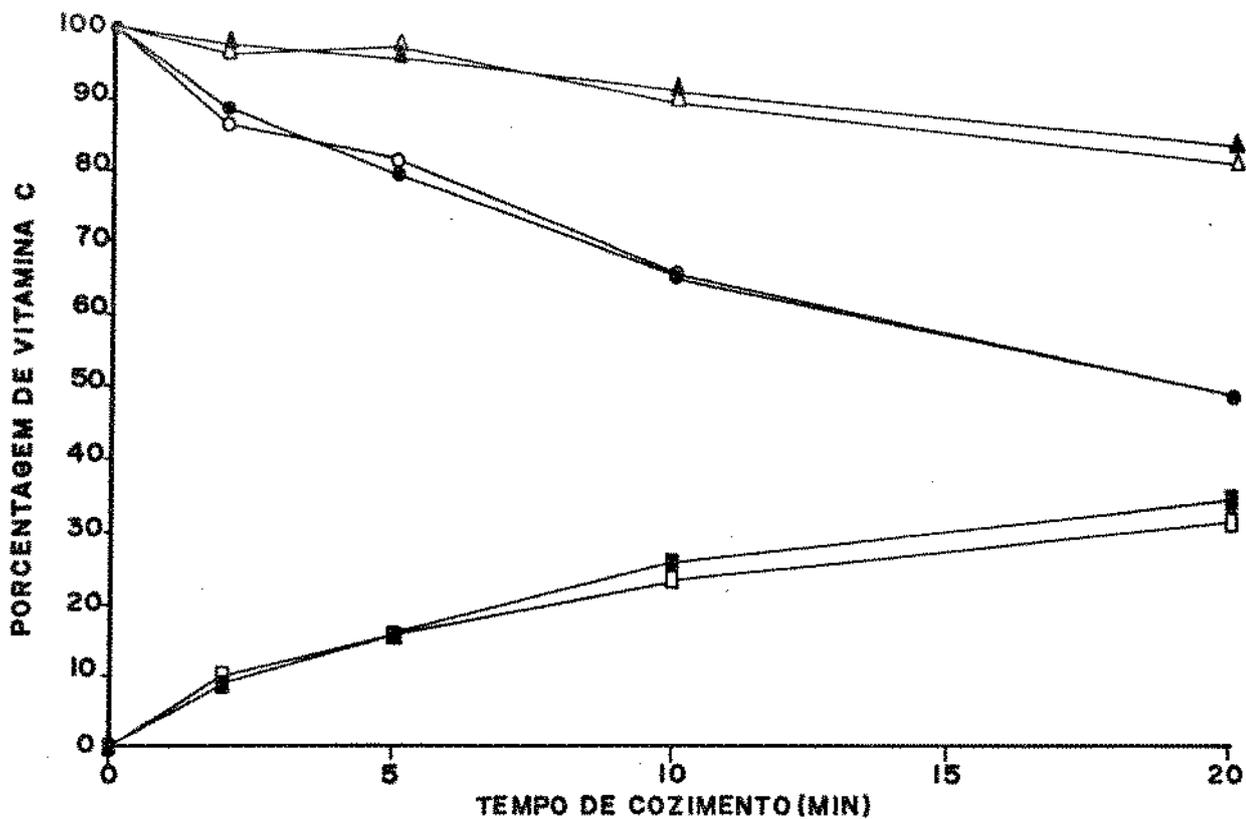


FIGURA 19. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água de torneira e destilada ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (destilada)
- Vitamina solubilizada (destilada)
- ▲ Vitamina total (destilada)
- Vitamina retida no produto (torneira)
- Vitamina solubilizada (torneira)
- △ Vitamina total (torneira)

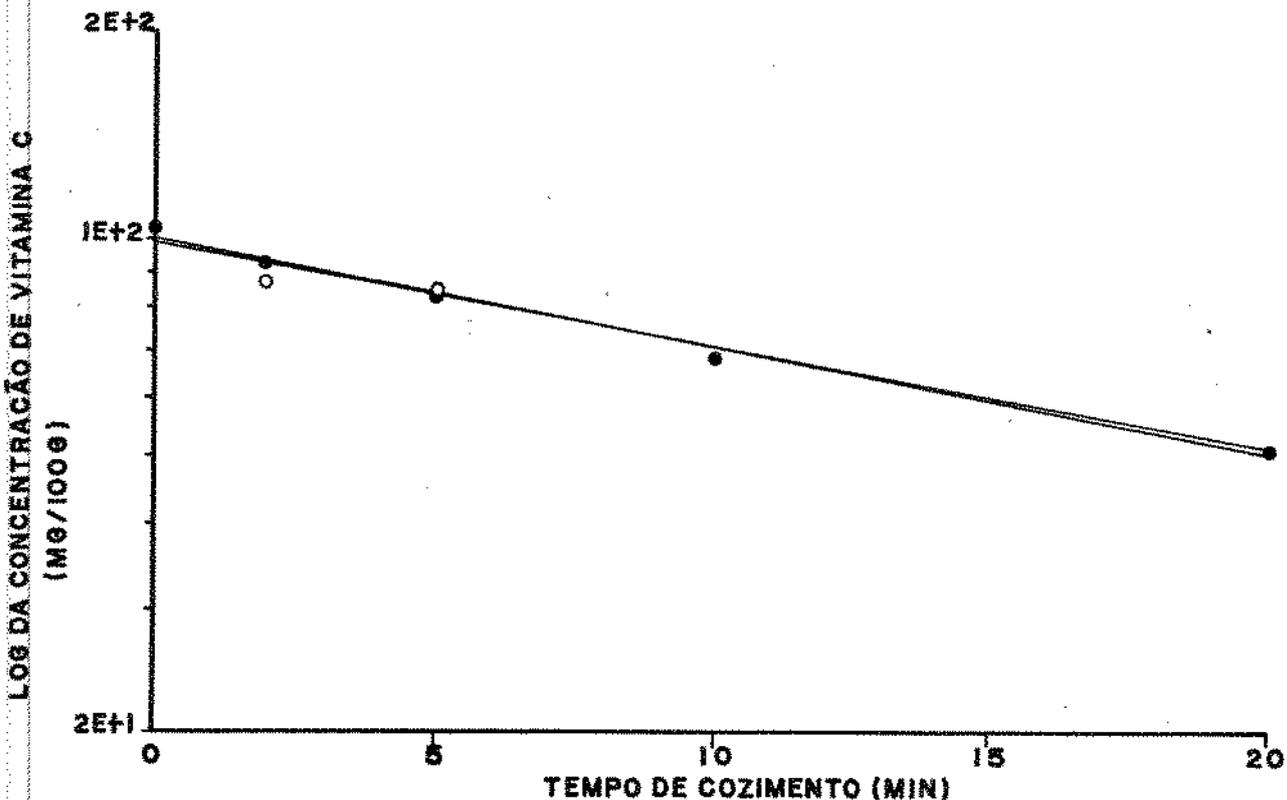


FIGURA 20. Efeito do tempo e de características da água de cozimento na retenção de vitamina C em pimentão ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

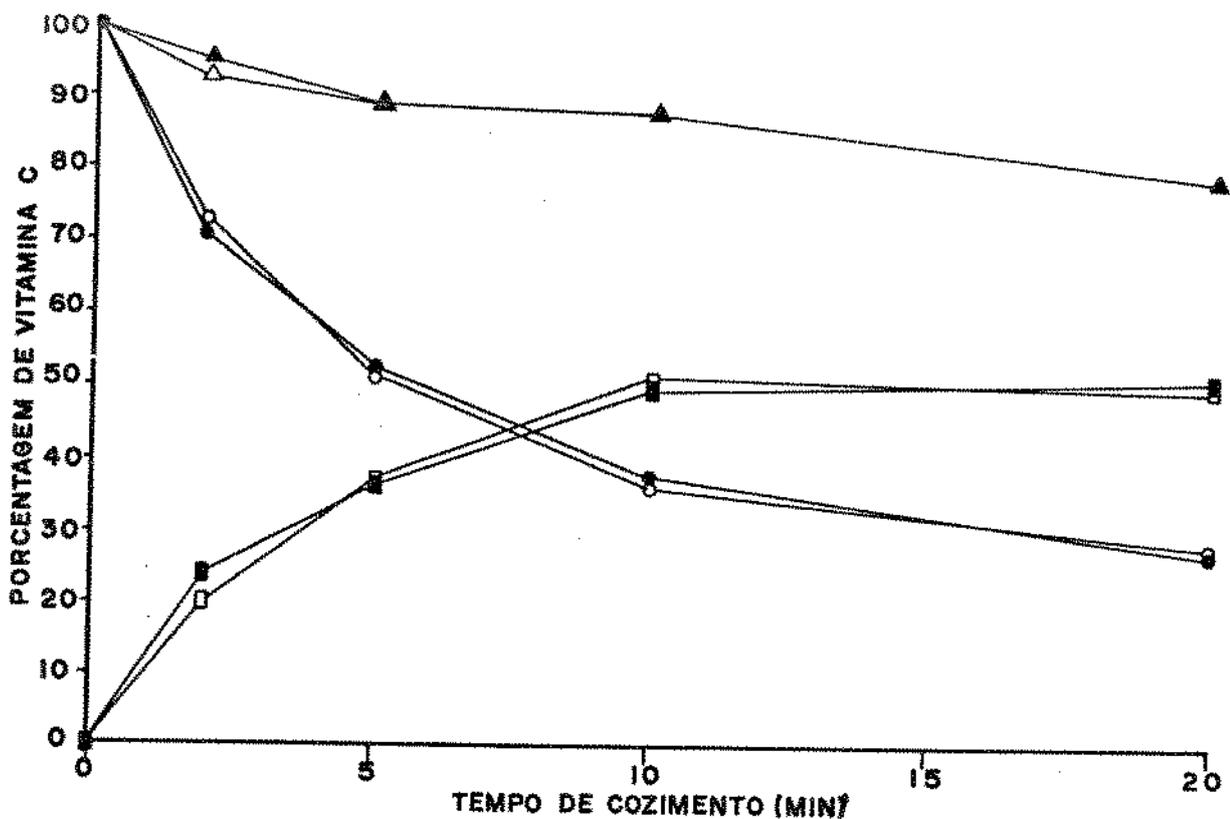


FIGURA 21. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água de torneira e destilada ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (destilada)
- Vitamina retida no produto (torneira)
- Vitamina solubilizada (destilada)
- Vitamina solubilizada (torneira)
- ▲ Vitamina total (destilada)
- △ Vitamina total (torneira)

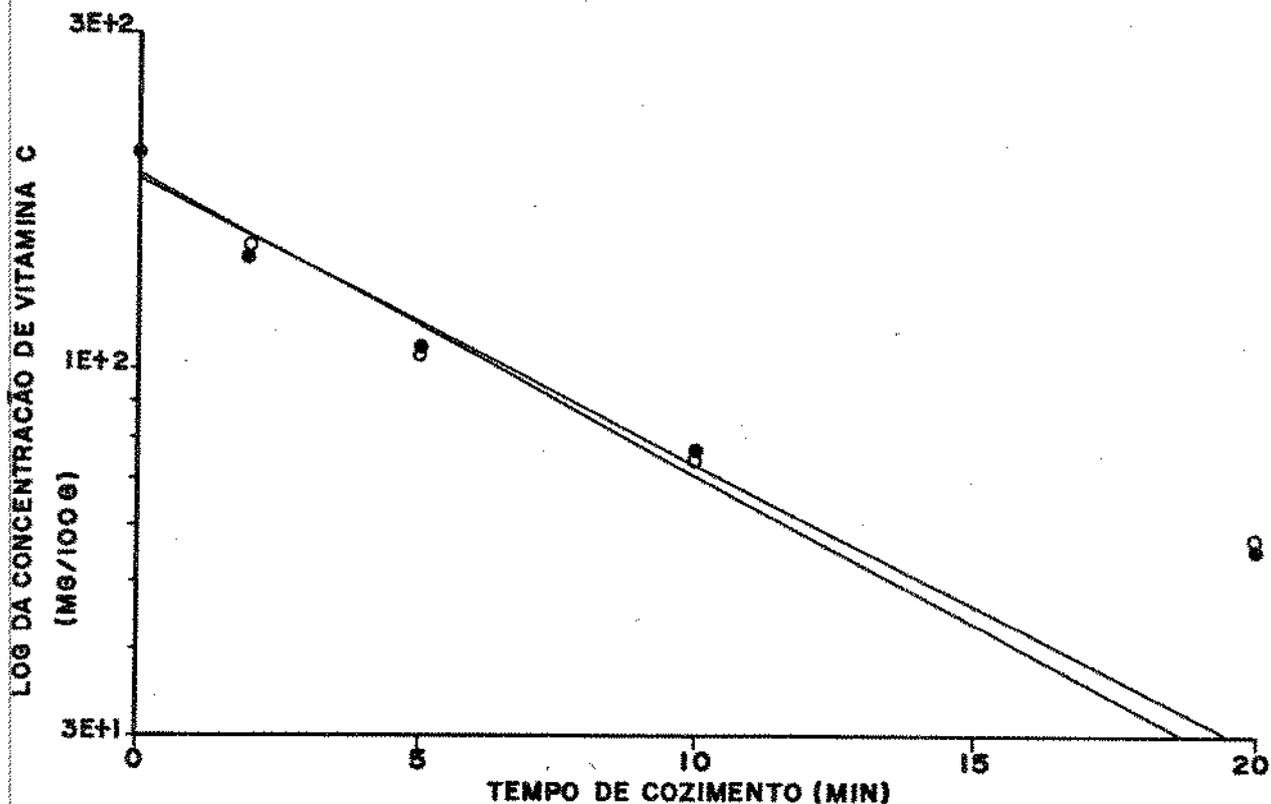


FIGURA 22. Efeito do tempo e de características da água de cozimento na retenção de vitamina C em couve-flor ( $T=100^{\circ}\text{C}$ )

TABELA 24. Valores de  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ),  $t_{1/2}$  (min),  $r$  e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em água destilada e de torneira ( $T = 100^\circ\text{C}$ ).

PRODUTO	TIPO DE ÁGUA	$k \times 10^2$	$t_{1/2}$	$r$	nível de significância
COUVE	destilada	9,28	6,46	0,98	1%
	torneira	9,80	6,26	0,98	1%
COUVE-FLOR	destilada	3,67	15,04	0,93	2%
	torneira	4,26	12,68	0,94	2%
PIMENTÃO	destilada	3,48	18,80	0,99	0,1%
	torneira	3,41	19,09	0,99	0,1%

A presença de íons metálicos não precisa estar somente relacionada à água de cozimento utilizada. Recipientes de materiais diferentes também podem influenciar na retenção.

Foram feitos experimentos com recipientes de alumínio e aço inox em comparação com o vidro, considerado como material inerte.

Foi constatada diminuição nos teores de vitamina, tanto na água de cozimento, quanto no produto e, conseqüentemente, na vitamina C total, sendo o efeito observado dependente do material e produto utilizados (Tabelas 25, 26 e 27)

Para couve e couve-flor, não houve diferença significativa ao nível de 5% entre os teores de vitamina C retidos no produto para os três tratamentos (Tabelas 25 e 26)

No caso de pimentão, também não foi constatada diferença significativa ao nível de 5% entre os cozimentos em vidro e alumínio. No entanto, houve diferença significativa no teor de vitamina retido no produto cozido em recipiente de vidro e em aço inox (ao nível de 1%) e entre alumínio e aço inox (ao nível de 5%), sendo as retenções de vitamina C no produto cozido em recipiente de aço inox sempre menores (Tabela 27).

Considerando-se o teor de vitamina solubilizado na solução, não houve diferença ao nível de 5% de significância entre os cozimentos em alumínio e aço inox para os três vegetais. Foi constatada diferença significativa entre os tratamentos em vidro e aço inox para couve e couve-flor (ao nível de 1%) e pimentão (ao nível de 5%). Foi também observada diferença significativa entre vidro e alumínio para couve-flor (ao nível de 1%) e couve e pimentão (ao nível de 5%). Foi observado sempre haver uma porcentagem maior de vitamina em solução em recipientes de vidro (Tabelas 25, 26 e 27).

Quanto aos teores de vitamina C total, foi constatado haver diferença significativa ao nível de 1% entre os três tratamentos para couve e pimentão, sendo a maior retenção obtida com

recipientes de vidro, seguido por alumínio e aço inox. Para couve-flor, não se observou diferença ao nível de 5% de significância entre os cozimentos em alumínio e aço inox, mas houve diferença significativa entre os tratamentos em vidro e alumínio (ao nível de 1%) e vidro e aço inox (ao nível de 5%), sendo obtida a maior retenção no cozimento em recipiente de vidro (Tabela 25).

As figuras 23, 25, 27, 29, 31 e 33 mostram as porcentagens de vitamina solubilizada, retida no produto e total para os vegetais, comparando o cozimento em recipientes de diferentes materiais.

O efeito da utilização de recipientes de material metálico (alumínio e aço inox) nos teores de vitamina C (retida no produto, solubilizada e total) foi diferenciado, variando de produto para produto. Esse fato, já havia sido anteriormente constatado na literatura (Floyd e Fraps, 1940; Brown e Fenton, 1942; Barnes et al., 1943), mas, como cada trabalho havia sido realizado por grupos distintos em épocas diferentes, não havia condição de se avaliar se as divergências eram devidas ao uso de vegetais diversos ou às técnicas e materiais utilizados.

Os dados de log da concentração pelo tempo estão nas Figuras 24, 26, 28, 30, 32 e 34. Os valores da constante de velocidade, tempo de meia vida e o coeficiente de correlação estão na Tabela 28. Pôde ser observado um aumento na velocidade de perda da vitamina no produto, com a conseqüente diminuição do tempo de meia vida, quando foram utilizados recipientes de alumínio e aço inox em comparação com um material inerte.

TABELA 25. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve-flor cozida em recipientes de diferentes materiais (T = 100°C).

TEMPO (min)	VIDRO		ALUMÍNIO		AÇO INOX	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
RETIDA						
0	93,58	± 1,12	93,58	± 1,12	93,58	± 1,12
2	74,08	± 2,91	72,11	± 7,15	75,96	± 3,49
5	60,30	± 5,47	62,22	± 5,85	64,78	± 6,59
10	49,37	± 2,27	46,02	± 10,31	53,46	± 8,35
20	41,50	± 0,69	41,04	± 10,76	45,56	± 0,29
SOLUBILIZADA						
0	-	-	-	-	-	-
2	27,65	± 5,01	17,58	± 3,08	17,94	± 2,47
5	32,01	± 2,09	21,91	± 3,77	25,55	± 0,62
10	46,27	± 11,66	37,97	± 0,76	32,17	± 4,57
20	53,62	± 11,72	37,02	± 2,35	38,58	± 4,95
TOTAL						
0	93,58	± 1,12	93,58	± 1,12	93,58	± 1,12
2	101,73	± 2,09	89,69	± 4,07	93,90	± 1,02
5	92,31	± 3,37	84,13	± 2,08	90,33	± 5,97
10	95,64	± 9,39	83,99	± 9,55	85,63	± 3,79
20	95,12	± 11,03	78,06	± 8,41	84,15	± 4,66

TABELA 26. Teor (mg/100g) de vitamina C em couve cozida em recipientes de diferentes materiais (T = 100°C).

TEMPO (min)	VIDRO		ALUMÍNIO		AÇO INOX	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>						
0	186,89	± 3,26	186,89	± 3,26	186,89	± 3,26
2	156,54	± 6,03	162,35	± 2,60	158,67	± 10,09
5	124,00	± 9,40	124,76	± 10,92	121,25	± 10,96
10	94,79	± 3,11	82,61	± 5,83	76,11	± 4,80
20	59,59	± 6,53	56,30	± 0,40	56,30	± 2,19
<b>SOLUBILIZADA</b>						
0	-	-	-	-	-	-
2	23,89	± 6,89	24,72	± 6,53	23,52	± 5,35
5	61,15	± 4,63	52,12	± 10,63	50,54	± 4,83
10	83,33	± 3,92	72,08	± 2,60	66,35	± 8,35
20	110,16	± 6,51	90,75	± 5,93	85,19	± 5,24
<b>TOTAL</b>						
0	186,89	± 3,26	186,89	± 3,26	186,89	± 3,26
2	180,43	± 0,86	187,07	± 3,93	182,19	± 4,75
5	185,15	± 4,77	176,88	± 0,28	171,79	± 6,12
10	178,12	± 0,81	154,69	± 3,22	142,46	± 3,47
20	169,75	± 0,02	147,05	± 5,52	141,49	± 3,05

TABELA 27. Teor (mg/100g) de vitamina C em pimentão cozido em recipientes de diferentes materiais (T = 100°C).

TEMPO (min)	VIDRO		ALUMÍNIO		AÇO INOX	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
<b>RETIDA</b>						
0	154,57	± 3,39	154,57	± 3,39	154,57	± 3,39
2	141,81	± 10,97	136,67	± 10,51	111,50	± 1,71
5	117,32	± 1,64	106,14	± 3,34	96,14	± 7,40
10	103,18	± 10,58	85,19	± 7,25	79,23	± 3,60
20	73,06	± 2,72	70,46	± 11,31	64,16	± 2,25
<b>SOLUBILIZADA</b>						
0	-	-	-	-	-	-
2	12,49	± 2,79	13,33	± 4,40	12,93	± 4,11
5	18,88	± 1,44	14,42	± 1,94	13,40	± 0,15
10	30,23	± 8,75	23,87	± 1,72	18,50	± 2,26
20	48,89	± 8,65	31,88	± 7,50	32,82	± 5,42
<b>TOTAL</b>						
0	154,57	± 3,39	154,57	± 3,39	154,57	± 3,39
2	154,30	± 8,19	150,00	± 6,11	124,43	± 2,40
5	136,20	± 0,21	120,56	± 1,40	109,54	± 7,25
10	133,41	± 1,83	109,06	± 5,54	97,73	± 1,34
20	121,95	± 5,93	102,34	± 3,82	96,98	± 3,17

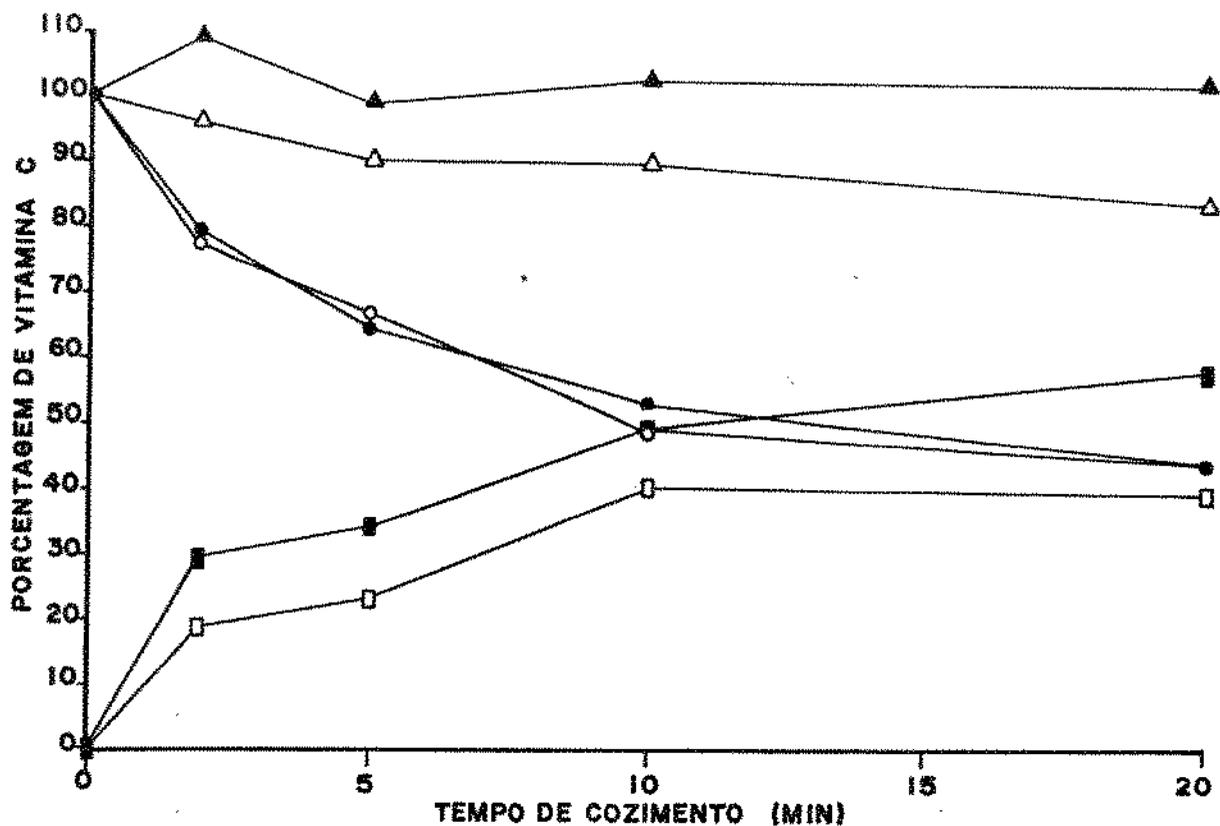


FIGURA 23. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e alumínio) ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (vidro)
- Vitamina retida no produto (alumínio)
- Vitamina solubilizada (vidro)
- Vitamina solubilizada (alumínio)
- ▲ Vitamina total (vidro)
- △ Vitamina total (alumínio)

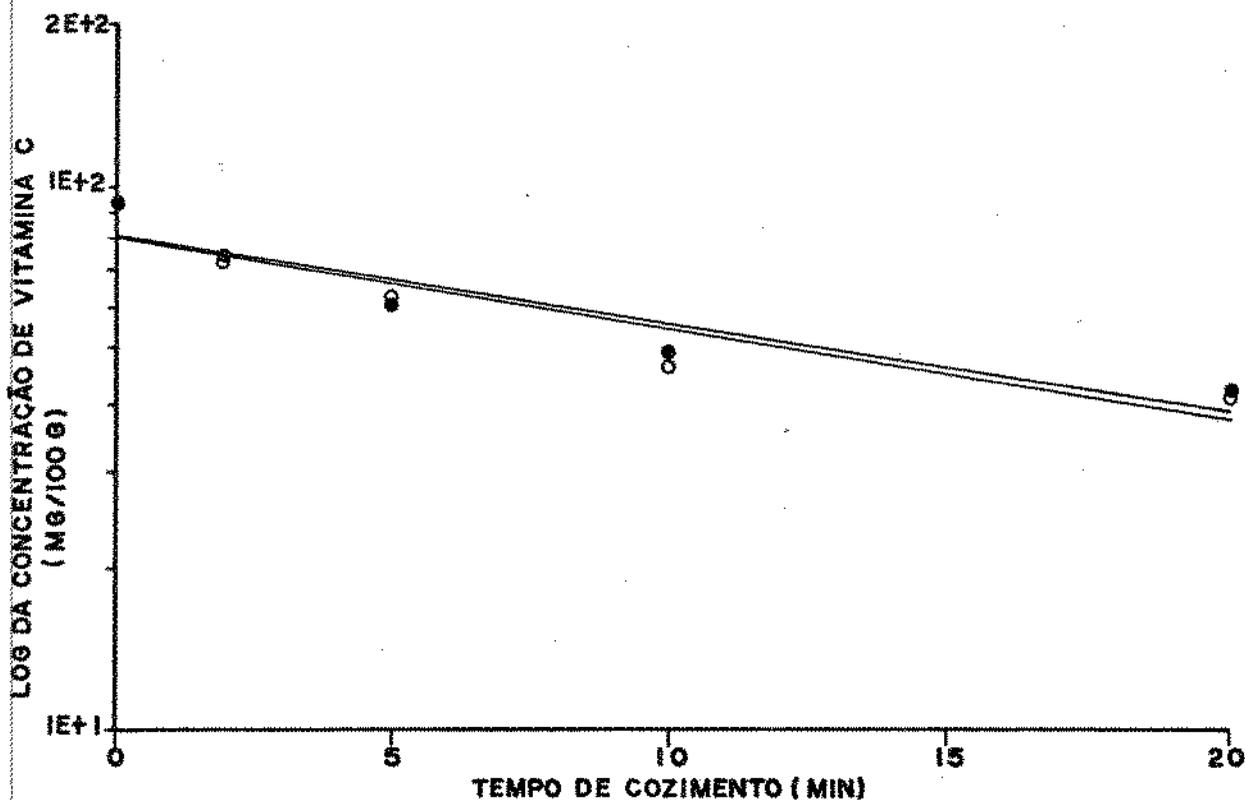


FIGURA 24. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e alumínio) na retenção de vitamina C em couve-flor cozida em água ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

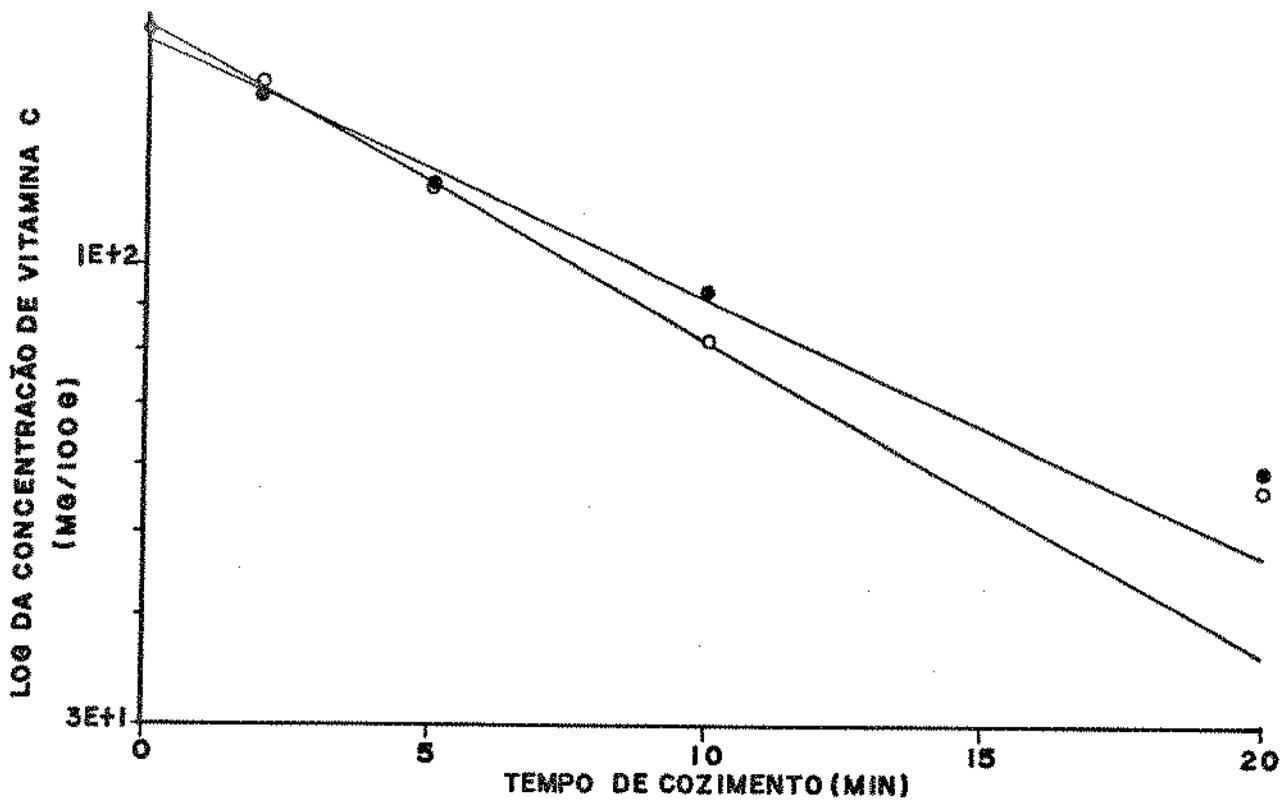


FIGURA 25. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e alumínio) (T = 100°C)

- Vitamina retida no produto (vidro)
- Vitamina retida no produto (alumínio)
- Vitamina solubilizada (vidro)
- Vitamina solubilizada (alumínio)
- ▲ Vitamina total (vidro)
- △ Vitamina total (alumínio)

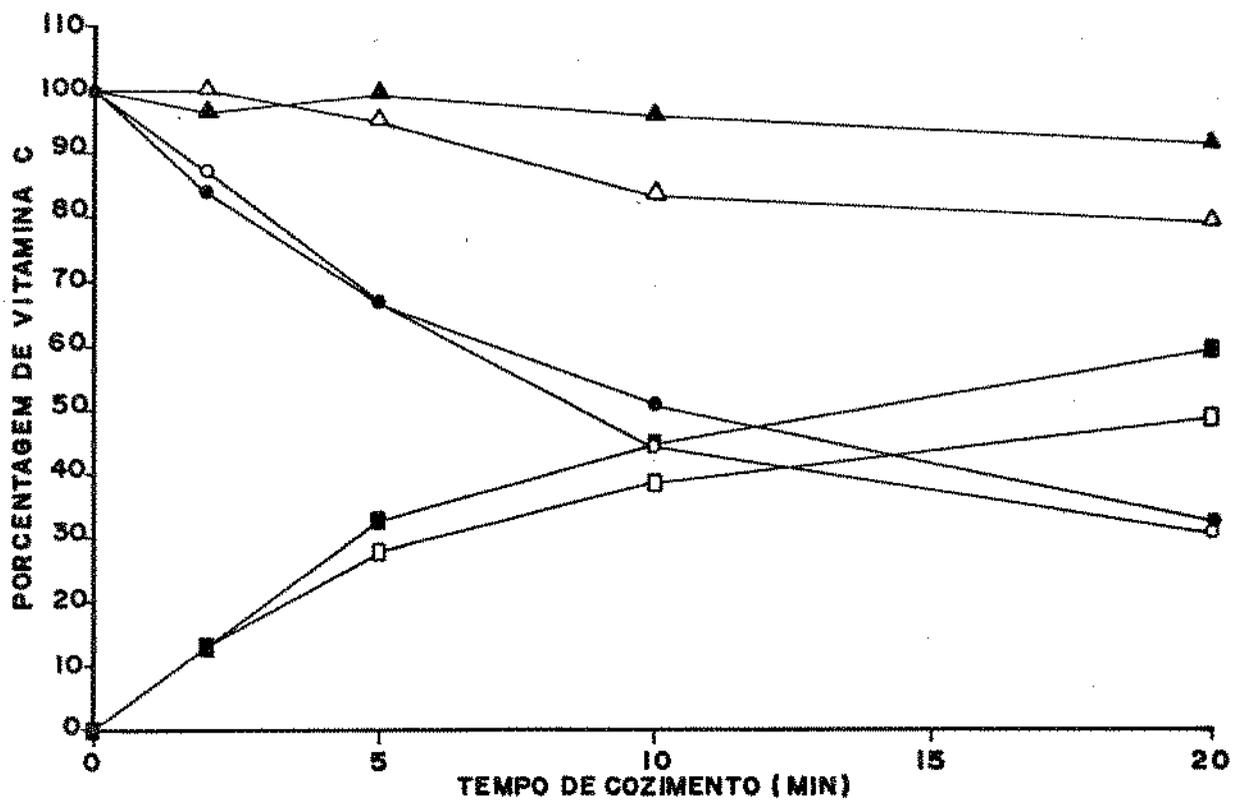


FIGURA 26. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e alumínio) na retenção de vitamina C em couve cozida em água (T = 100°C)

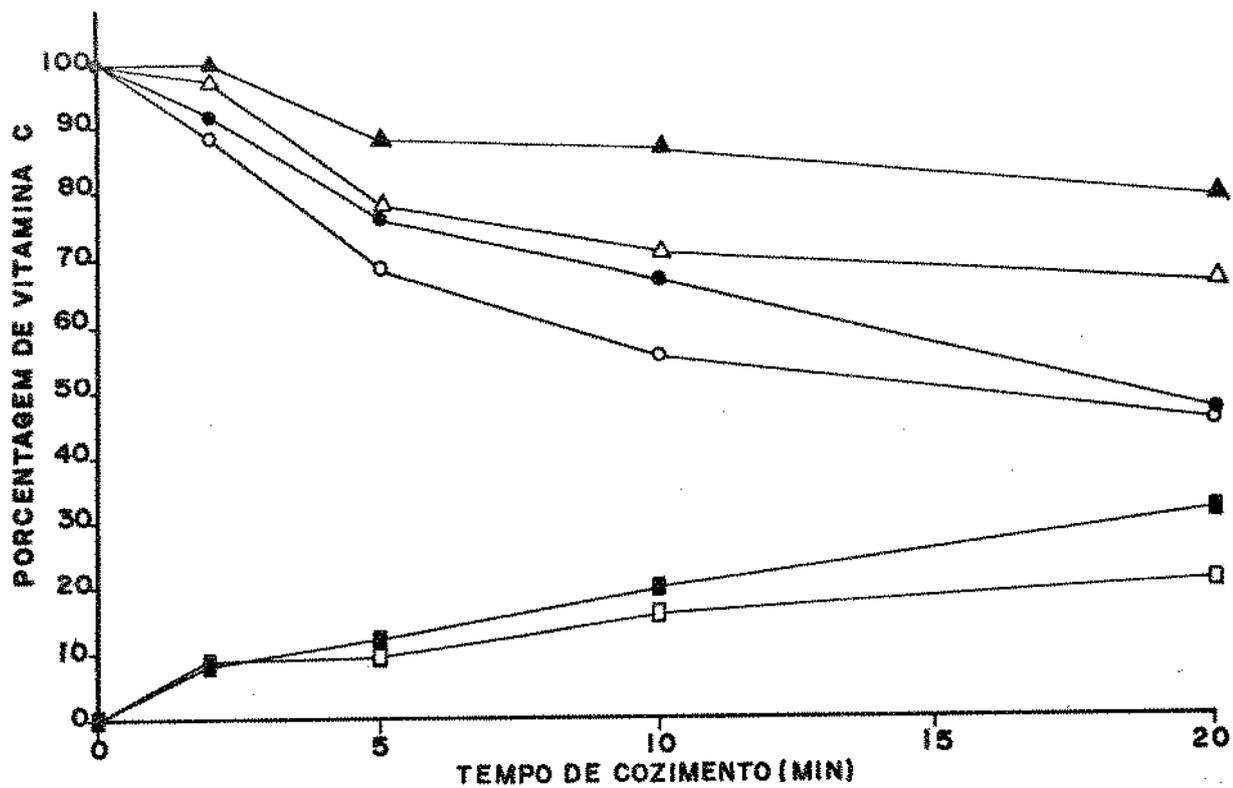


FIGURA 27. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e alumínio) ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (vidro)
- Vitamina solubilizada (vidro)
- ▲ Vitamina total (vidro)
- Vitamina retida no produto (alumínio)
- Vitamina solubilizada (alumínio)
- △ Vitamina total (alumínio)

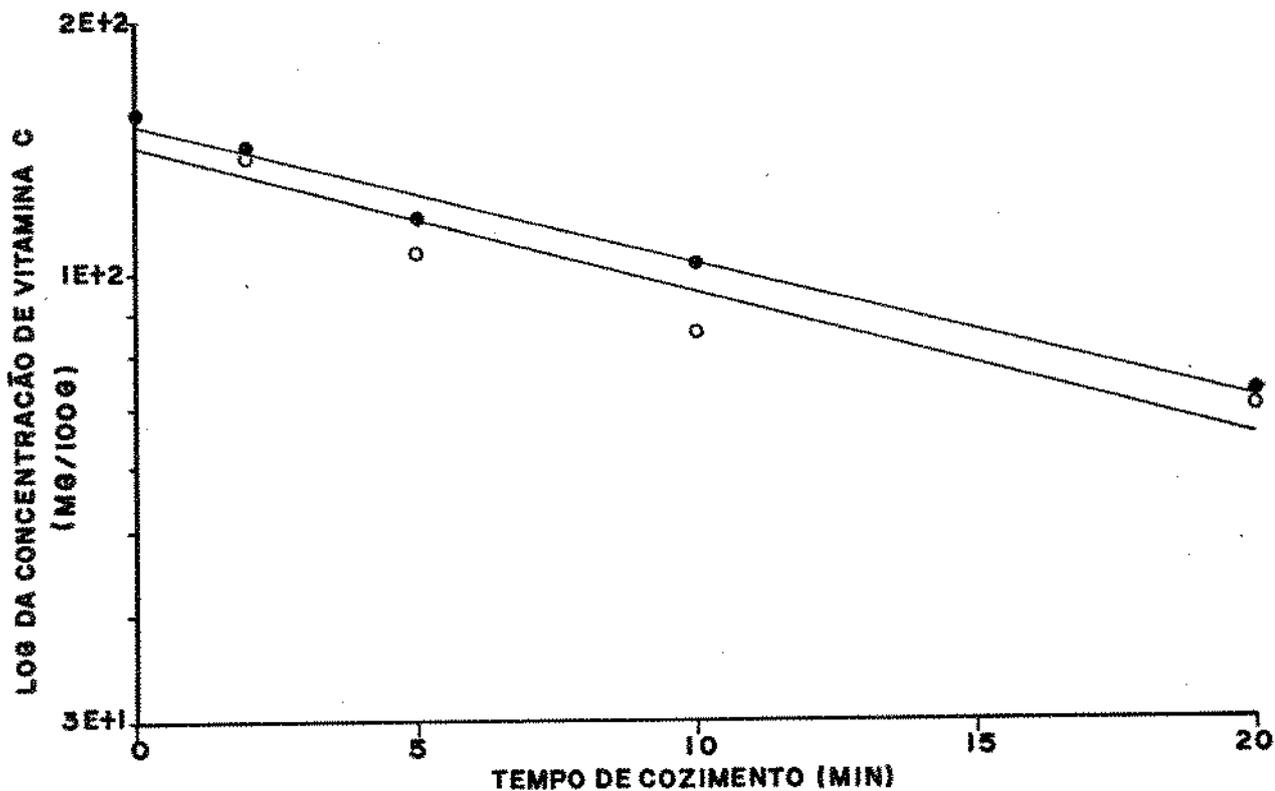


FIGURA 28. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e alumínio) na retenção de vitamina C em pimentão cozido em água ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

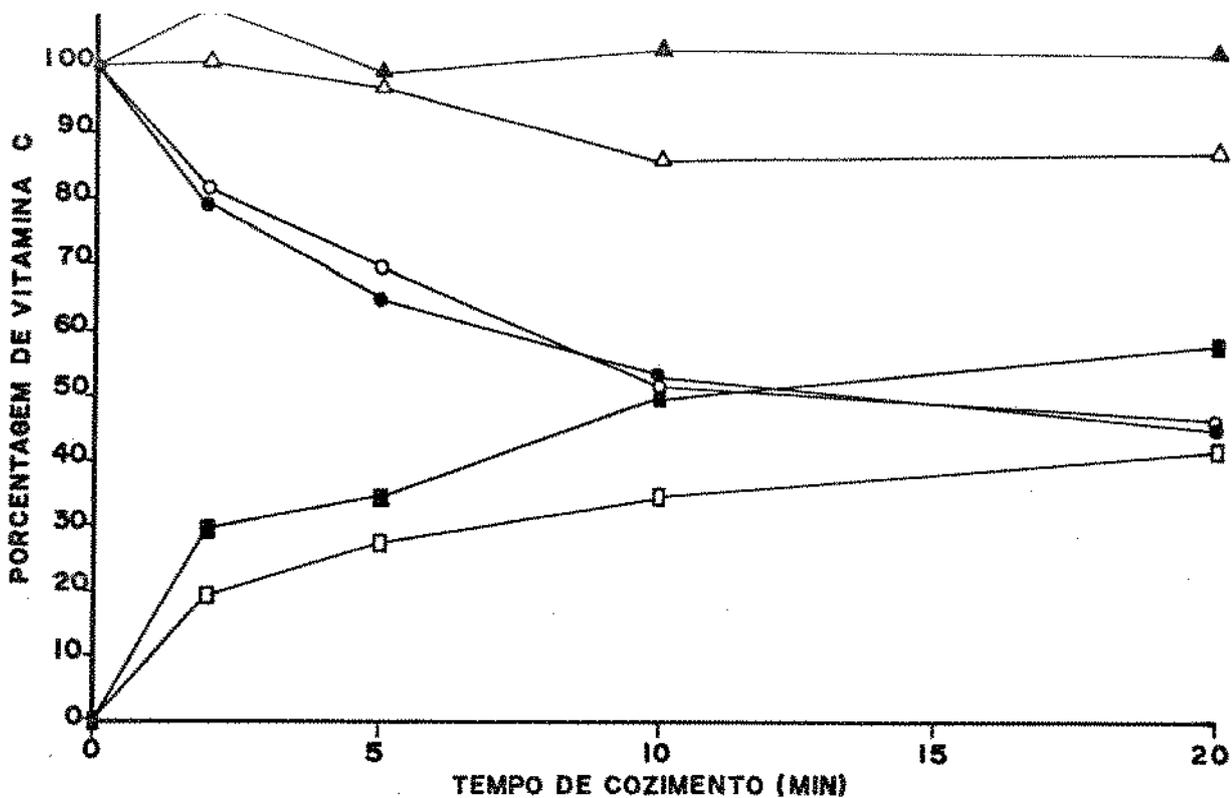


FIGURA 29. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e aço inox) ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (vidro)
- Vitamina solubilizada (vidro)
- ▲ Vitamina total (vidro)
- Vitamina retida no produto (aço inox)
- Vitamina solubilizada (aço inox)
- △ Vitamina total (aço inox)

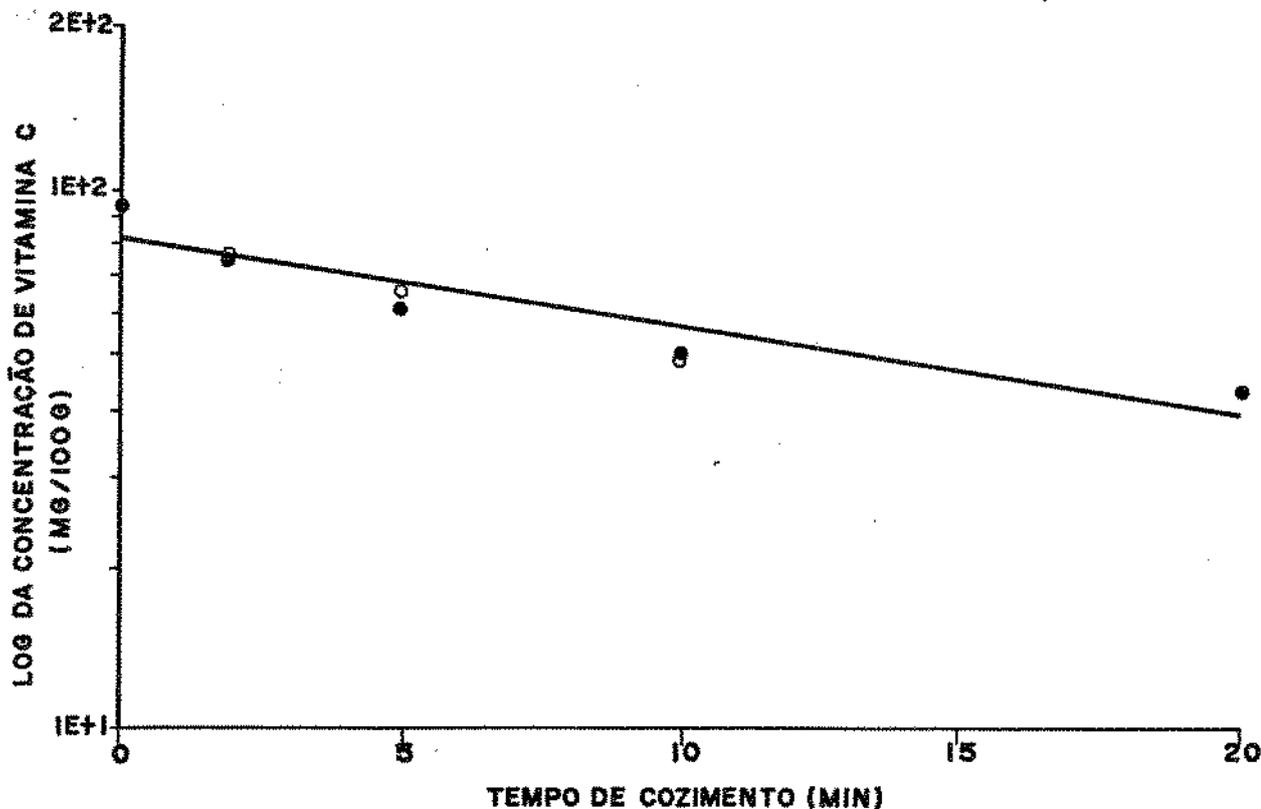


FIGURA 30. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e aço inox) na retenção de vitamina C em couve-flor cozida em água ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

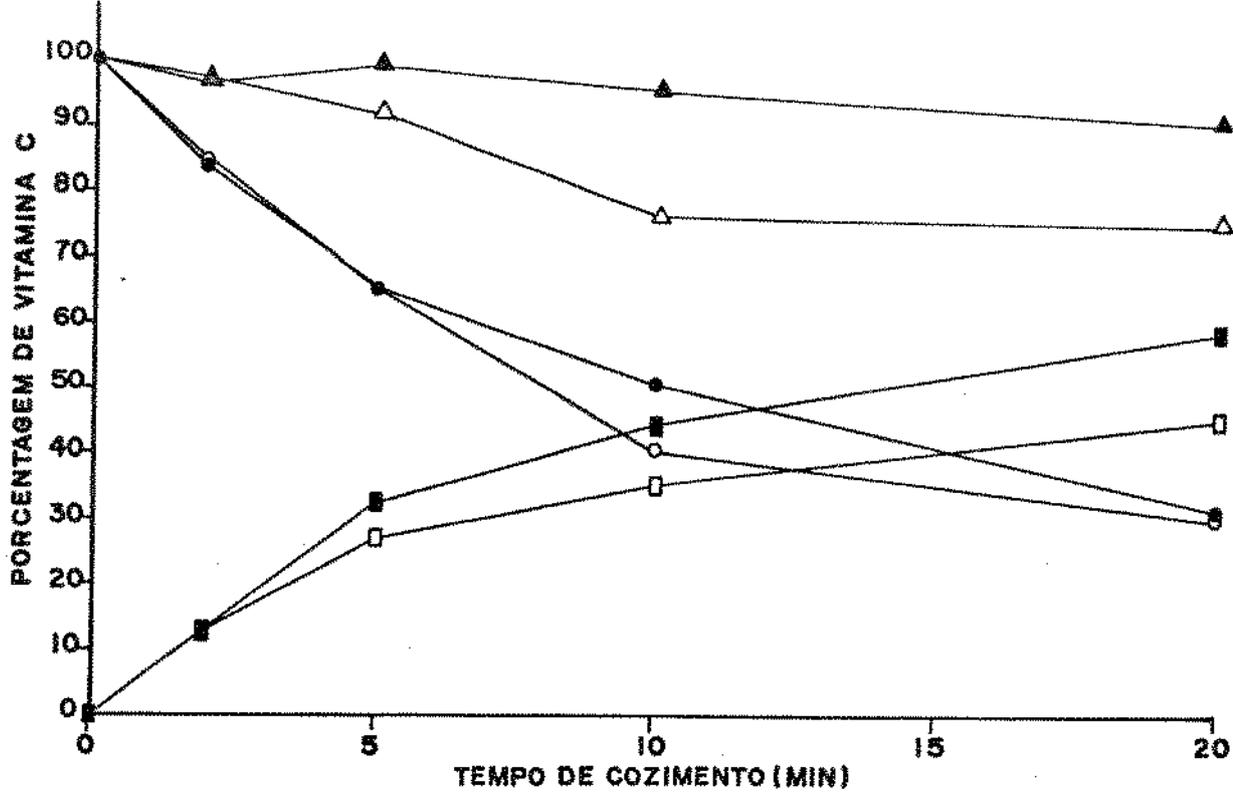


FIGURA 31. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de couve em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e aço inox) ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (vidro)
- Vitamina solubilizada (vidro)
- ▲ Vitamina total (vidro)
- Vitamina retida no produto (aço inox)
- Vitamina solubilizada (aço inox)
- △ Vitamina total (aço inox)

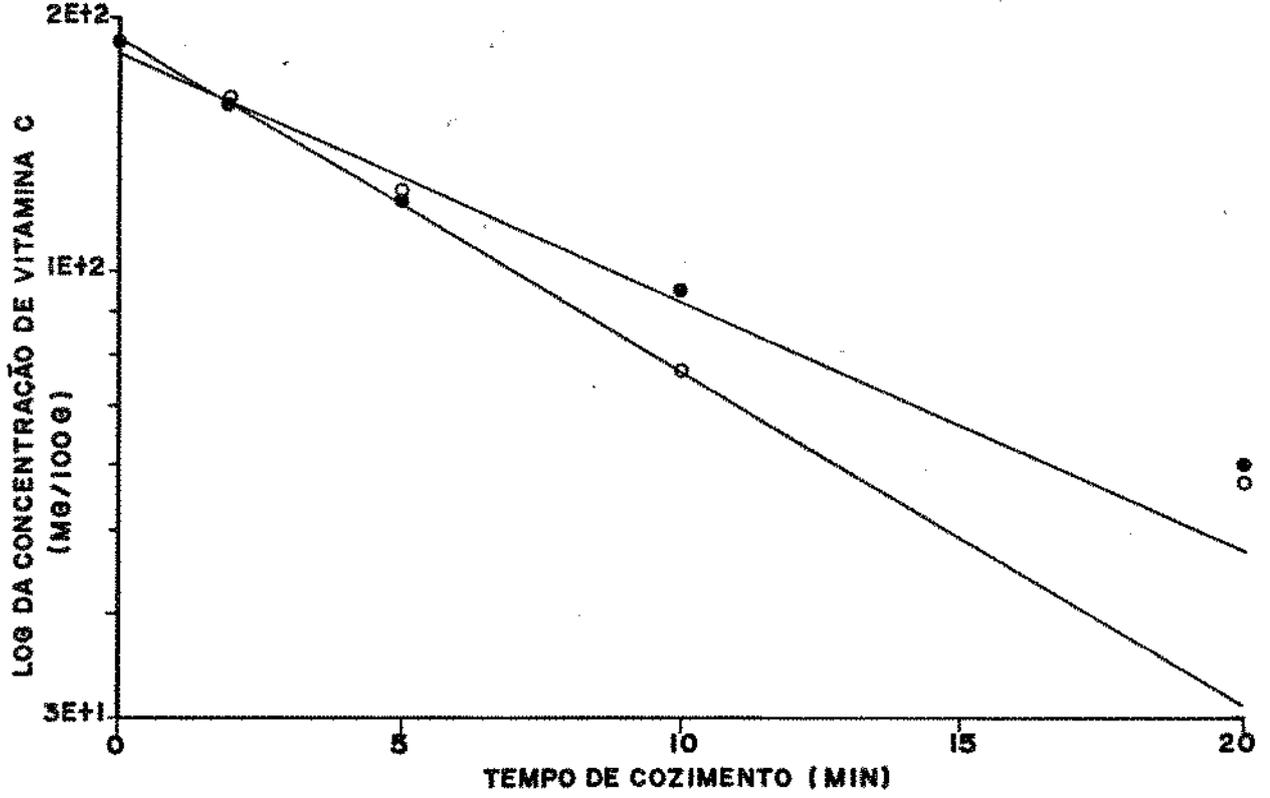


FIGURA 32. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e aço inox) na retenção de vitamina C em couve cozida em água ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

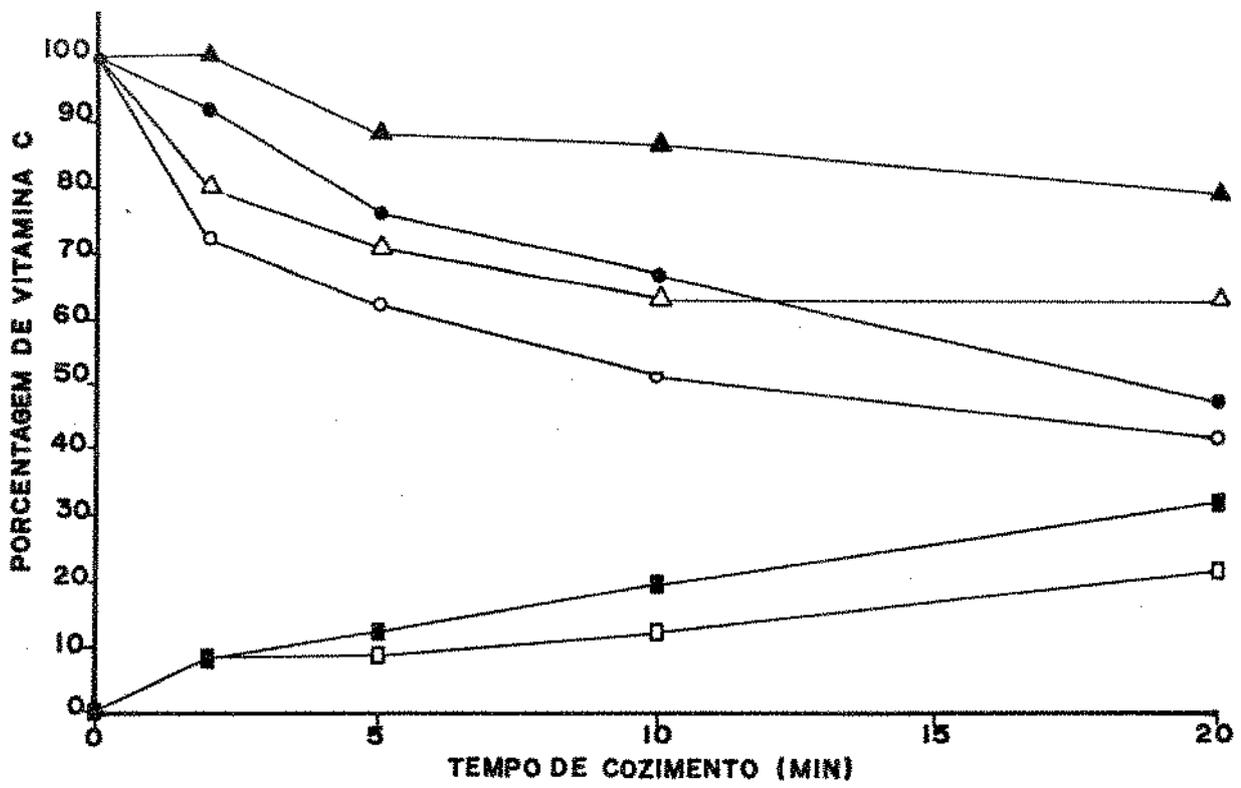


FIGURA 33. Distribuição relativa de vitamina C durante o cozimento de pimentão em água em recipientes de diferentes materiais (vidro e aço inox) ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

- Vitamina retida no produto (vidro)
- Vitamina solubilizada (vidro)
- ▲ Vitamina total (vidro)
- Vitamina retida no produto (aço inox)
- Vitamina solubilizada (aço inox)
- Δ Vitamina total (aço inox)

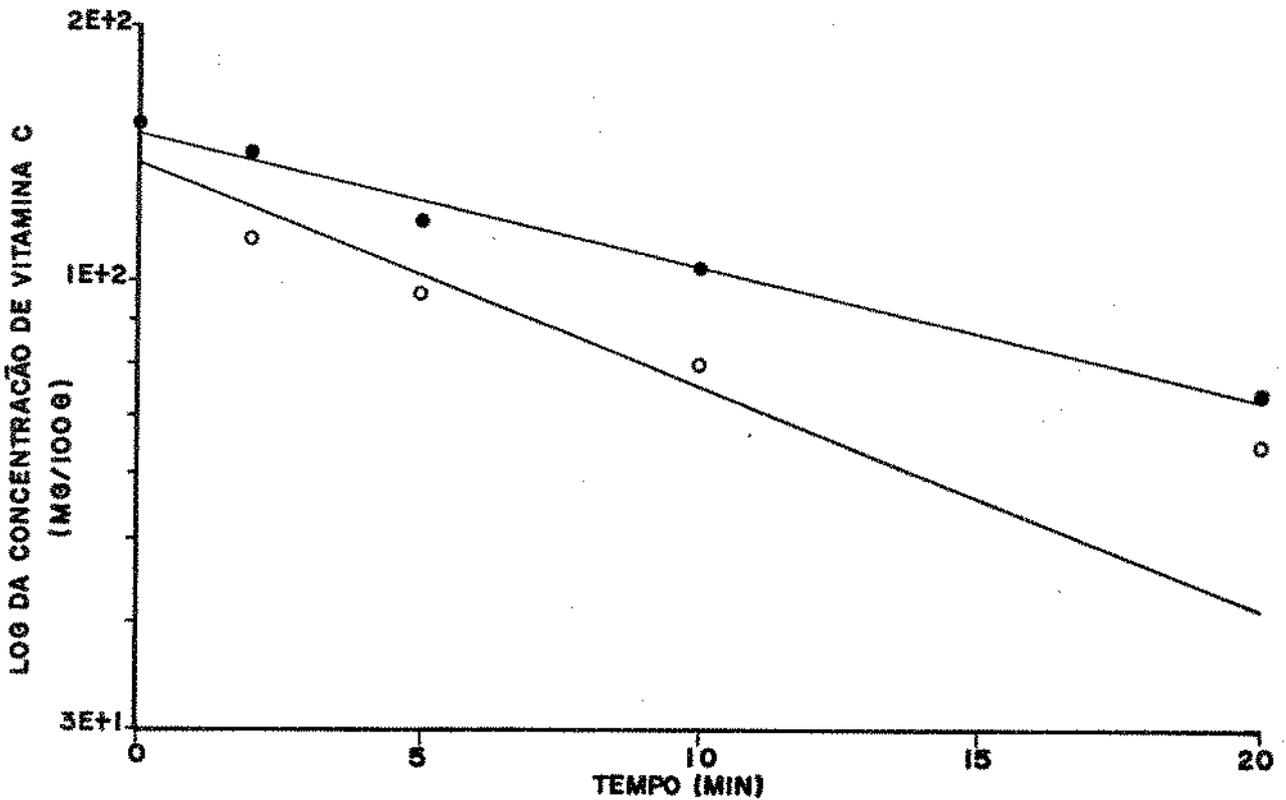


FIGURA 34. Efeito do tempo e do material do recipiente utilizado (vidro e aço inox) na retenção de vitamina C em pimentão cozido em água ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

TABELA 28. Valores de  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ),  $t_{1/2}$  (min),  $r$  e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em recipientes de diferentes materiais ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ ).

PRODUTO	MATERIAL DO RECIPIENTE	$k \times 10^2$	$t_{1/2}$	$r$	nível de significância
COUVE	vidro	6,72	9,86	0,99	0,1%
	alumínio	8,25	8,53	1,00	0,1%
	aço inox	9,03	7,79	1,00	0,1%
COUVE-FLOR	vidro	3,76	14,53	0,93	2%
	alumínio	3,86	13,95	0,92	2%
	aço inox	3,79	14,96	0,93	2%
PIMENTÃO	vidro	3,67	18,03	0,99	0,1%
	alumínio	3,87	15,59	0,95	5%
	aço inox	6,10	11,35	0,94	10%

### 3. COZIMENTO EM VAPOR

Constatou-se que as retenções de vitamina C no produto foram muito maiores no caso de cozimento em vapor do que as encontradas para o cozimento em água (Tabelas 29, 30 e 31).

Os resultados da literatura não mostravam esse fato tão claramente. Para couve-flor, por exemplo, foi descrito, em alguns casos, não haver diferença significativa entre os processamentos (Brinkman et al., 1942; Noble e Gordon, 1964), e, em outro, superioridade do cozimento em vapor (Retzer et al., 1945). Essas divergências foram, muito provavelmente, devidas à maneira como o experimento foi conduzido (variações no tempo e na proporção de água no cozimento) e ao fato de nem todos os trabalhos se preocuparem com a vitamina C solubilizada na água de cozimento.

No nosso caso, foram obtidas retenções de 75%, 70% e 70% para couve-flor, couve e pimentão, respectivamente, após 20 minutos de cozimento (Figuras 35, 37 e 39). Para os três vegetais, constatou-se que a perda foi mais acentuada nos primeiros 10 a 15 minutos. Esses valores concordam com a literatura (Noble e Hanig, 1948; Gordon e Noble, 1959b), aonde foram citadas degradações de vitamina C em couve-flor cozida em vapor em torno de 25% do teor inicial.

Os dados de log da concentração (mg/100 g) pelo tempo foram plotados e encontrou-se que as perdas de vitamina C nos três produtos seguiu uma cinética de primeira ordem (Figuras 36, 38 e 40). Os valores da constante de velocidade, tempo de meia vida e coeficiente de correlação estão na Tabela 32. Foram encontradas boas correlações (0,99) com alta significância (0,1%).

TABELA 29. Teor de vitamina C ( mg/100g) em couve cozida em vapor  
(T = 100°C).

TEMPO (min)	$\bar{x}$	$\pm$	s
0	143,28	$\pm$	11,13
2	130,75	$\pm$	9,72
4	125,96	$\pm$	11,65
6	117,72	$\pm$	7,30
8	112,10	$\pm$	6,73
10	105,06	$\pm$	10,30
15	103,85	$\pm$	7,16
20	102,69	$\pm$	0,82
30	100,76	$\pm$	8,97

TABELA 30. Teor de vitamina C ( mg/100g) em couve-flor cozida em  
vapor (T = 100°C).

TEMPO (min)	$\bar{x}$	$\pm$	s
0	100,59	$\pm$	3,09
2	93,74	$\pm$	4,27
4	89,52	$\pm$	0,52
6	87,49	$\pm$	7,55
8	84,46	$\pm$	9,52
10	79,29	$\pm$	8,68
15	77,46	$\pm$	5,93
20	76,37	$\pm$	2,72
30	74,99	$\pm$	0,82

TABELA 31. Teor de vitamina C ( mg/100g) em pimentão cozido em vapor (T = 100°C)

TEMPO (min)	$\bar{x}$		s
0	141,54	±	11,48
2	136,89	±	6,34
4	130,16	±	9,98
6	127,83	±	8,63
8	119,43	±	10,56
10	113,73	±	6,75
15	103,49	±	2,58
20	101,24	±	10,51
30	99,15	±	3,84

TABELA 32. Valores de k (min<sup>-1</sup>), t<sub>1/2</sub> (min), r e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em vapor (T = 100°C)

PRODUTO	k x 10 <sup>2</sup>	t <sub>1/2</sub>	r	nível de significância
COUVE	2,72	25,48	0,99	0,1%
COUVE-FLOR	2,18	31,79	0,99	0,1%
PIMENTÃO	2,17	31,94	0,99	0,1%

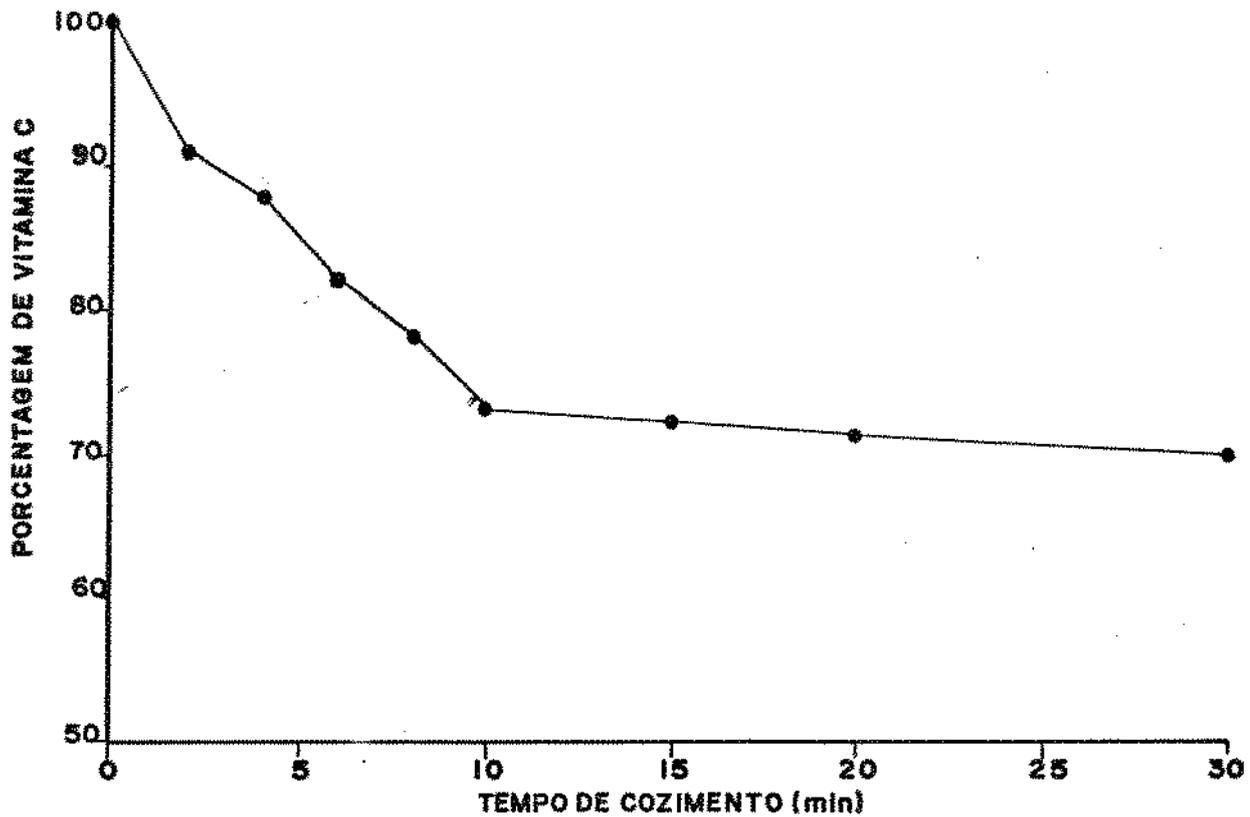


FIGURA 35. Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve em vapor ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

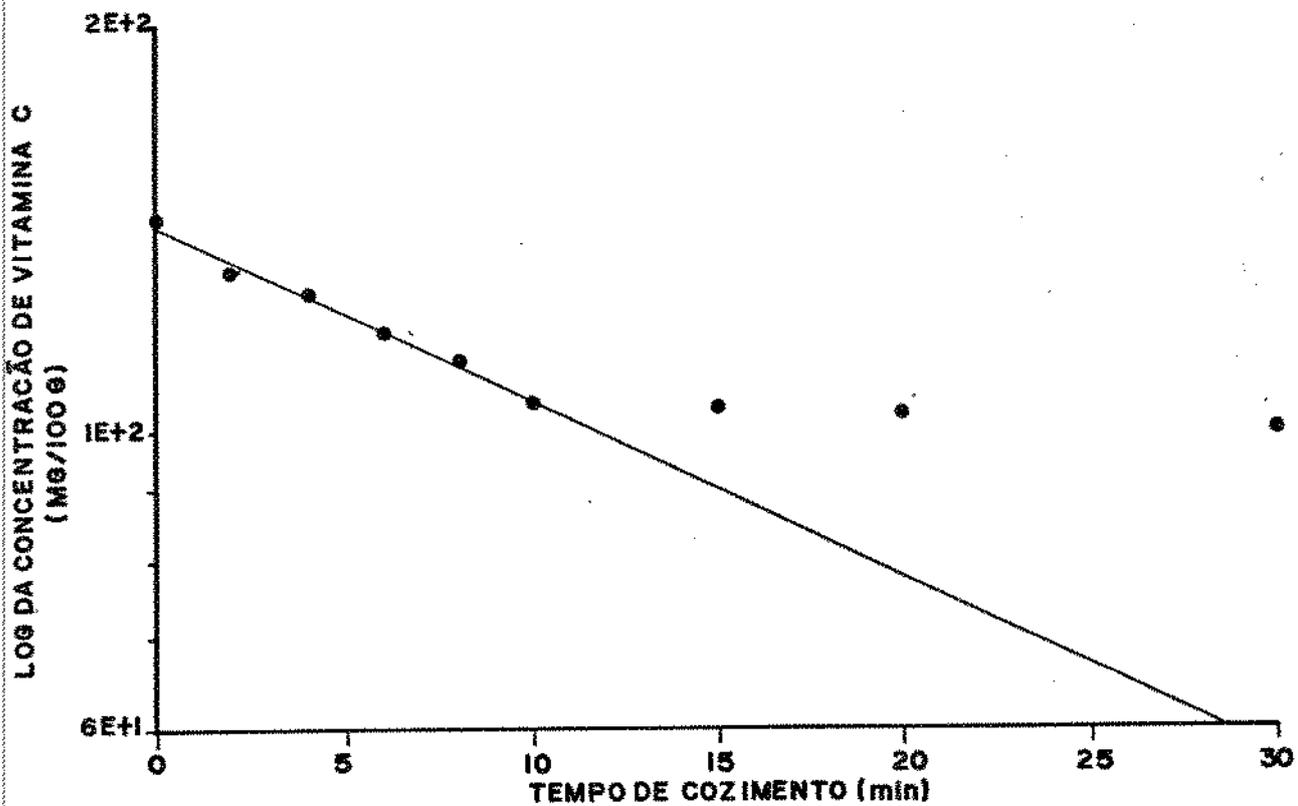


FIGURA 36. Efeito do tempo de cozimento em vapor na retenção de vitamina C em couve ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

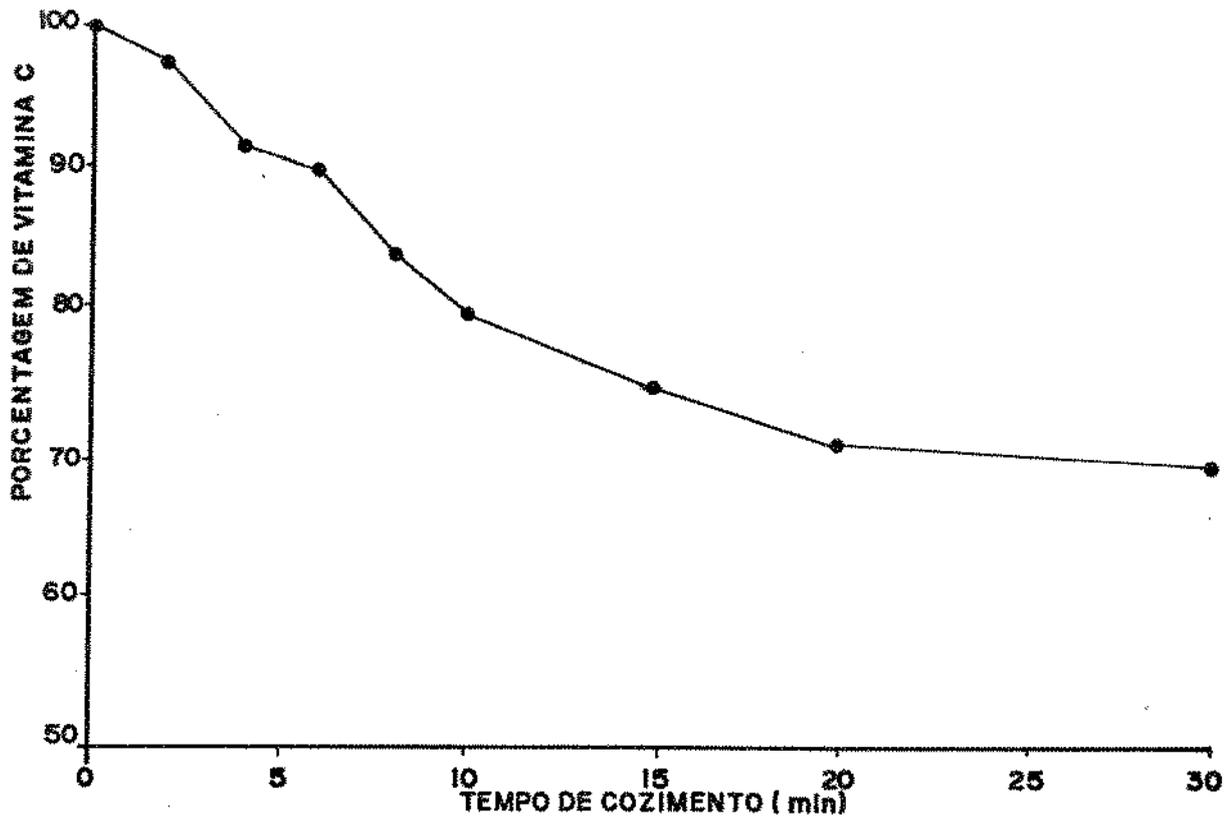


FIGURA 37. Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de pimentão em vapor ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

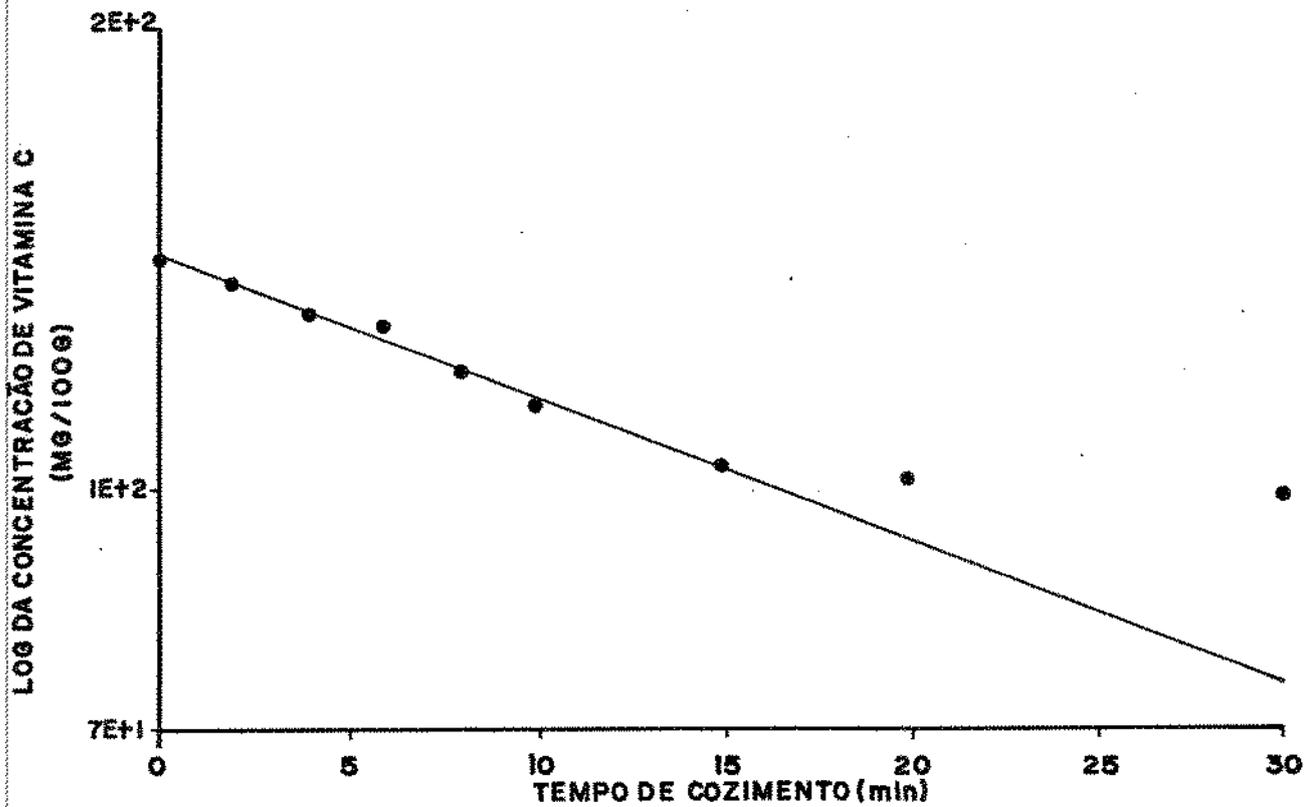


FIGURA 38. Efeito do tempo de cozimento em vapor na retenção de vitamina C em pimentão ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

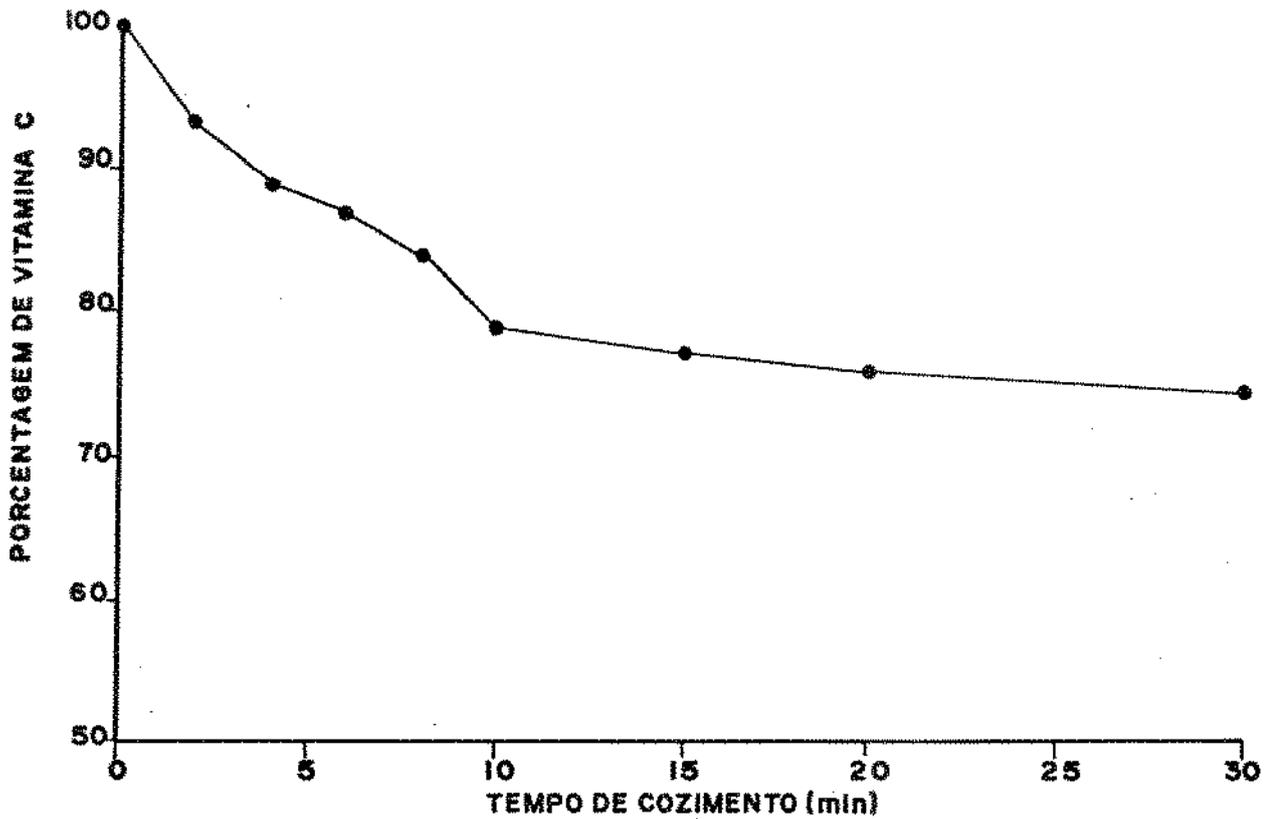


FIGURA 39. Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em vapor ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

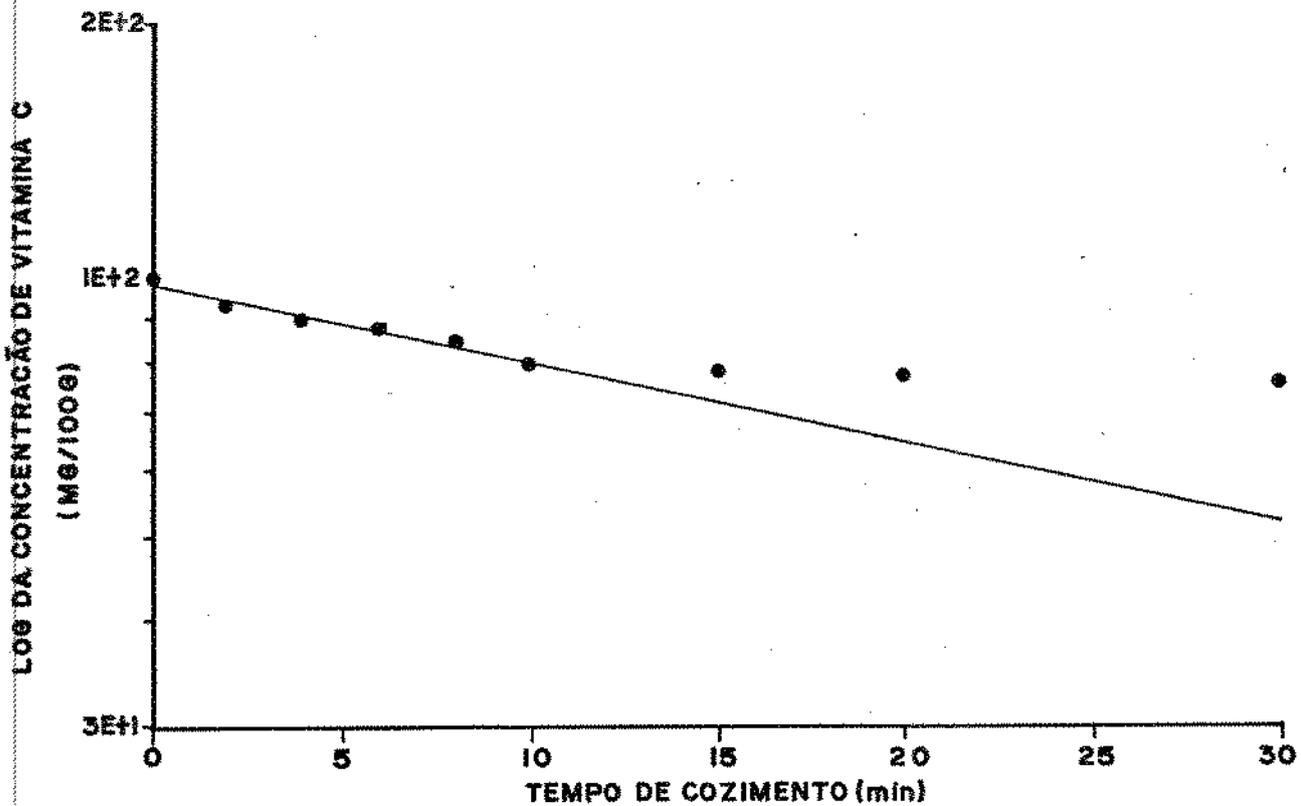


FIGURA 40. Efeito do tempo de cozimento em vapor na retenção de vitamina C em couve-flor ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

As curvas de perda de vitamina foram diferenciadas para os três produtos, mas as diferenças encontradas foram menos expressivas, nesse caso, do que o observado nos cozimentos em água. Isso parece razoável, uma vez que, nos cozimentos em vapor, as perdas encontradas não foram devidas à solubilização da vitamina. Assim, a diferença de área superficial não deve afetar tanto a cinética de perda da vitamina C.

Encontrou-se na literatura pouca discussão sobre qual seria o principal mecanismo de perda da vitamina durante o cozimento em vapor. No nosso caso, sabemos que essa perda não foi devida à solubilização. Uma hipótese para explicar esse comportamento seria a de perda devida à oxidação enzimática da vitamina. No caso de cozimento em água, os vegetais foram mergulhados diretamente na água em ebulição, sendo a transferência de calor bastante eficiente. Para o cozimento em vapor, devemos considerar que as amostras, inclusive as partes onde os tecidos foram cortados, estão expostas ao ar e que, no caso do nosso cozedor, a transferência de calor deve ser bem inferior. Tendo em vista que as perdas são, provavelmente, devidas à oxidação enzimática, as pequenas diferenças encontradas podem ser creditadas a diferenças intrínsecas dos vegetais no que diz respeito à resistência térmica das enzimas e à transferência de calor.

A literatura faz referência a esse fato. A comparação do cozimento em água e vapor, para repolho, mostrou que, para o produto em tiras, a perda por degradação era maior no cozimento em vapor, pelo fato de o oxigênio estar presente durante o aquecimento, havendo, provavelmente, uma oxidação enzimática. No caso

do repolho cortado em quatro pedaços, aonde a oxidação não foi tão pronunciada, a perda foi de 16% no cozimento em água e 10% para o cozimento em vapor (Wellington e Treesler, 1939). O mesmo foi observado por outros autores que também utilizaram repolho cortado em tiras. No branqueamento em água, em quantidade suficiente para cobrir o produto, a retenção de vitamina foi de 55%; no branqueamento em vapor, foi observada uma retenção menor (em torno de 40%) (Eheart e Sholes, 1946).

Para a comprovação dessa hipótese foram realizados testes bioquímicos para averiguar a atividade de enzimas oxidativas durante os dois tipos de cozimento e qual o tempo necessário para a inativação desses compostos.

A enzima oxidase do ácido ascórbico foi escolhida por ter alta especificidade pela vitamina e pela facilidade de detecção (Figuras 41, 42 e 43).

A determinação da enzima foi feita para os três vegetais, comparando-se o cozimento em vapor e água. Pôde-se observar uma inativação mais rápida da enzima no cozimento em água e houve diferença significativa ao nível de 5% entre os tratamentos.

Foi encontrada uma maior quantidade de enzima em couve-flor do que nos outros vegetais. Esse fato é coerente com a maior perda de vitamina C observada para couve-flor, quando extratos dos 3 vegetais foram mantidos por períodos de tempo variável, à temperatura ambiente (item 1.1 dos Resultados).

O tempo para a inativação nos três vegetais foi variável, provavelmente dependendo da quantidade inicial presente de enzima e da diferença na transferência de calor para os produtos.

Em todos os casos, mesmo após um tempo superior ao necessário para a inativação dessa e, provavelmente, de qualquer outra enzima que oxide a vitamina C, constatamos, ainda, uma porcentagem de atividade residual presente, que poderia ser devida a outros compostos oxidantes presentes na amostra. No caso de couve e pimentão, onde a atividade enzimática encontrada foi menor, a proporção da oxidação devida a outros compostos seria maior, explicando assim a maior atividade residual nos dois casos.

Além da maior eficiência do cozimento em água na inativação enzimática, é importante lembrar que, quando vegetais encontram-se imersos em água, há uma quantidade muito pequena de oxigênio presente. Quando o cozimento é feito em vapor, o vegetal fica exposto à ação do oxigênio sob alta temperatura. Assim, reações de oxidação serão muito favorecidas.

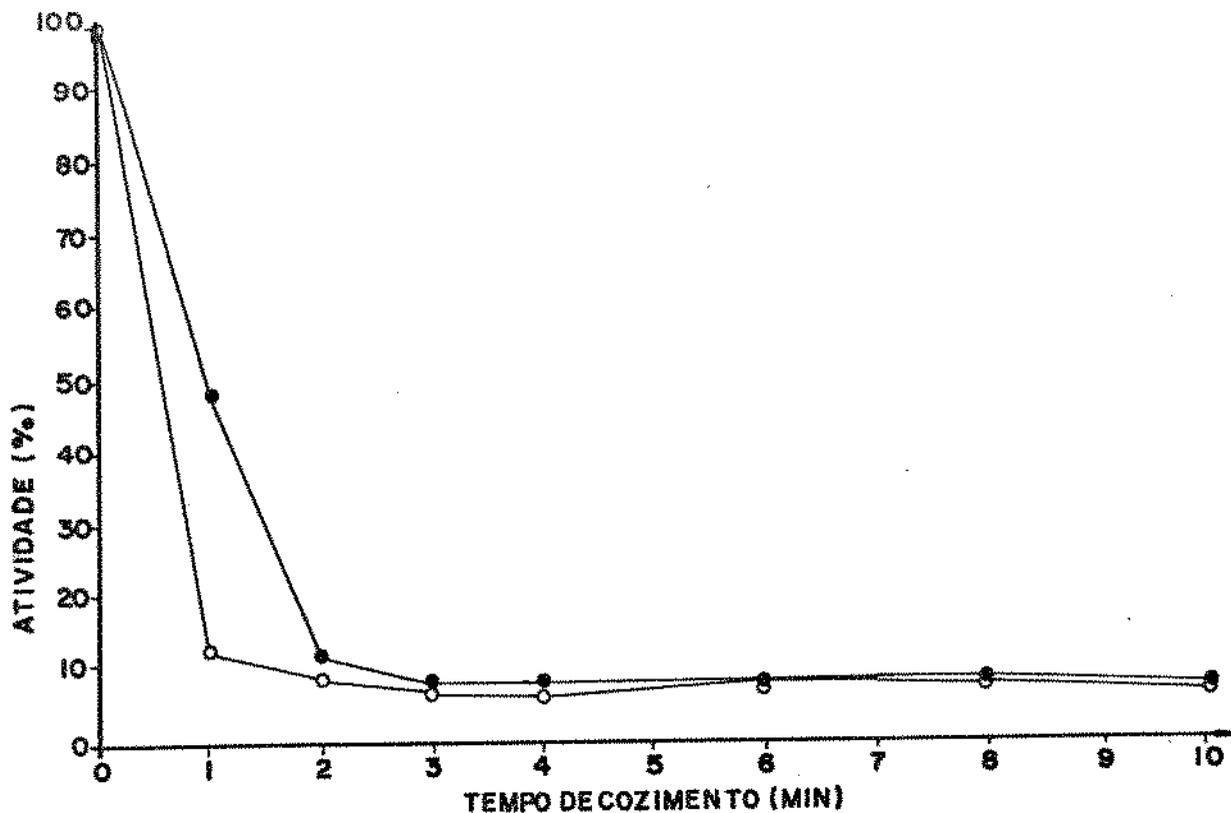


FIGURA 41. Efeito do cozimento em água e vapor na inativação da oxidase do ácido ascórbico em couve-flor ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

○ Cozimento em água                      ● Cozimento em vapor

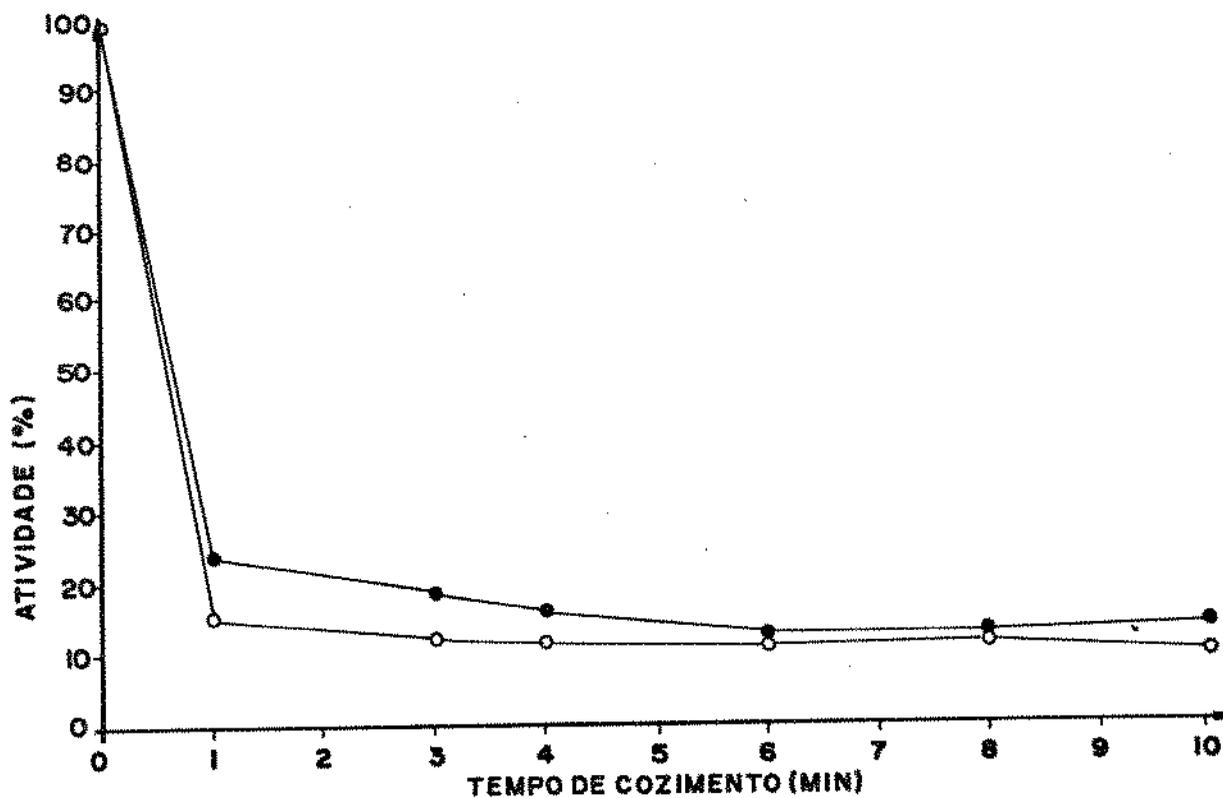


FIGURA 42. Efeito do cozimento em água e vapor na inativação da oxidase do ácido ascórbico em couve ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

○ Cozimento em água                      ● Cozimento em vapor

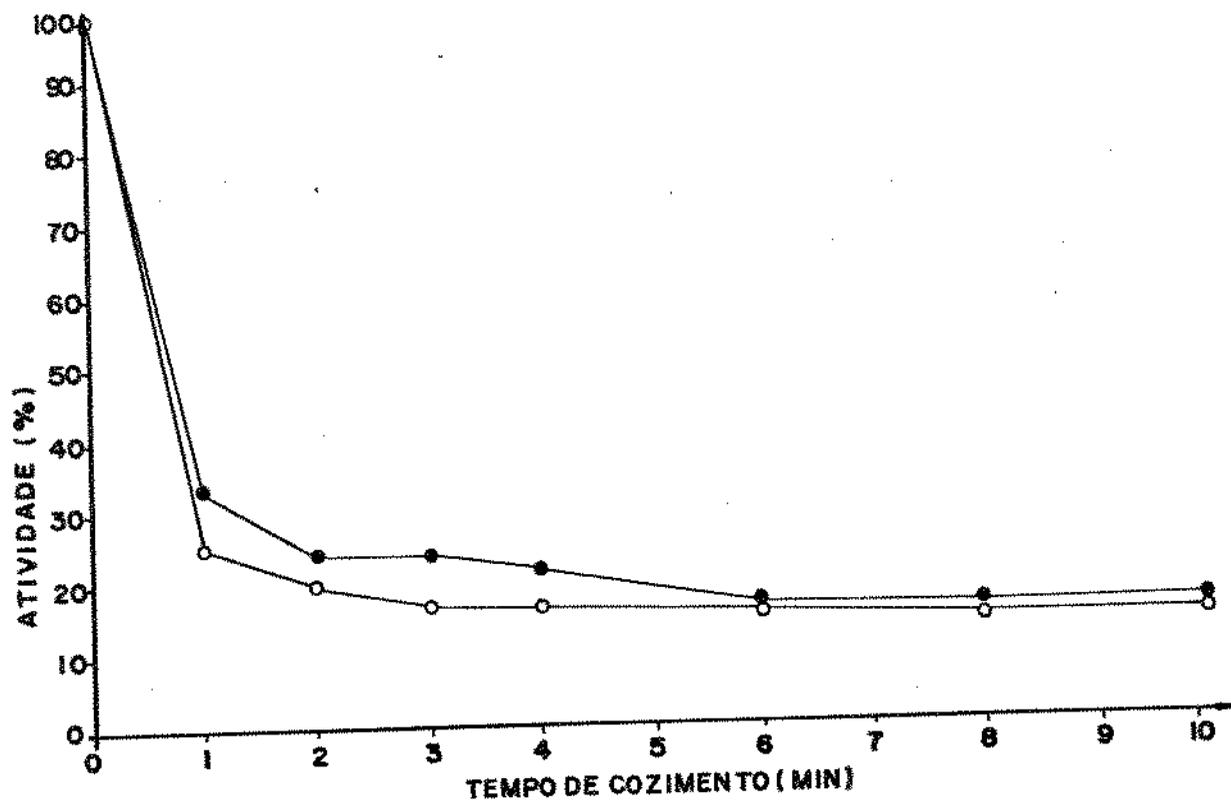


FIGURA 43. Efeito do cozimento em água e vapor na inativação da oxidase do ácido ascórbico em pimentão ( $T = 100^{\circ}\text{C}$ )

o Cozimento em água

● Cozimento em vapor

### 3. COZIMENTO EM MICROONDAS

Foram constatadas perdas de vitamina C muito menores no caso de cozimento em microondas do que as encontradas para o cozimento em vapor ou água (Tabelas 33, 34 e 35).

Não existia consenso entre os trabalhos da literatura quando fazia a comparação do processamento em microondas com os métodos mais tradicionais de cocção. Foi descrito haver uma maior retenção de vitamina C em brócoli cozido em água do que para o mesmo produto processado em microondas (Eheart e Gott, 1965). Foi encontrado não haver diferença entre os cozimentos em água, vapor e microondas para batatas, com relação ao teor de vitamina C retido (Reddy e Sistrunk, 1980). Foi, ainda, observada melhor retenção da vitamina para o cozimento em microondas de vegetais diversos (Gordon e Noble, 1959a). Os mesmos comentários feitos anteriormente no item de cozimento em vapor, relativos ao fato de serem usados diferentes procedimentos e de não se considerar a vitamina perdida por solubilização, são válidos para o cozimento em microondas.

Foram obtidas retenções de 93%, 85% e 90% para couve-flor, couve e pimentão, respectivamente, após cozimento em microondas por 4 minutos.

As curvas de perda de vitamina foram pouco diferenciadas para os três produtos (Figuras 44, 46 e 48).

Não foram encontrados na literatura dados relativos ao cozimento de pimentão e couve em microondas. Para couve-flor, é citada retenção em torno de 90% (Gordon e Noble, 1959a), concordando com os dados obtidos em laboratório.

Os dados de log da concentração (mg/100 g) pelo tempo foram plotados e encontrou-se que as perdas de vitamina C durante o processamento em microondas seguiram uma cinética de primeira ordem (Figuras 40, 41 e 42).

A Tabela 36 mostra as constantes de velocidade, tempo de meia vida e coeficiente de correlação das retas encontrados para cada vegetal. As constantes de velocidade e, conseqüentemente, os tempos de meia vida foram muito parecidos para os três vegetais. Foram observadas boas correlações, 0,90, 0,96 e 0,96, com significância aos níveis de 5%, 1% e 0,1%, respectivamente.

TABELA 33. Teor de vitamina C ( mg/100g) em couve cozida em microondas

TEMPO (min)	$\bar{x}$	$s$
0,0	147,50	± 2,81
0,5	143,30	± 3,28
1,0	142,90	± 2,85
1,5	135,06	± 4,89
2,0	135,97	± 7,87
3,0	123,48	± 7,96
4,0	124,58	± 6,69

TABELA 34. Teor de vitamina C ( mg/100g) em couve-flor cozida em microondas

TEMPO (min)	$\bar{x}$		s
0,0	101,91	±	0,73
0,5	98,14	±	2,54
1,0	96,26	±	2,48
1,5	95,42	±	7,05
2,0	95,78	±	2,50
3,0	97,50	±	0,68
4,0	95,69	±	0,21

TABELA 35. Teor de vitamina C ( mg/100g) em pimentão cozido em microondas

TEMPO (min)	$\bar{x}$		s
0,0	119,73	±	4,47
0,5	113,39	±	8,74
1,0	109,17	±	3,63
1,5	108,25	±	7,78
2,0	108,22	±	1,17
3,0	109,28	±	4,57
4,0	108,95	±	3,29

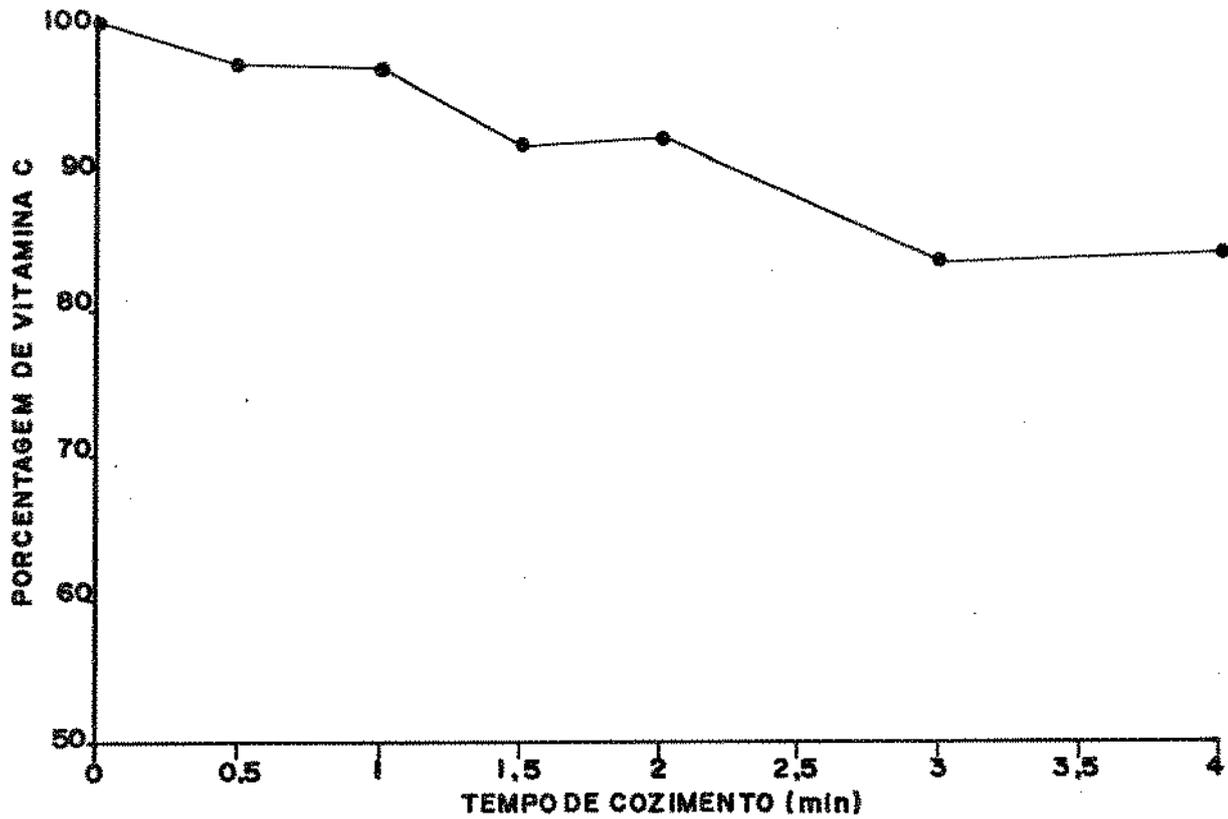


FIGURA 44. Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve em microondas

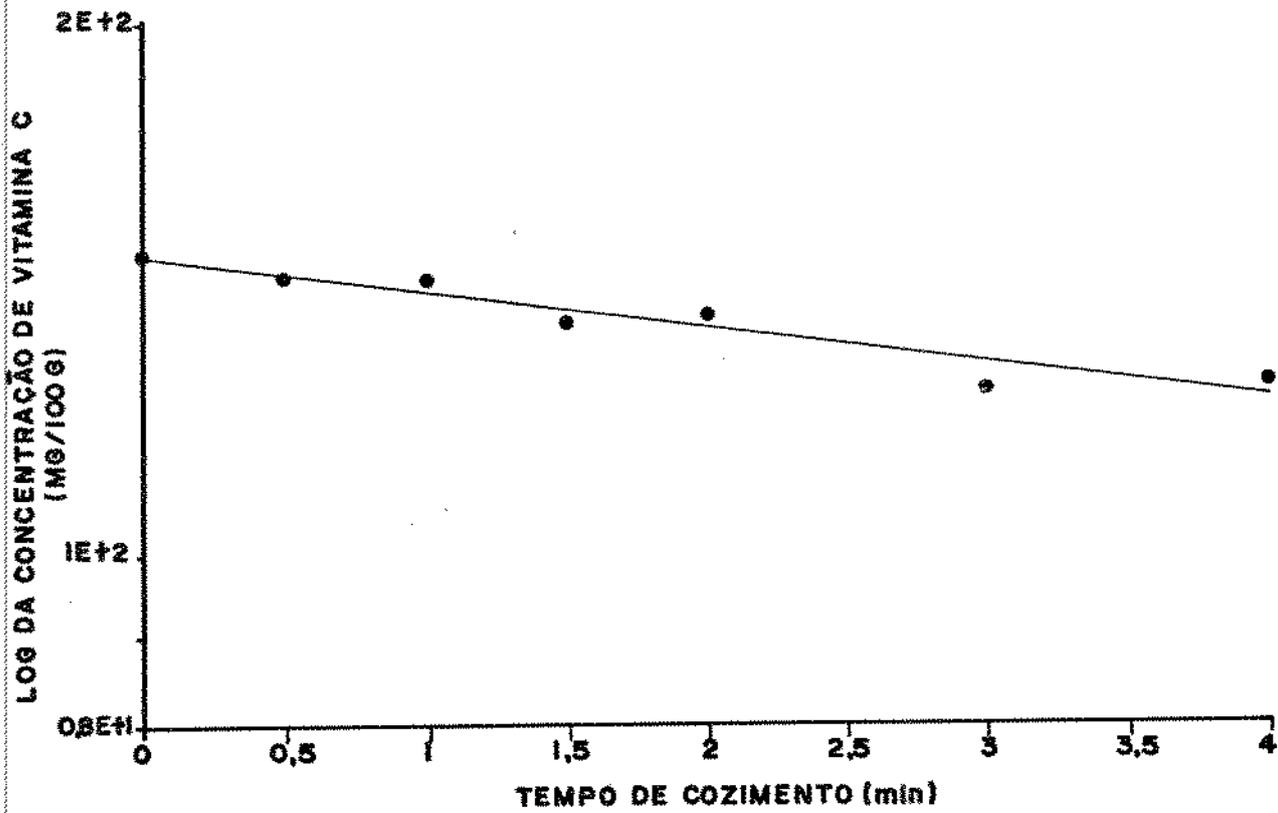


FIGURA 45. Efeito do tempo de cozimento em microondas na retenção de vitamina C em couve

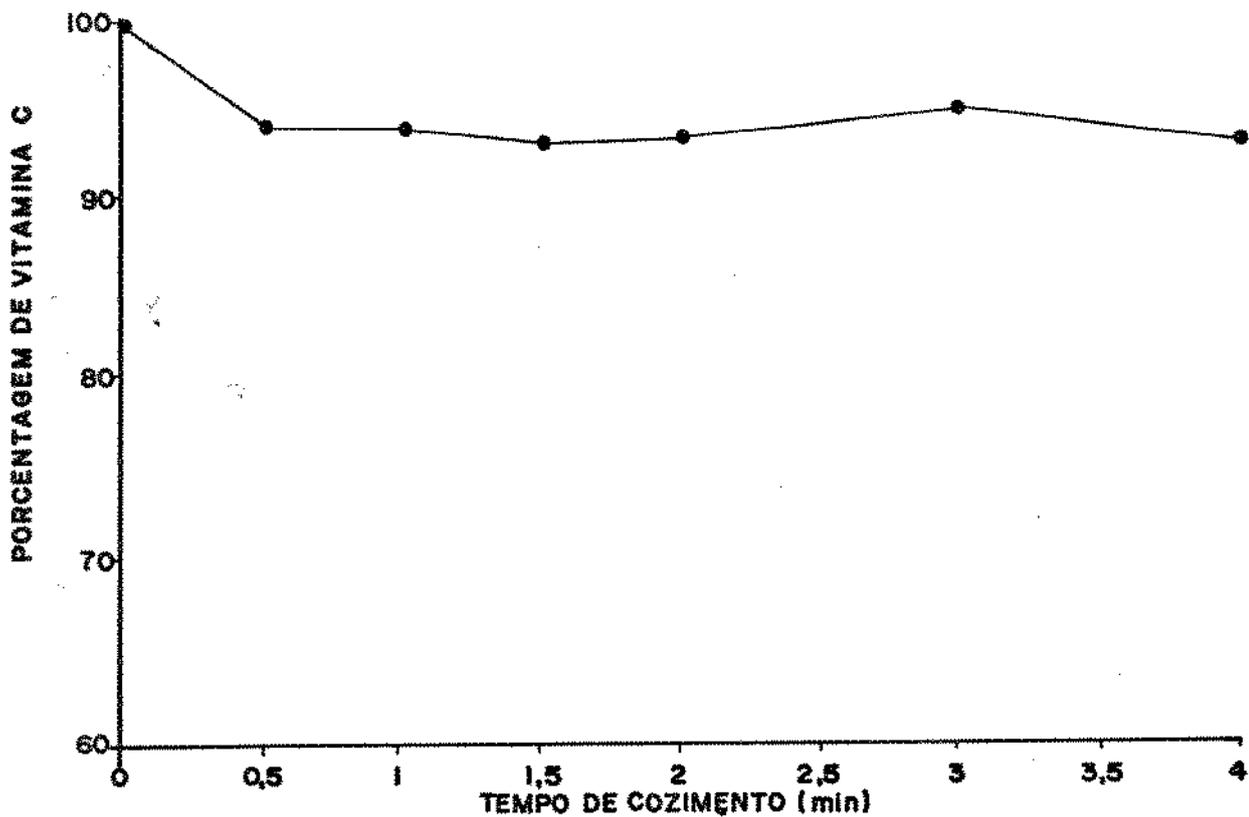


FIGURA 46. Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de couve-flor em microondas

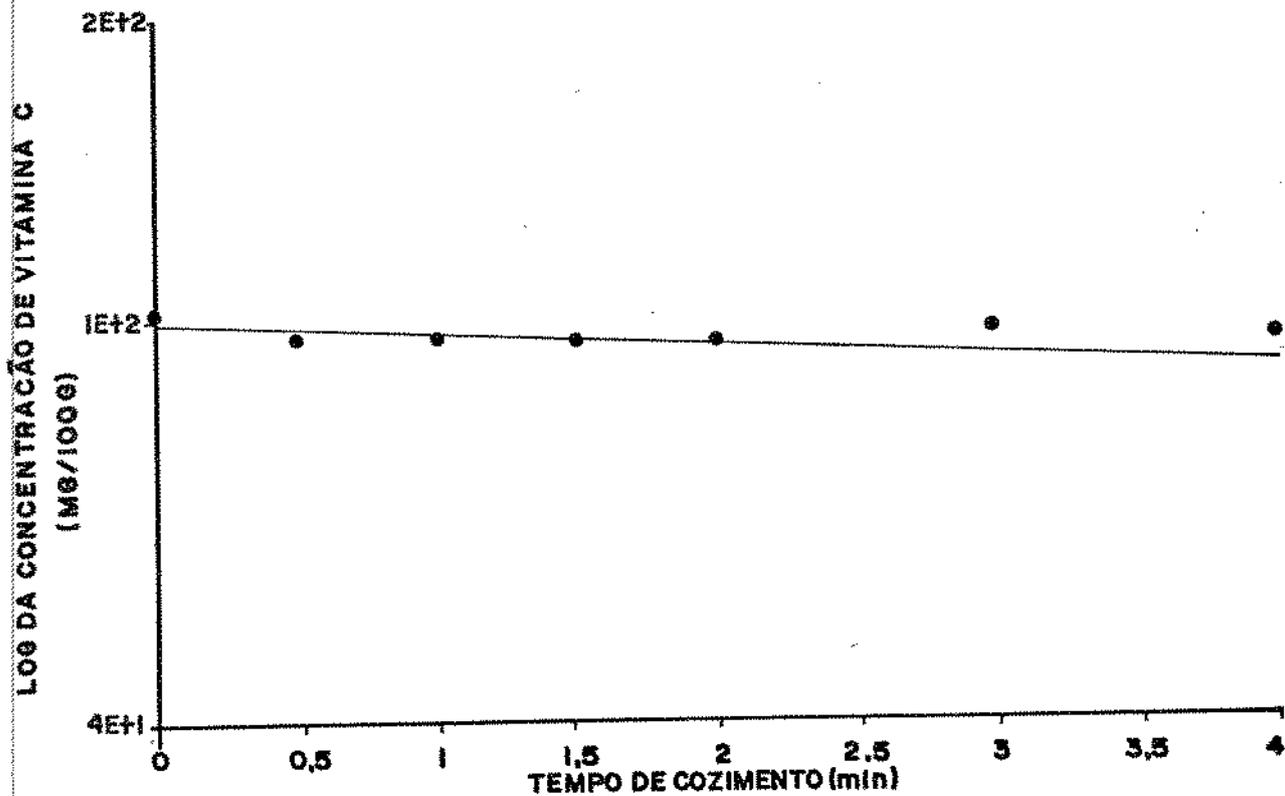


FIGURA 47. Efeito do tempo de cozimento em microondas na retenção de vitamina C em couve-flor

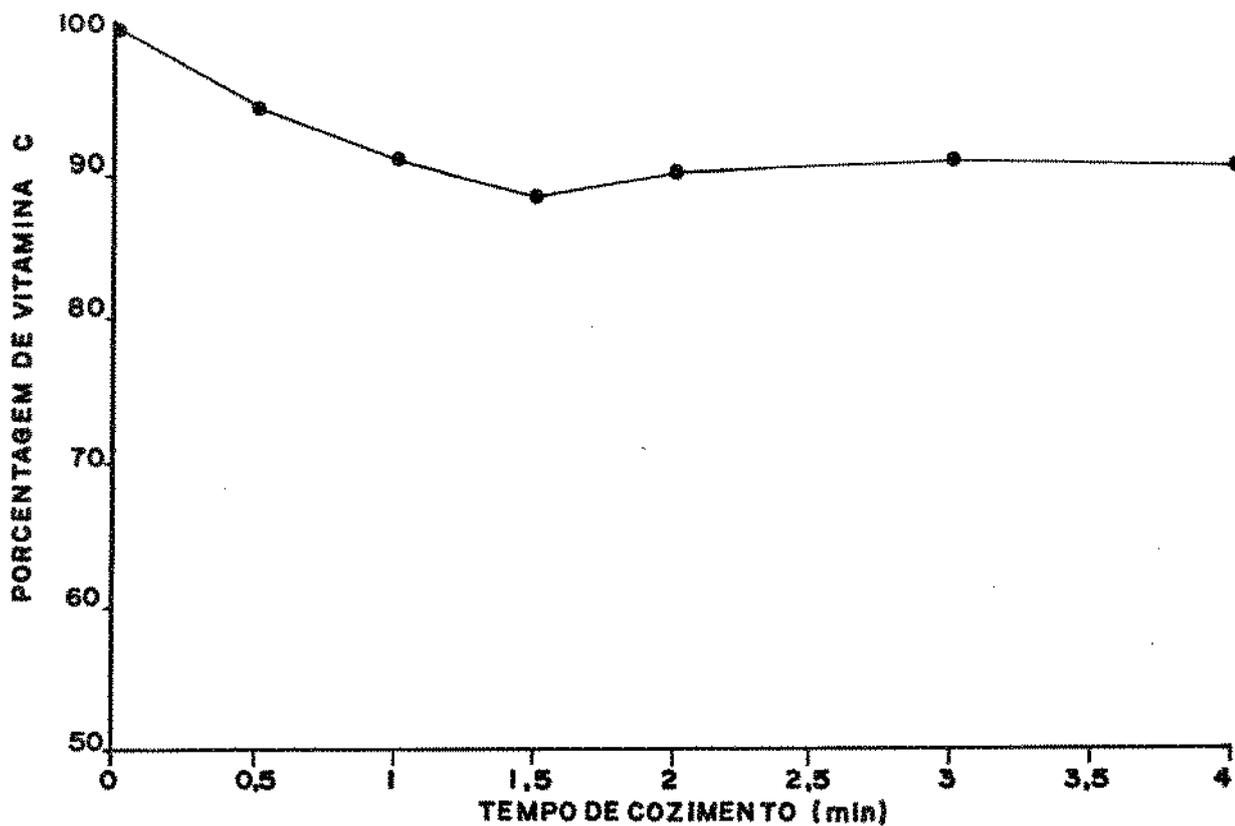


FIGURA 48. Porcentagem de retenção de vitamina C durante o cozimento de pimentão em microondas

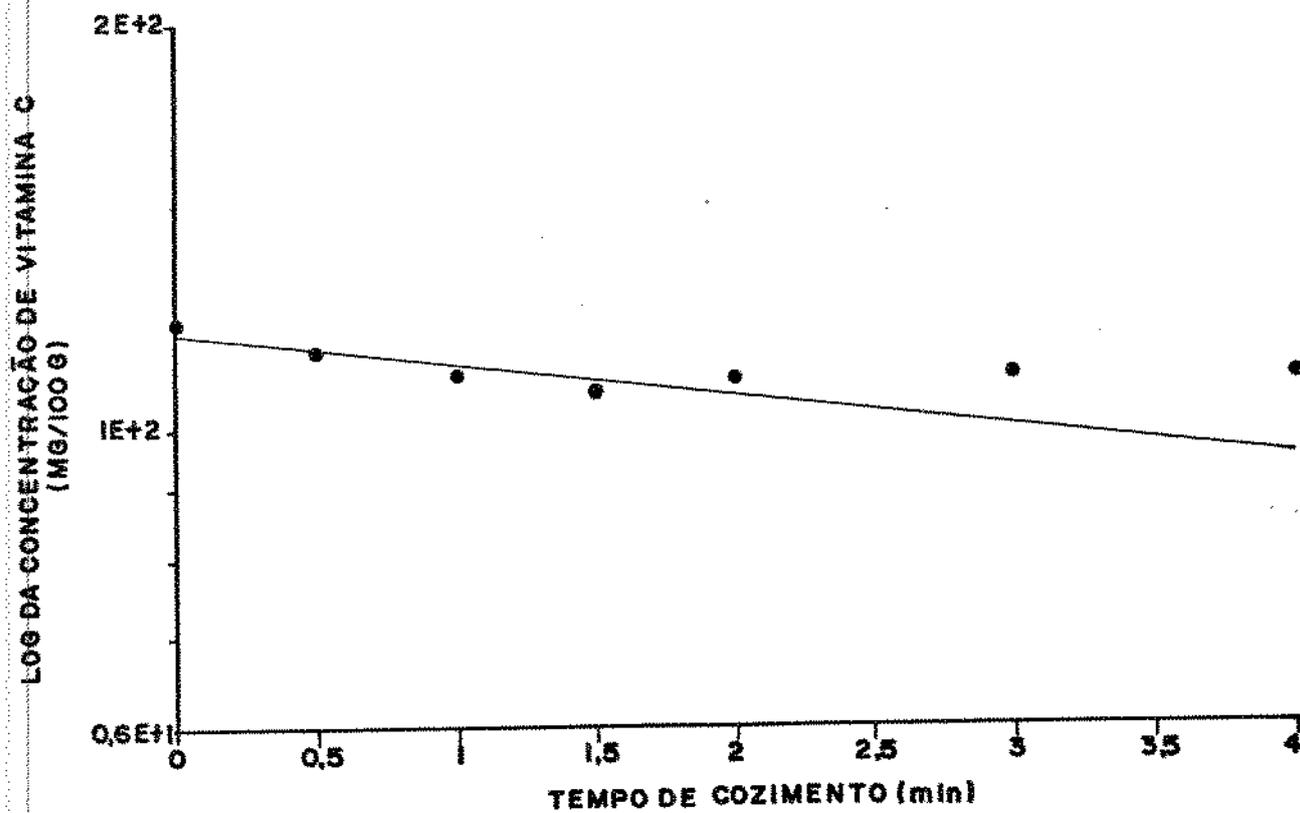


FIGURA 49. Efeito do tempo de cozimento em microondas na retenção de vitamina C em pimentão.

TABELA 36. Valores de  $k$  ( $\text{min}^{-1}$ ),  $t_{1/2}$  (min),  $r$  e nível de significância da correlação para vegetais cozidos em microondas

PRODUTO	$k \times 10^2$	$t_{1/2}$	$r$	nível de significância
COUVE	4,71	14,70	0,96	0,1%
COUVE-FLOR	4,34	15,81	0,96	1%
PIMENTÃO	4,98	13,54	0,90	5%

As perdas encontradas podem ser, em parte, devidas à oxidação enzimática. A Tabela 37 mostra que ainda havia atividade da enzima oxidase do ácido ascórbico no primeiro minuto de cozimento.

Foi constatado, no entanto, uma menor retenção da vitamina em couve, o que poderia indicar que ocorreu alguma solubilização da vitamina. Conforme foi descrito na preparação das amostras, todos os cuidados foram tomados para evitar esse fato, no entanto, no caso de couve, que contava com a maior área superficial, essa solubilização parece ter ocorrido.

Devemos considerar, ainda, que as temperaturas alcançadas no microondas são muito superiores às obtidas em cozimento em água em ebulição ou vapor, levando assim a uma degradação térmica

da vitamina , de forma que as diferenças encontradas podem, talvez, ser creditadas a diferenças intrínsecas dos vegetais no que diz respeito à transferência de calor ou a diferenças na composição, uma vez que, nesse caso, devido às temperaturas mais altas alcançadas, qualquer diferença que diga respeito à presença de um composto oxidante, por exemplo, teria mais importância no resultado final.

TABELA 37. Comparação entre a atividade da oxidase do ácido ascórbico em couve, couve-flor e pimentão durante o cozimento em microondas

TEMPO (min)	Porcentagem de atividade		
	Couve-flor	Couve	Pimentão
0,0	100,00	100,00	100,00
0,5	51,50	15,39	16,66
1,0	17,54	11,80	13,87
1,5	8,72	12,56	14,63
2,0	8,40	11,99	11,24
3,0	5,66	11,88	11,39

#### 4. ESTOCAGEM À TEMPERATURA AMBIENTE, REFRIGERADA CONGELADA

A estocagem de vegetais à temperatura ambiente mostrou perdas menores do que as normalmente descritas na literatura.

Os resultados podem ser observados nas Tabelas 38, 39 e 40. é importante observar a correlação entre um aumento nas perdas e alterações na textura e aparência dos vegetais.

As Figuras 50, 51 e 52 mostram as porcentagens de retenção de vitamina C nos três vegetais, indicando quando os produtos se tornaram inadequados para o consumo.

Em couve, pudemos constatar uma perda mais acentuada da vitamina do que nos outros vegetais (aproximadamente 63% após 4 dias de estocagem), sendo, também, o vegetal mais afetado na aparência e textura (Tabela 38).

No caso de pimentão, as perdas, após 9 dias de estocagem, foram ao redor de 25% (Tabela 39).

Para couve-flor, foi observada a menor perda (em torno de 13%) e também a menor alteração na estrutura do vegetal, que pode ser estocado por um período mais longo, mais de 10 dias (Tabela 40).

Na literatura, para vegetais diversos, são descritas perdas de vitamina C em torno de 70 a 80% após dois dias de estocagem à temperatura ambiente (Zepplin e Elvehjem, 1944; Kailapathy e Koneshan, 1986). Não foram encontradas referências à pimentão, mas foram relatadas perdas, após 3 a 4 dias de estocagem à temperatura ambiente, em torno de 40 e 70% para couve-flor e couve, respectivamente (Wheller et al., 1939).

Pudemos constatar que só ocorreu uma diminuição expressiva no teor de vitamina C dos vegetais após alterações sensíveis na sua textura. No caso de couve e pimentão, isso pode ser notado após dois dias. Para couve-flor, o tempo de estocagem foi limitado por problemas microbiológicos (houve crescimento de bolores) e, reduções expressivas no teor de vitamina C, não puderam ser observadas.

Assim, conclui-se que as perdas ocorreram após uma destruição enzimática da estrutura do vegetal, quando a vitamina ficou mais exposta à oxidação por compostos do próprio vegetal. A maior retenção da vitamina constatada no laboratório pode ser, muito provavelmente, atribuída ao fato de se trabalhar com vegetais muito frescos, o que retardou esse processo.

TABELA 38. Teor de vitamina C (mg/100g) e alterações sensoriais em couve estocada à temperatura ambiente (20°C a 25°C)

TEMPO (horas)	$\bar{x}$	s	ALTERAÇÕES NO PRODUTO
0	135,45	± 4,45	Não houve alteração na aparência do produto
5	135,85	± 1,08	
23	133,53	± 5,76	
30	126,50	± 11,53	Começou a amarelar Muitos pontos amarelos Produto totalmente alterado
47	112,43	± 13,51	
54	102,64	± 1,34	
71	85,80	± 11,23	
95	50,32	± 0,31	

TABELA 39. Teor de vitamina C (mg/100g) e alterações sensoriais em pimentão estocado à temperatura ambiente (20°C a 25°C)

TEMPO (horas)	$\bar{x}$	s	ALTERAÇÕES NO PRODUTO
0	142,48	± 6,70	Não houve alteração na aparência do produto
5	141,66	± 4,34	
23	137,40	± 11,51	Amolecimento do tecido
30	133,22	± 12,83	
47	132,00	± 12,54	
54	122,25	± 1,21	Textura bastante alterada Produto totalmente alterado
71	120,62	± 2,40	
95	116,35	± 5,93	
167	112,80	± 9,11	
222	107,26	± 0,86	

TABELA 40. Teor de vitamina C (mg/100g) e alterações sensoriais em couve-flor estocada à temperatura ambiente (20°C a 25°C)

TEMPO (horas)	$\bar{x}$	s	ALTERAÇÕES NO PRODUTO
0	143,08	± 2,87	Não houve alteração na aparência do produto
5	143,35	± 7,46	
23	144,96	± 1,89	Começa a haver alteração na textura (amolecimento)
30	144,48	± 0,28	
47	137,42	± 6,00	
54	136,68	± 3,68	Textura bastante alterada
71	134,50	± 10,98	
95	126,79	± 1,24	
167	123,70	± 2,49	
222	126,01	± 7,89	
270	126,56	± 0,35	*

\* Apesar de o produto ainda não estar com suas características totalmente alteradas e, portanto, inadequado para consumo, o teste foi interrompido por ter sido constatado crescimento microbiano (bolores)

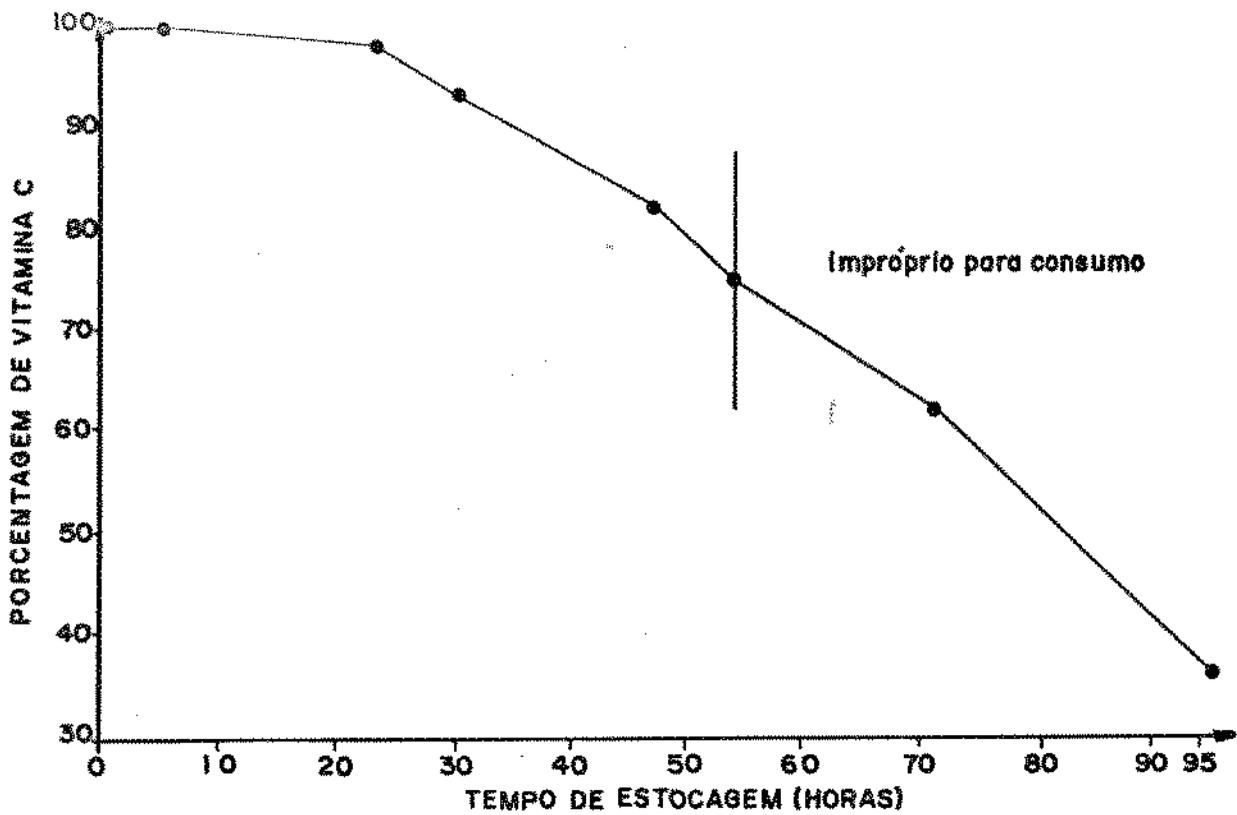


FIGURA 50. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve à temperatura ambiente (20°C a 25°C)

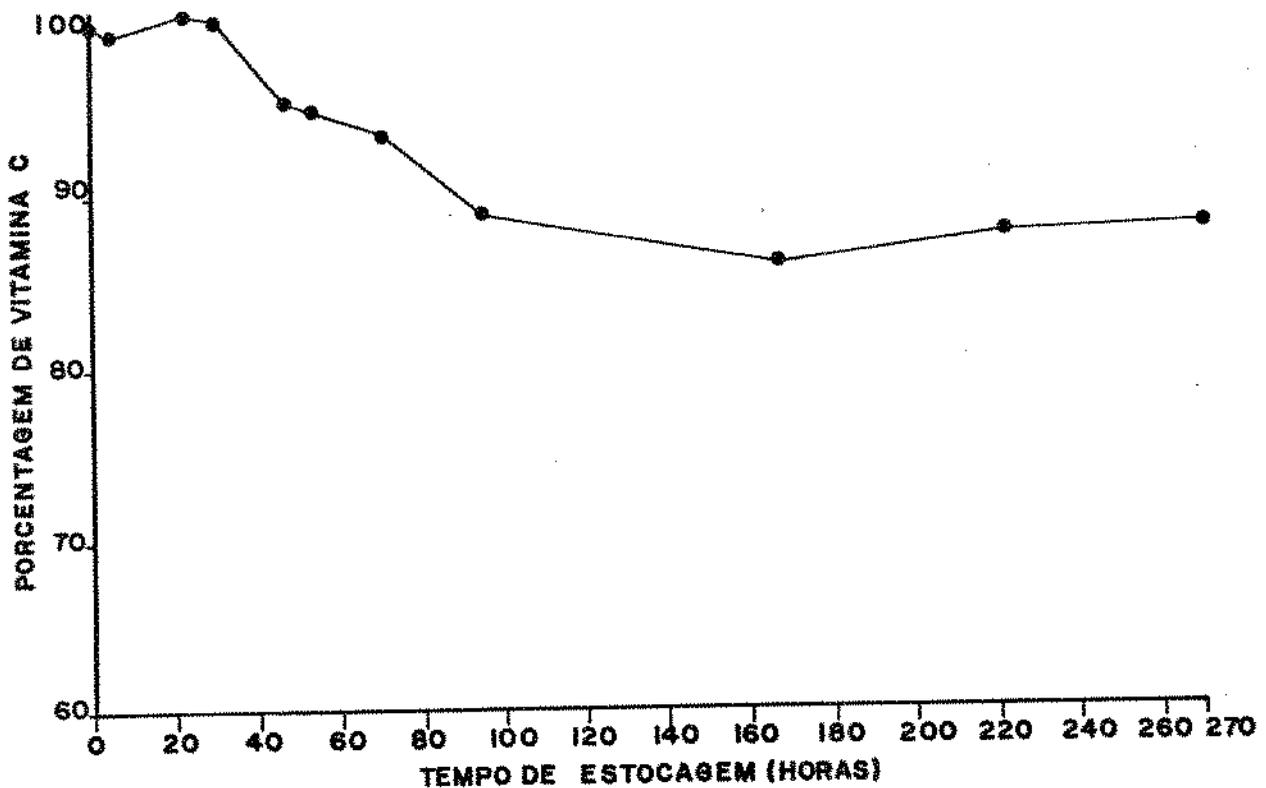


FIGURA 51. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve-flor à temperatura ambiente (20°C a 25°C)

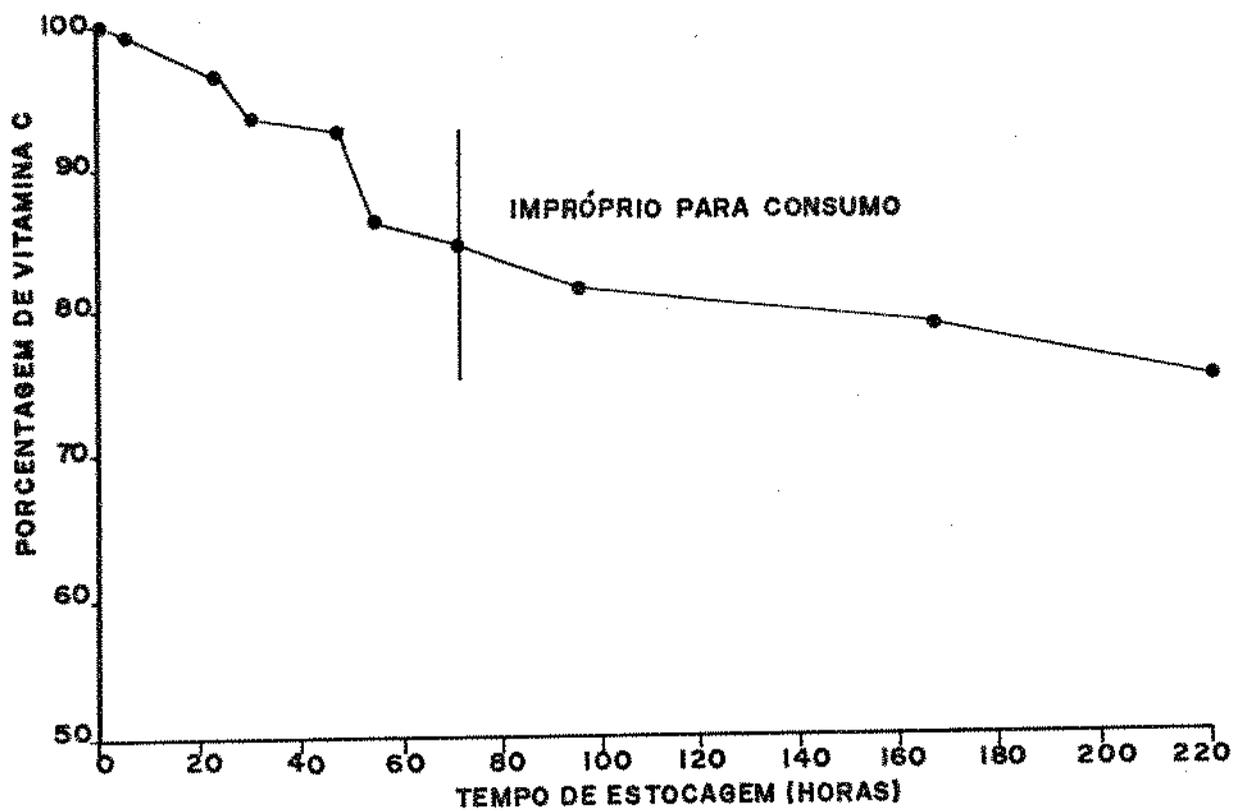


FIGURA 52. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de pimentão à temperatura ambiente (20°C a 25°C)

A estocagem de vegetais crus e branqueados em geladeira mostrou também dados muito interessantes .

O tempo de branqueamento necessário para a inativação enzimática foi previamente determinado. O método de branqueamento escolhido foi o cozimento em microondas, que permitia um tratamento mais homogêneo e teores superiores de vitamina C após tratamento.

Já havia sido observado que o tempo de cozimento em torno de um minuto inativava a oxidase do ácido ascórbico, principal enzima responsável pela destruição desse nutriente. Uma vez que essa enzima é pouco resistente ao tratamento térmico, resolvemos realizar um teste qualitativo da presença de peroxidase.

Conforme foi discutido anteriormente na revisão, a inativação da peroxidase correlacionava-se de maneira satisfatória com a manutenção de características organolépticas dos vegetais, dando, ainda, uma margem de segurança desejável.

Os resultados do teste de inativação dessa enzima podem ser vistos na Tabela 41.

TABELA 64. Presença de peroxidase em couve, couve-flor e pimentão após diferentes tempos de tratamento em microondas

PRODUTO	TEMPO DE TRATAMENTO (min)			
	0	1,0	1,5	2,0
COUVE	+	tracos	-	-
COUVE-FLOR	+	+	tracos	-
PIMENTÃO	+	tracos	-	-

Foram estimados os tempos de branqueamento de 1,5 min para couve e pimentão e 2 min para couve-flor.

Foram constatados os resultados das Tabelas 42, 43 e 44 para a estocagem em geladeira de vegetais branqueados e não branqueados.

Pudemos observar que, em todos os casos, a perda de vitamina C foi mais rápida e acentuada para os vegetais branqueados do que para os crus (Figuras 53, 54 e 55)

A literatura descreve uma ocorrência similar para repolho estocado à temperatura de refrigeração. Houve retenção em torno de 60% do teor inicial da vitamina, após estocagem por 84 dias do vegetal cru, e, apenas, 50% quando o mesmo vegetal foi estocado cozido por 2 dias (Gould et al., 1936).

No caso de vegetais crus constatamos uma situação similar à observada para estocagem à temperatura ambiente. Enquanto o vegetal se apresentava em condições de consumo, as perdas eram relativamente baixas, em torno de 30% para couve, 20% para pimentão e 10% para couve-flor. Uma vez que a deterioração da qualidade organoléptica podia ser notada, o teor de vitamina C começava também a diminuir.

Foi constatada retenção de 15% para couve e pimentão, após 55 e 41 dias de estocagem, respectivamente (Tabelas 42 e 44). Para couve-flor, foi obtida retenção de aproximadamente 60% após 76 dias de estocagem (Tabela 43). Couve-flor foi, novamente, o vegetal menos afetado pela estocagem, sendo o teste interrompido por alterações microbiológicas no produto (crescimento de bolores).

No caso de vegetais branqueados, além da redução inicial no teor de vitamina devida ao próprio tratamento de branqueamento, a redução no teor de vitamina durante o período de estocagem foi muito mais expressiva.

O vegetal branqueado sofreu uma alteração na sua estrutura, causada pelo próprio processo de branqueamento, e, mesmo que as enzimas reponsáveis pela inativação da vitamina C tivessem sido inativadas, esse nutriente estaria mais exposto à oxidação por outros compostos. Como a temperatura, apesar de reduzida, ainda não era suficientemente baixa para impedir essas reações, a vitamina foi rapidamente perdida. A degradação total da vitamina ocorreu após 23 dias de estocagem, no caso de couve-flor e pimentão e 37 dias para couve.

A estocagem de vegetais crus permitiu uma maior retenção de vitamina C (houve diferença significativa ao nível de 1%) e os produtos mantiveram-se adequados para o consumo por um tempo superior ao obtido com vegetais branqueados.

Devido ao grande número de amostras utilizadas, foram observados desvios padrão muito maiores do que os encontrados anteriormente nos cozimentos e estocagem à temperatura ambiente (Tabelas 42, 43 e 44).

TABELA 42. Teor de vitamina C (mg/100g) em pimentão estocado à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C)

TEMPO (dias)	NÃO BRANQUEADA		BRANQUEADA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	124,15	± 13,71	112,58	± 14,78
1	103,43	± 11,95	75,73	± 8,53
2	86,65	± 4,74	56,35	± 24,41
3	94,42	± 9,43	52,54	± 17,33
6	103,24	± 21,16	37,76	± 7,25
8	104,29	± 25,12	43,41	± 12,65
10	98,83	± 18,65	27,85	± 7,80
13	91,49	± 8,25	22,92	± 15,03
15	98,97	± 13,74	9,95	± 2,61
17	103,10	± 16,06	8,80	± 5,93
20	100,85	± 23,83	6,17	± 3,60
23	85,87	± 22,83	1,81	± 1,28
27	76,00	± 6,96		
30	50,86	± 3,74		
34	49,70	± 12,93		
37	35,79	± 5,01		
41	16,79	± 8,39		

TABELA 43. Teor de vitamina C (mg/100g) em couve-flor estocada à temperatura de refrigeração (3oC a 5oC)

TEMPO (dias)	NÃO BRANQUEADA		BRANQUEADA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	108,71	± 0,83	92,96	± 4,83
1	99,60	± 17,05	77,54	± 2,60
2	92,58	± 4,90	73,72	± 2,60
3	104,50	± 16,39	62,84	± 8,17
6	94,98	± 20,15	50,40	± 1,92
8	93,83	± 13,91	37,25	± 8,60
10	98,77	± 5,04	24,76	± 1,41
13	99,21	± 23,83	18,25	± 2,03
15	104,97	± 5,68	13,37	± 6,57
17	96,03	± 8,54	8,47	± 5,13
20	96,82	± 13,15	2,07	± 0,55
23	90,91	± 6,05	1,21	± 0,22
27	99,49	± 8,29		
30	96,11	± 5,61		
34	94,54	± 10,07		
41	91,65	± 9,38		
50	86,03	± 4,46		
55	83,31	± 2,91		
63	80,40	± 9,18		
69	69,61	± 4,46		
76	65,17	± 2,91		

TABELA 44. Teor de vitamina C (mg/100g) em couve estocada à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C)

TEMPO (dias)	NÃO BRANQUEADA		BRANQUEADA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	149,73	± 12,27	131,44	± 12,83
1	100,65	± 14,23	104,15	± 12,78
2	92,94	± 12,79	90,45	± 10,14
3	96,55	± 22,60	81,62	± 8,41
6	107,33	± 13,00	68,71	± 1,97
8	92,49	± 15,11	55,05	± 16,23
10	108,05	± 14,93	47,11	± 2,18
13	97,56	± 11,09	61,82	± 2,04
15	99,89	± 12,53	49,95	± 15,58
17	109,43	± 3,53	48,58	± 11,45
20	99,43	± 16,58	31,98	± 12,63
23	103,35	± 6,73	30,68	± 13,47
27	89,36	± 9,44	21,67	± 9,89
30	75,12	± 22,13	20,55	± 7,69
34	61,14	± 16,75	11,50	± 6,99
37	40,23	± 10,42	5,12	± 2,73
41	39,66	± 11,24		
50	33,35	± 0,74		
55	23,01	± 11,78		

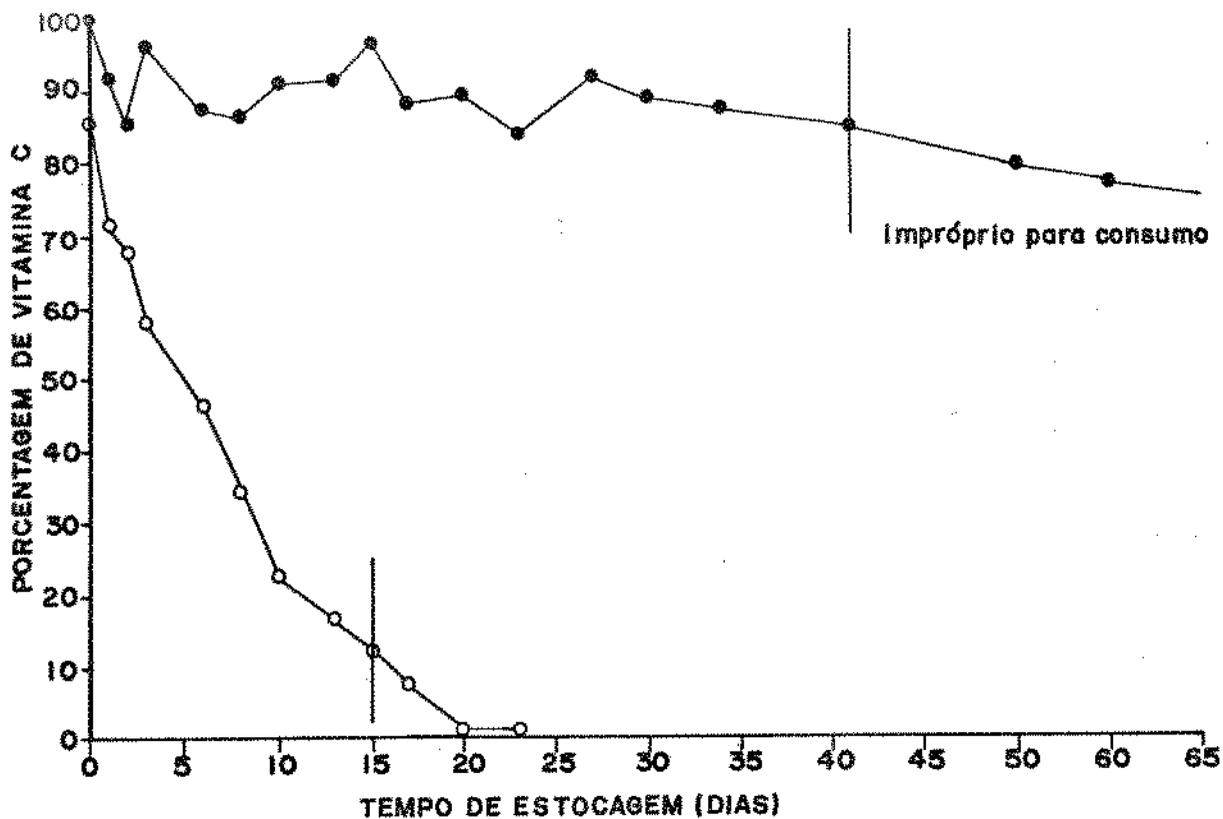


FIGURA 53. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve-flor branqueada e não branqueada à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C).

○ Vegetal branqueado      ● Vegetal não branqueado

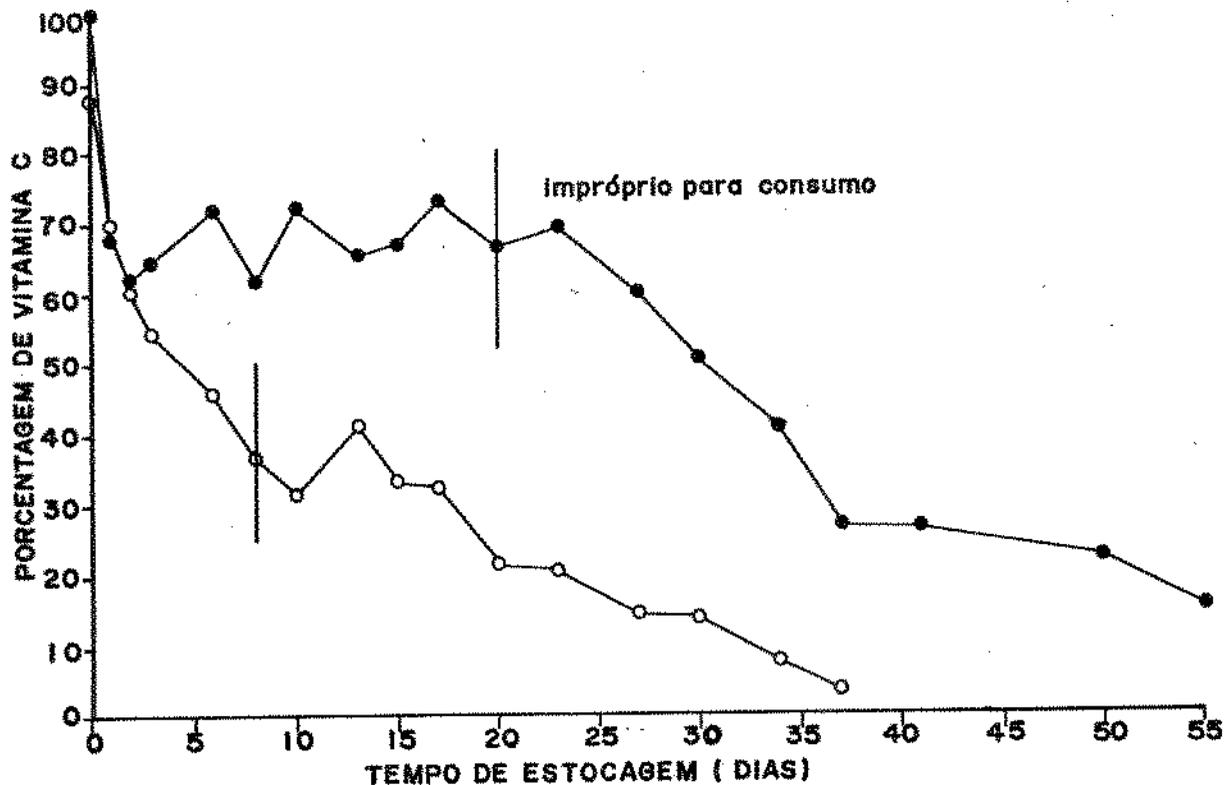


FIGURA 54. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de couve branqueada e não branqueada à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C).

○ Vegetal branqueado      ● Vegetal não branqueado

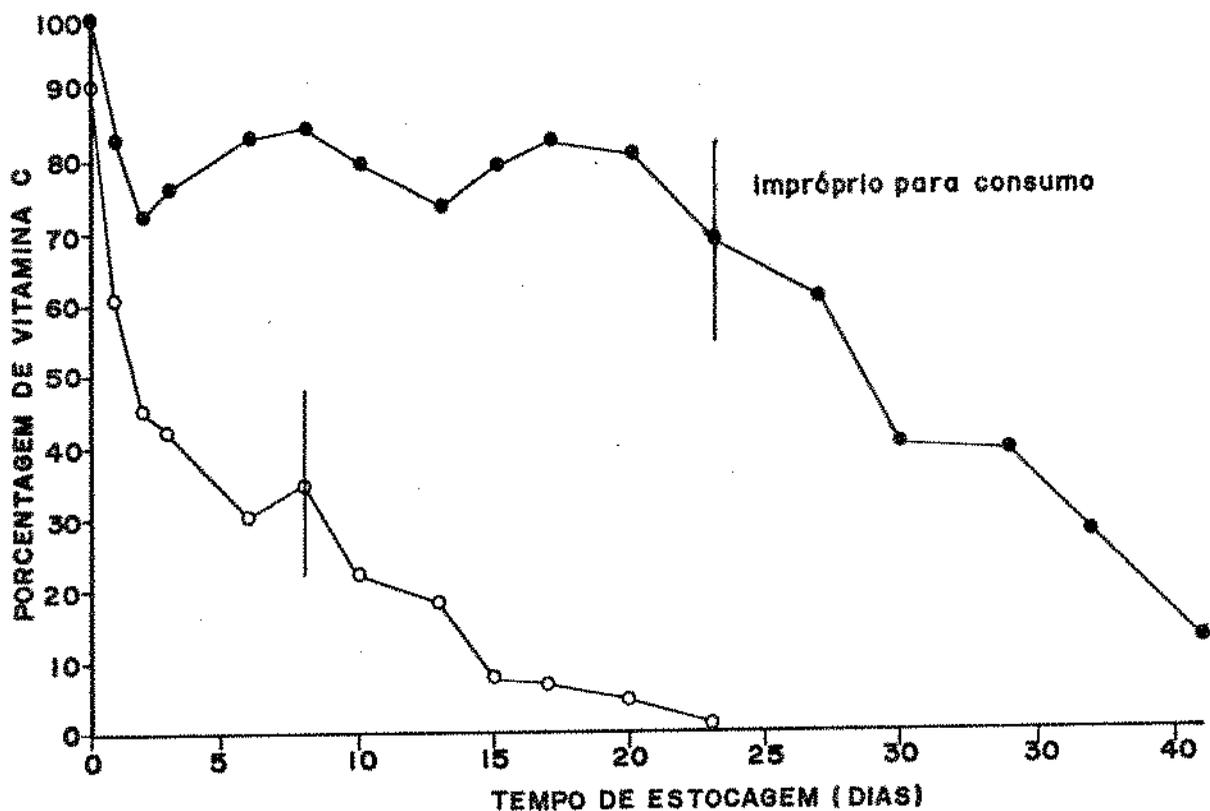


FIGURA 55. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem de pimentão branqueado e não branqueado à temperatura de refrigeração (3°C a 5°C).  
 O Vegetal branqueado                      ● Vegetal não branqueado

A estocagem congelada mostrou grandes diferenças nos teores de vitamina C, quando foram comparados vegetais crus e branqueados (Tabelas 68, 69 e 70). A estocagem de produto branqueado proporcionou retenção de vitamina C significativamente maior (ao nível de 1%) para todos os vegetais.

Para os três vegetais, constatamos que, apesar dos teores iniciais de vitamina C serem menores nos vegetais branqueados, após a estocagem essa situação se invertia (Figuras 56, 57 e 58).

Esse fenômeno poderia ser explicado pelo fato de a estocagem de vegetais crus a temperaturas abaixo do congelamento provocar alterações na estrutura dos vegetais. O congelamento, apesar de não ter sido lento, danificou o tecido dos vegetais, como pôde ser constatado no laboratório. Pode ter ocorrido liberação de enzimas, que, enquanto a temperatura ainda não estivesse extremamente baixa, poderiam atuar reduzindo o teor de vitamina C. Além disso, temos que considerar que a embalagem utilizada era permeável ao oxigênio, possibilitando a oxidação da vitamina. A maior parte das perdas durante a estocagem congelada deve ser devida a esse fato.

Para couve-flor, pudemos notar uma queda inicial no teor de vitamina do vegetal não branqueado em torno de 40% do valor original. Após algum tempo de estocagem (40 dias), o produto apresentou alterações na aparência, tornou-se ligeiramente rosado, coincidindo com uma nova redução na quantidade de vitamina C presente. Após 12 meses de estocagem a retenção foi de, aproximadamente, 15% (Tabela 45).

Para pimentão, notamos uma menor alteração na aparência

e textura dos vegetais não branqueados, e não foi observada uma queda tão expressiva de vitamina C como no caso anterior. O teor de vitamina foi caindo progressivamente com o aumento do tempo de estocagem congelada e, após 12 meses, estava em torno de 35 % do inicial (Tabela 46)

No caso de couve, o produto não branqueado mostrou grandes alterações na textura após congelamento. Pode-se observar na curva que houve uma queda inicial muito expressiva (perdas em torno de 75%). Após 12 meses de estocagem, obtivemos uma retenção de, aproximadamente, 8% (Tabela 47).

Para os vegetais branqueados, foram observadas perdas em torno de 15% somente no processo de branqueamento. No processo de congelamento e durante 12 meses de estocagem, ocorreram perdas de 7% para couve-flor e couve e 12% para pimentão. No total, o branqueamento e estocagem congelada (1 ano a  $-18^{\circ}\text{C}$ ) mostrou perdas na faixa de 20% a 25% para os três vegetais.

Na literatura, não se encontrou referência a estocagem congelada de pimentão e couve. Para couve-flor, são descritas retenções de 60% após estocagem a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 6 meses (Gordon e Noble, 1959b), e retenção em torno de 15% após estocagem a  $-12^{\circ}\text{C}$  por um ano (Guerrant, 1957). As retenções encontradas no laboratório foram, então, bem superiores as citadas nas referências.

No caso de couve e pimentão, houve diferença significativa entre os tratamentos ao nível de 1%, sendo a estocagem branqueada menos danosa ao produto independentemente do tempo de estocagem congelada. Para couve-flor, observamos que, até o tempo de 42 dias, não houve diferença significativa entre os tratamen-

tos. Após esse período, a estocagem branqueada mostrou ser significativamente superior, ao nível de 1%.

Também no caso de estocagem congelada foram encontrados desvios padrão altos (Tabelas 45, 46 e 47). Esse fato já foi anteriormente comentado na estocagem refrigerada.

TABELA 68. Teor de vitamina C (mg/100g) em couve-flor estocada congelada (T = -18°C)

TEMPO (dias)	NÃO BRANQUEADA		BRANQUEADA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	77,54	± 8,89 <sup>a</sup>	65,08	± 7,59 <sup>a</sup>
1	44,43	± 2,04 <sup>a</sup>	58,62	± 0,28 <sup>a</sup>
2	48,47	± 0,54 <sup>a</sup>	64,89	± 4,71 <sup>a</sup>
4	49,07	± 3,98 <sup>a</sup>	62,89	± 6,73 <sup>a</sup>
6	46,83	± 2,50 <sup>a</sup>	66,36	± 5,04 <sup>a</sup>
9	46,45	± 0,76 <sup>a</sup>	65,00	± 1,12 <sup>a</sup>
13	46,10	± 6,77 <sup>a</sup>	67,84	± 6,85 <sup>a</sup>
16	47,85	± 2,10 <sup>a</sup>	67,80	± 2,27 <sup>a</sup>
20	49,77	± 6,34 <sup>a</sup>	65,06	± 2,71 <sup>a</sup>
23	46,93	± 1,92 <sup>a</sup>	63,46	± 1,06 <sup>a</sup>
27	46,71	± 1,88 <sup>a</sup>	62,30	± 7,08 <sup>a</sup>
30	47,27	± 4,41 <sup>a</sup>	64,36	± 2,66 <sup>a</sup>
35	48,27	± 1,57 <sup>a</sup>	61,80	± 5,45 <sup>a</sup>
42	42,77	± 3,02 <sup>a</sup>	62,06	± 4,37 <sup>a</sup>
49	36,97	± 6,75 <sup>a</sup>	62,66	± 9,43 <sup>b</sup>
55	27,67	± 1,57 <sup>a</sup>	62,11	± 9,08 <sup>b</sup>
69	25,09	± 0,88 <sup>a</sup>	57,18	± 0,38 <sup>b</sup>
83	20,61	± 0,84 <sup>a</sup>	56,51	± 1,55 <sup>b</sup>
93	24,91	± 1,55 <sup>a</sup>	61,83	± 7,65 <sup>b</sup>
107	23,61	± 4,38 <sup>a</sup>	64,25	± 5,91 <sup>b</sup>
120	21,69	± 6,63 <sup>a</sup>	65,95	± 2,37 <sup>b</sup>
140	19,67	± 0,80 <sup>a</sup>	66,85	± 4,25 <sup>b</sup>
162	20,04	± 5,40 <sup>a</sup>	65,39	± 3,72 <sup>b</sup>
183	19,71	± 1,44 <sup>a</sup>	65,88	± 10,90 <sup>b</sup>
204	17,83	± 3,64 <sup>a</sup>	57,23	± 1,10 <sup>b</sup>
233	17,44	± 7,75 <sup>a</sup>	66,94	± 6,18 <sup>b</sup>
293	14,49	± 2,83 <sup>a</sup>	59,95	± 5,44 <sup>b</sup>
350	11,65	± 3,84 <sup>a</sup>	59,82	± 6,99 <sup>b</sup>

Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (P < 0,01)

Tabela 69. Teor de vitamina C (mg/100g) em pimentão estocado congelado (T = -18°C)

TEMPO (dias)	NÃO BRANQUEADA		BRANQUEADA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	131,34	± 9,46	116,60	± 7,92
1	121,79	± 7,95	112,39	± 10,04
2	117,16	± 21,52	106,21	± 14,20
4	119,91	± 4,98	106,00	± 9,56
6	116,01	± 18,66	102,27	± 5,50
9	109,47	± 1,59	106,10	± 9,65
13	107,86	± 25,66	103,75	± 20,90
16	96,19	± 8,48	106,11	± 12,12
20	94,23	± 4,93	90,80	± 12,57
23	95,06	± 9,54	104,24	± 13,70
27	99,33	± 11,48	109,45	± 13,51
30	92,14	± 7,40	102,73	± 12,93
35	95,10	± 17,70	96,27	± 6,76
42	83,58	± 19,86	95,56	± 11,04
49	87,89	± 25,10	102,62	± 8,41
55	79,79	± 5,11	100,24	± 7,71
69	79,29	± 9,63	91,01	± 6,62
83	61,17	± 20,79	93,98	± 10,17
93	75,41	± 16,43	103,51	± 4,47
107	70,63	± 14,84	91,37	± 10,58
120	74,34	± 11,31	93,56	± 7,47
140	73,10	± 10,80	106,22	± 8,25
162	67,93	± 9,03	101,58	± 1,84
183	59,97	± 8,81	99,93	± 6,59
204	55,16	± 2,82	95,78	± 9,02
233	50,43	± 6,67	97,08	± 11,20
293	44,83	± 3,58	97,80	± 6,66
350	46,78	± 1,09	100,14	± 6,07

TABELA 70. Teor de vitamina C (mg/100g) em couve estocada congelada (T = -18°C)

TEMPO (dias)	NÃO BRANQUEADA		BRANQUEADA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0	126,24	± 11,55	106,82	± 1,73
1	31,58	± 8,60	108,45	± 0,01
2	24,46	± 4,85	113,92	± 3,85
4	17,13	± 3,15	111,74	± 13,38
6	20,19	± 1,85	108,86	± 10,08
9	16,16	± 1,83	105,92	± 18,19
13	20,84	± 1,87	112,78	± 15,62
16	11,75	± 0,02	103,43	± 16,29
20	18,30	± 1,16	105,55	± 15,51
23	16,90	± 1,43	107,66	± 3,33
27	15,01	± 0,59	105,24	± 5,78
30	17,07	± 0,54	107,91	± 11,69
35	14,53	± 0,78	113,10	± 15,52
42	13,00	± 0,11	109,14	± 9,36
49	11,59	± 1,69	105,98	± 15,20
55	11,28	± 1,55	112,62	± 2,14
69	13,64	± 1,20	100,61	± 18,48
83	10,19	± 2,43	104,98	± 6,51
93	11,01	± 0,66	106,40	± 9,54
107	7,41	± 1,12	99,47	± 2,72
120	8,12	± 1,69	108,58	± 8,53
140	9,36	± 0,58	100,87	± 7,20
162	9,80	± 2,21	101,06	± 13,39
183	9,70	± 0,04	105,57	± 6,13
204	10,63	± 1,32	97,02	± 6,91
233	10,46	± 1,52	100,20	± 3,63
293	9,91	± 1,44	99,45	± 5,85
350	10,27	± 3,36	97,41	± 9,65

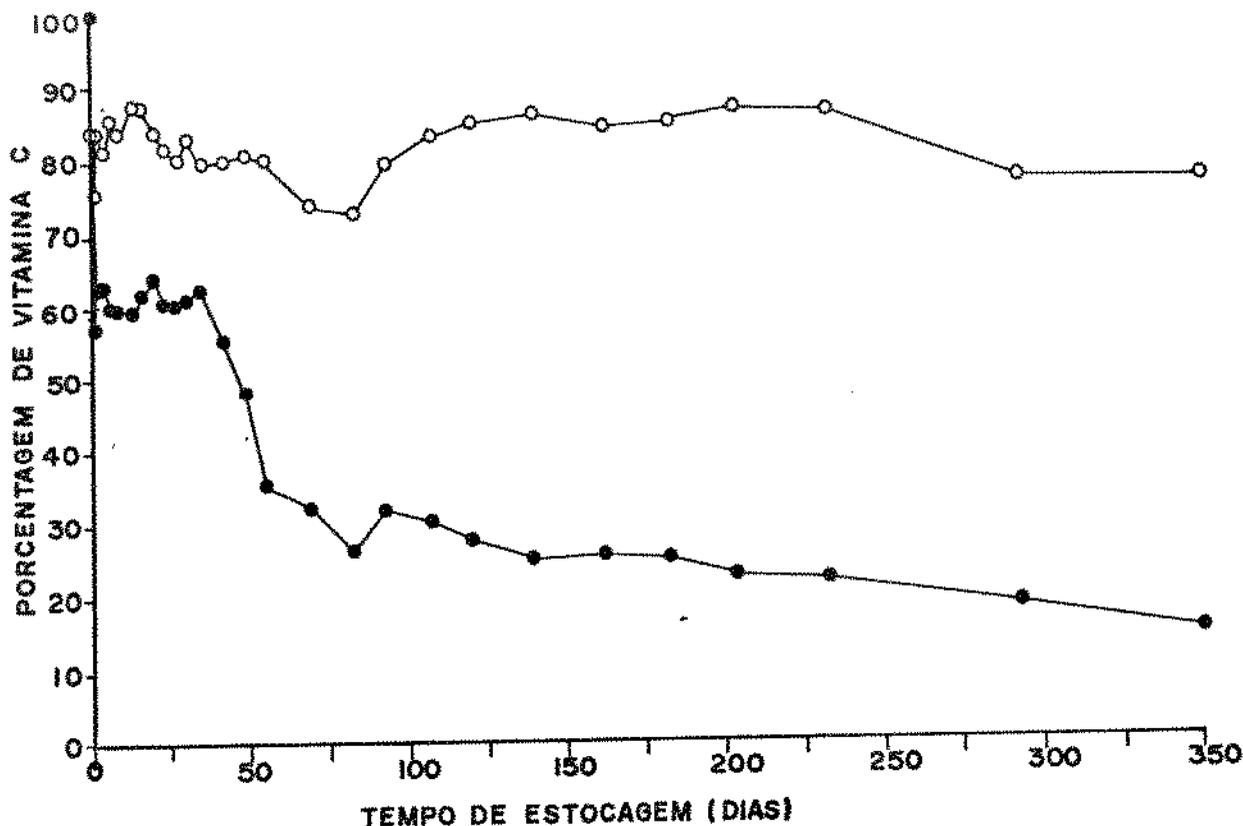


FIGURA 56. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem congelada de couve-flor branqueada e não branqueada ( $T = -18^{\circ}\text{C}$ ).

○ Vegetal branqueado

● Vegetal não branqueado

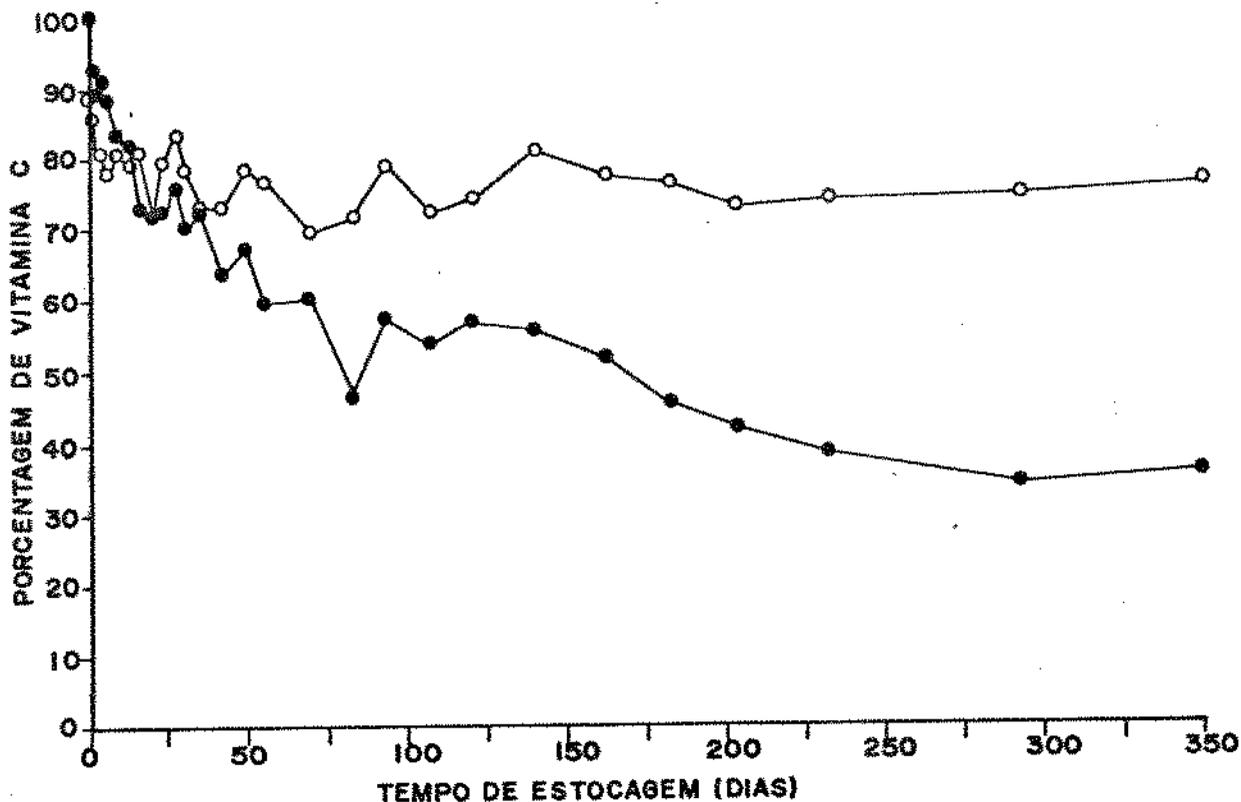


FIGURA 57. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem congelada de pimentão branqueado e não branqueado ( $T = -18^{\circ}\text{C}$ ).

○ Vegetal branqueado

● Vegetal não branqueado

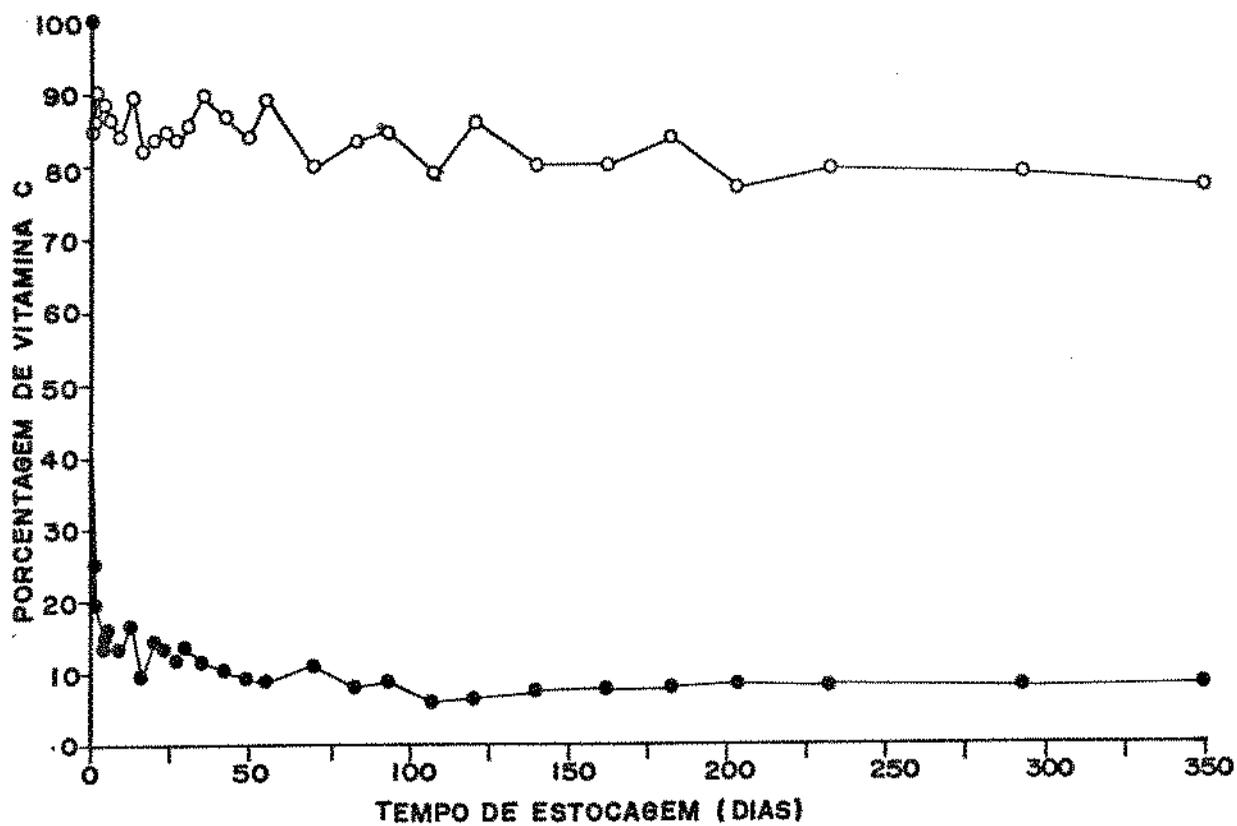


FIGURA 58. Porcentagem de retenção de vitamina C durante a estocagem congelada de couve branqueada e não branqueada (T=-18°C)

O Vegetal branqueado

● Vegetal não branqueado

## V - CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

1. O ácido oxálico poderia substituir o ácido metafosfórico, como solução de extração, de forma eficiente e com maior economia.

2. A perda de vitamina C durante o cozimento em água foi, quase que totalmente, devida à solubilização. Para couve e couve-flor, os teores de vitamina C total não variaram durante o cozimento. No caso de pimentão, houve uma diminuição significativa nesses teores, indicando que uma pequena parcela da vitamina havia sido degradada.

3. As perdas no cozimento em água foram diferenciadas para cada vegetal. Foi constatada uma velocidade de solubilização muito superior para couve devido a sua maior área superficial.

4. Para couve, o teor de vitamina C retido no produto e o solubilizado na água tendeu a se estabilizar após 10 minutos, indicando que, não havendo um aumento na perda de vitamina C com a utilização de um maior tempo de cozimento.

5. O aumento na proporção água:vegetal no cozimento provocou uma maior solubilização da vitamina, com a diminuição do teor de vitamina C no produto, mas não alterou o teor de vitamina C total. A couve foi o vegetal mais afetado, uma vez que, devido à grande área superficial, a maior limitação para a solubilização seria a quantidade de água.

6. O cozimento em água de torneira não apresentou diferença significativa com relação ao cozimento padrão em água des-

tilada. No caso da utilização de recipiente de aço inox e alumínio, foi constatada diminuição no teor de vitamina C, tanto na água de cozimento, quanto no produto. O efeito foi diferenciado dependendo do material do recipiente e variando de produto para produto.

7. As curvas de retenção de vitamina pelo tempo de cozimento em vapor foram menos diferenciadas para os produtos do que as observadas nos cozimentos em água. As perdas, nesse caso, não foram devidas à solubilização da vitamina e, sim, à oxidação enzimática ou química.

8. As curvas de retenção de vitamina pelo tempo de cozimento em microondas foram pouco diferenciadas entre os produtos, e as perdas foram principalmente devidas à degradação enzimática e térmica.

9. O cozimento que provocou menores perdas, foi o realizado em microondas, seguido pelo cozimento em vapor.

10. As perdas de vitamina C nos três vegetais no cozimento em água, vapor e microondas seguiram uma cinética de primeira ordem.

11. A estocagem à temperatura ambiente mostrou perdas muito inferiores às descritas na literatura. Foi comprovada uma estreita correlação entre as perdas de vitamina e fatores de qualidade dos vegetais, uma vez que somente ocorreu uma diminuição expressiva no teor de vitamina C após alterações sensíveis em sua aparência e textura.

12. A estocagem em geladeira provocou perdas maiores e mais rápidas para os vegetais branqueados do que para os crus.

Vegetais crus estocados em geladeira mostraram uma situação semelhante à observada para estocagem à temperatura ambiente, onde a perda de vitamina C poderia ser correlacionada a outros fatores de qualidade.

13. A estocagem congelada de vegetais crus provocou perdas significativas de vitamina, que variaram de vegetal para vegetal. A estocagem de vegetais branqueados em freezer mostrou perdas pouco expressivas de vitamina C. Nesse tipo de processo, a maior parte das perdas foram devidas ao branqueamento inicial.

## VI - BIBLIOGRAFIA

- AOAC Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., 1984. p. 627-628.
- AOAC Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., 1984. p. 844-845.
- ARTZ, W. E.; PETTIBONE, C. A.; AUGUSTIN, J. e SWANSON, B. G. Vitamin C retention of potato fries blanched in water. J. Food Sci., 48(1): 272-273, 1983.
- ASSOCIATION OF VITAMIN CHEMISTS L - Ascorbic acid ( Vitamin C). In: Methods of vitamin assay. 3<sup>o</sup> Ed. Interscience Publishers , 1966. p. 287-334.
- AUGUSTIN, J.; BECK, C. e MAROUSEX, I. G. Quantitative determination of ascorbic acid in potatoes and potatoes products by high performance liquid chromatography. J. Food Sci., 46(1): 312-316, 1981.
- AUGUSTIN, J.; JOHNSON, S. R.; TEITEL, C.; TRUE, R. H.; HOGAN, J. M.; TOMA, R. B.; SHAW, R. L. e DEUTSCH, R. M. Changes in the nutrient composition of potatoes during home preparation. II. Vitamins. American Potato Journal, 55(12): 653-661, 1978.
- AUGUSTIN, J.; MAROUSEK, G. I.; THOLEN, L. A. e BERTELLI, B. Vitamin retention in cooked, chilled, and reheated potatoes. J. Food Sci., 45(4): 814-816, 1980.
- BARNES, B.; TRESSLER, D. K. e FENTON, F. Effect of different cooking methods on the vitamin content of quick - frozen broccoli. Food Res., 8(1): 13-26; 1943.
- BATES, C. J. The function and metabolism of vitamin C in man. In: COUNSELL, J. N. e HORNIG, D.H. Vitamin C (Ascorbic acid). Applied Science Publishers, London, 1981.
- BENDER, A. E. Food Processing and Nutrition. Academic Press, London, 1978. 243 p..
- BESSEY, O. A. A method for the determination of small quantities of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in turbid and colored solutions in the presence of other reducing substances. J. Biol. Chem., 126: 771-784, 1938.
- BESSEY, O. A. e KING, C. G. The distribution of vitamin C in plant and animal tissue, and its determination. J. Biol. Chem., 103(2): 687-698, 1933.

- BOUSHELL, R. e POTTER, N. N. Effects of soaking-blanching conditions on vitamin C losses and other properties of frozen french fried potatoes. *J. Food Sci.*, 45(5):1207-1209, 1213, 1980.
- BOWMAN, F.; PAGE, E.; REMMENA, E. E. e TRUMP, D. Microwave vs. conventional cooking of vegetables at high altitude. *J. Am. Dietet. Ass.*, 58(5): 427-433, 1971
- BRINKMAN, E. V. S.; HALLIDAY, E. G.; HINMAN, W. F. e HAMNER, R. J. Effect of various cooking methods upon subjective qualities and nutritive values of vegetables. *Food Res.*, 7(4): 300-305, 1942.
- BROWN, E. J. e FENTON, F. Losses of vitamin C during cooking of parsnips. *Food Res.*, 7(3): 218-226, 1942.
- BROWN, E. J.; SCHELE, H. e FENTON, F. Loss of vitamin C during cooking of rhubarb. *Food Res.*, 6(3): 217-224, 1941.
- BUSS, D. e ROBERTSON, J. *Manual of Nutrition*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, 1978. 135 p.
- CAMPBELL, C. L.; LIN, T. Y. e PROCTOR, B. E. I - Reduced and total ascorbic acid in vegetables. Microwave vs. conventional cooking. *J. Am. Dietet. Ass.*, 34(4): 365-370, 1958.
- CANET, W. e HILL, M. A. Comparison of several blanching methods on the texture and ascorbic acid content of frozen potatoes. *J. of Food Sci. and Tech.*, 22(3): 273-277, 1987.
- CHAPMAN, V. J.; PUTZ, J. O.; GILPIN, G. L.; SWEENEY, J. P. e EISEN, J. N. Electronic cooking of fresh and frozen broccoli. *J. Home Eco.*, 52(3): 161-165, 1960.
- CHUNG, S. Y.; MORR, C. V. e JEN, J. J. Effect of microwave and conventional cooking on the nutritive value of Colossus peas (*Vigna unguiculata*). *J. Food Sci.*, 46(1): 272-273, 1981.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E. S.; STRONG III, F. C. e GUERNELLI, O. Determinação de ácido ascórbico (vitamina C) por redução de íons cúpricos. *Química Nova*, (4): 60-64, 1984.
- COOKE, J. R. e MOXON, R. E. D. The detection and measurement of vitamin C. In: COUNSELL, J. N. e HORNIG, D.H. *Vitamin C (Ascorbic acid)*. Applied Science Publishers, London, 1981. p.167-168.
- COUNSELL, J. N. e HORNIG, D. H. *Vitamin C (Ascorbic acid)*. Applied Science Publishers, London, 1981. 383 p.

- DAWSON, C. R. e MAGEE, R. J. Ascorbic acid oxidase. In: COLOWICK, S. P. e KAPLAN, N. O. Methods in enzymology, Academic Press INC Publishers, New York, 1955. v.2 . p. 831-835.
- DIETRICH, W. C.; LINDQUIST, F. E.; BOHART, G. S.; MORRIS, H. J. e NUTTING, M-D. Effect of degree of enzyme inactivation and storage temperature on quality retention in frozen peas. Food Res., 20(5): 480-491, 1955.
- DIETRICH, W. C.; LINDQUIST, F. E.; MIERS, J. C.; BOHART, G. S.; NEUMANN, H. J. e TALBURT, W. F. The time-temperature tolerance of frozen foods. IV. Objective tests to measure adverse changes in frozen vegetables. Food Tech., 11(2): 109-113, 1957.
- DIETRICH, W. C.; NUTTING, M-D. F.; BOGGS, M. M. e WEINSTEIN, N. E. Time-temperature tolerance of frozen foods. XXIV. Quality changes in cauliflower. Food Tech., 16(10): 123-128, 1962.
- DOUGLAS, M. A.; VANDERSTOEP, J. e PAULSON, A. T. Effect of gibberellic acid and ethephon on ascorbic acid content and ascorbic acid oxidase activity of redheaven peaches. J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment., 10(4): 233-235, 1977.
- DRAKE, S. R.; SPAYD, S. E. e THOMPSON, J. B. The influence of blanch and freezing methods on the quality of selected vegetables. J. Food Quality, 4(4): 271-278, 1981.
- DUNKER, C. F.; FELLERS, C. R. e ESSELEN Jr, W. B. A comparison of four methods for determining vitamin C with a 25-day, weight-response bioassay. Food Res., 7(4): 260-266, 1942.
- EHEART, M. S. Variety, fresh storage, blanching solution and packaging effects on ascorbic acid, total acids, pH and chlorophylls in broccoli. Food Tech., 23(2): 238-241, 1969.
- EHEART, M. S. e GOTT, C. Chlorophyll, ascorbic acid and pH changes in green vegetables cooked by stir-fry, microwave, and conventional methods and a comparison of chlorophyll methods. Food Tech., 19(5): 185-188, 1965.
- EHEART, M. S. e SHOLES, M. L. Effects of method of blanching and temperature of storage on nutritive value of dehydrated cabbage. Food Res., 11(4): 298-304, 1946.
- EISON-PERCHONOK, M. H. e DOWNES, T. W. Kinetics of ascorbic acid autoxidation as a function of dissolved oxygen concentration and temperature. J. Food Sci., 47(3): 765-767, 773, 1982.

- ELKINS, E. R. Nutrient content of raw and canned green beans, peaches, and sweet potatoes. *Food Tech.*, 33(2): 66-67, 1979.
- ERDMAN JR., J. W. Effect of preparation and service of food and nutritive value. *Food Tech.*, 33(2): 38, 40-41, 44-47, 1979.
- ESAKA, M.; SUZUKI, K. e KUBOTA, K. Determination method for L-ascorbic acid in foods with immobilized ascorbate oxidase. *Agric. Biol. Chem.*, 49(10): 2955-2960, 1985.
- EZELL, D. B. e WILCOX, M. S. Vegetable vitamins. Loss of vitamin C in fresh vegetables as related to wilting and temperature. *J. Agr. Food Chem.*, 7(7): 507-509, 1959.
- EZELL, D. B.; WILCOX, M. S. e DEMAREE, K. D. Vegetable storage. Physiological and biochemical effects of storage humidity on sweet potatoes. *J. Agr. Food Chem.*, 4(7): 640-644, 1956.
- FARRELL, K. T. e FELLERS, C. R. Vitamin content of green snap beans. Influence of freezing, canning, and dehydration on the content of thiamin, riboflavin, and ascorbic acid. *Food Res.*, 7(3): 171-177, 1942.
- FENNEMA, D. Loss of vitamins in fresh and frozen foods. *Food Tech.*, 31(12): 32-35, 38, 1977.
- FENTON, F. e TRESSLER, D. K. Losses of vitamin C during commercial freezing, defrosting, and cooking of frosted peas. *Food Res.*, 3(3): 409-416, 1938.
- FENTON, F.; TRESSLER, D. K.; CAMP, S. C. e KING, C. G. Losses of vitamin C during boiling and steaming of carrots. *Food Res.*, 3(3): 403-408, 1938.
- FISHER, R. A. *Statistical Methods for Research Workers*. Hafner Press, New York, 1970. 362 p.
- FISHER, R. A. e YATES, F. *Tabelas Estatísticas para Pesquisa em Biologia, Medicina e Agricultura*. Editora Polígono, São Paulo, 1971. 150 p.
- FISHER, W. B. e VAN DUYN, F. D. Effect of variations in blanching on quality of frozen broccoli, snap beans, and spinach. *Food Res.*, 17(4): 315-325, 1952.
- FLOYD, W. W. e FRAPS, G. S. Changes in vitamin C content during boiling of turnip greens in various waters in covered and uncovered containers. *Food Res.*, 5(1): 33-41, 1940.
- FONSECA, H. e NOGUEIRA, J. F. Conteúdo de ácido ascórbico em produtos industrializados de goiaba. *Arquivos Brasileiros de Nutrição*, 24(2): 135-140, 1968.

- FREEBAIRN, H. T. Determination and stabilization of reduced ascorbic acid in extracts from plant material. *Analytical Chem.*, 31(11): 1850-1851, 1959.
- GARROTE, R. L.; SILVA, E. R. e BERTONE, R. A. Losses by diffusion of ascorbic acid during water blanching of potato tissue. *Lebensm-Wiss, u.Technol.*, 19(3): 263-265, 1986.
- GARROTE, R. L.; SILVA, E. R. e BERTONE, R. A. Effect of surface freezing on ascorbic acid retention in water blanched potato strps. *J. Food Sci.*, 54 (4): 1090-1091, 1989.
- GILLAM, W. S. Polarographic determination of vitamin C in fruits and vegetables. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 17(4): 217-221, 1945.
- GLEIM, E. G.; TRESSLER, D. K. e FENTON, F. Ascorbic acid, thiamin, riboflavin, and carotene contents of asparagus and spinach in the fresh, stored, and frozen states, both before and after cooking. *Food Res.*, 9(6): 471-490, 1944.
- GORDON, J. e NOBLE, I. Flavor, color, and ascorbic acid retention. Comparison of eletronic vs. conventional cooking of vegetables. *J. Am. Dietet. Ass.*, 35(3): 241-244, 1959.
- GORDON, J. e NOBLE, I. Ascorbic acid retention and color differences. Effect of cooking method on vegetables. *J. Am. Diet. Ass.*, 35(6): 578-581, 1959.
- GORDON, J. e NOBLE, I. Effects of blanching, freezing, freezing-storage, and cooking on ascorbic acid retention on vegetables. *J. Home Eco.*, 51(10): 867-870, 1959.
- GOULD, M. F. e GOLLEDGE, D. Ascorbic acid levels in conventionally cooked versus microwave oven cooked frozen vegetables. *Food Sci. and Nutr.*, 42(2): 145-152, 1989.
- GOULD, S.; TRESSLER, D. K. e KING, C. G. Vitamin C content of vegetables. V. Cabbage. *Food Res.*, 1(5): 457-434, 1936.
- GRANT, D. R. e SOOD, V. K. Studies of the role of ascorbic acid in chemical dough development. II. Partial purification and characterization of an enzyme oxidizing ascorbate in flour. *Cereal Chem.*, 57(1): 46-49, 1980.
- GUERRANT, N. B. Food storage effects. Changes in light reflectance and ascorbic acid content of foods during frozen storage. *J. Agr. Food Chem.*, 5(3): 207-212, 1957.

- GUILD, L. P.; LOCKHART, E. E. e HARRIS, R. S. Stability of solutions of pure ascorbic acid and dehydroascorbic acid. *Science*, 107(27): 226-227, 1948.
- GYORGY, P. e RUBIN, S. H. Chemical methods of vitamin assay. XII. Ascorbic acid. In: GYORGY, P. *Vitamin Methods*. Academic Press, New York, 1950. p. 206-285
- HALLAWAY, M.; PHETHEAN, P. D. e TAGGART, J. A critical study of the intracellular distribution of ascorbate oxidase and a comparison of the kinetics of the soluble and cell-wall enzyme. *Phytochemistry*, 9: 935-944, 1970.
- HARRIS, R. S. The effects of agricultural practices on the composition of foods. A. Foods of plant origin. In: HARRIS, R. S. e VON LOESECKE, H. W. *Nutritional Evaluation of Food Processing*, AVI, Connecticut, 1971. p. 131-132.
- HARRIS, R. S. e VON LOESECKE, H. W. *Nutritional Evaluation of Food Processing*, AVI, Connecticut, 1971, 612 p.
- HILL Jr., C. J. e GRIEGER-BLOCK, R. A. Kinetic data: generation, interpretation and use. *Food Tech.*, 34(2): 56-66, 1980.
- HOCHEBERG, M.; MELNICK, D. e OSER, B. L. Photometric determination of reduced and total ascorbic acid. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 15(3): 182-188, 1943.
- HOLLINGSWORTH, D. F. e MARTIN, P. E. Some aspects of effects of different methods of production and of processing on the nutritive value of food. *World Review Nutr. Diet.*, 15: 1-34, 1972.
- HUGUES, D. E. Irreversible reaction kinetics of the aerobic oxidation of ascorbic acid. *Anal. Chem.*, 57(2): 555-558, 1985.
- HUGUES, R. E. Recommended daily amounts and biochemical roles- The vitamin C, carnitine fatigue relationship. In: COUNSELL, J. N. e HORNIG, D. H. *Vitamin C (Ascorbic acid)*. Applied Science Publishers, London, 1981. p.
- HURT, D. H. Effect of canning on the nutritive value of vegetables. *Food Tech.*, 33(2): 62-65, 1979.
- JEN, Y.; MANSON, J. E.; STUMBO, C. R. e ZAHRADNIK, J. W. A procedure for estimating sterilization of and quality factor degradation in thermally processed foods. *J. Food Sci.*, 36(4): 692-698, 1971.
- JOSLYN, M. A. e MILLER, J. Effect of sugars on oxidation of ascorbic acid. I. Kinetics of auto-oxidation of ascorbic acid. *Food Res.*, 14(4): 325-339, 1949.

- JONHSON, F. C. The antioxidant vitamins. CRC - Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 11(3): 217-310, 1979.
- KAILAPASAPATHY, K. e KONESHAN, T. Effect of wilting on the ascorbate content of selected fresh green leafy vegetables consumed in Sri Lanka. J. Agr. Food Chem., 34(2): 259-261, 1986.
- KANNER, J.; HAREL, S. e BEN-SHALOM, N. Ascorbate oxidase in mature orange peel. J. Food Sci., 46(5): 1407-1409, 1981.
- KESHINRO, O. O. e KETIKU, A. D. Effect of traditional cooking methods on the ascorbic acid content of some nigerian leafy and fruit vegetables. Food Chem., 4(4): 303-310, 1979.
- KHAN, M. M. T. e MARTELL, A. E. Metal ion and metal chelate catalysed oxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. J. Am. Chem. Soc., 89(26): 4176, 1967a.
- KHAN, M. M. T. e MARTELL, A. E. Metal ion and metal chelate catalyzed oxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. II. Cupric and ferric chelate catalyzed oxidation. J. Amer. Chem. Soc., 89(26): 7104-7111, 1967b.
- KIM, S. R.; LANE, R. H.; ABDEL-GHANY, M. e STITT, K. R. Influence of extractant on L-ascorbic acid recovery from selected foods and beverages. J. Food Quality, 10(1): 1-7, 1987.
- KINCAL, N. S. e GIRAY, Ç. Kinetics of ascorbic acid degradation in potato blanching. Inter. J. Food Sci. and Tech., 22(3): 249-254, 1987.
- KING, E. L. How chemical reactions occur? W.A. Benjamin, INC, New York, 1964. 147 p.
- KLEIN, B. P.; KUD, C. H. Y. e BOYD, G. Folacin and ascorbic acid retention in fresh raw, microwave, and conventionally cooked spinach. Food Sci., 46(2): 640-641, 1981.
- KOZEMPEL, M. F.; SULLIVAN, J. F. e CRAIG Jr, J. C. Model for blanching potatoes and other vegetables. Lebensm-Wiss,u Technol., 14(6): 331-335, 1981.
- KOZEMPEL, M. F.; SULLIVAN, J. F.; DELLA MONICA, E. S.; EGOVILLE, M. J.; TALLEY, E. A.; JONES, W. J. e CRAIG Jr, J. C. Application to leaching model to describe potato nutrient losses in hot water blanching. Food Sci., 47(5): 1519 - 1522, 1982.
- KRAMER, A. Storage retention of nutrients. Food Tech., 28(1): 50-58, 60, 1974.

- KRAMER, A. Effect of storage on nutritive value of food. *J. Food Quality*, 1(1): 23-55, 1977.
- KREHL, W. A. e Winters, R. W. Effect of cooking methods on retention of vitamins and minerals in vegetables. *J. Am. Dietet. Ass.*, 26(12): 966-972, 1950.
- LABUZA, T. P. Symposium 2: Effects of processing, storage, and handling on nutrient retention in foods. Effects of dehydration and storage. *Food Tech.*, 27(1): 20-21, 23, 25-26, 51, 1973.
- LAING, B. M.; SCHLUETER, D. L. e LABUZA, T. P. Degradation kinetics of ascorbic acid at high temperature and water activity. *J. Food Sci.*, 43(5): 1440-1443, 1978.
- LANE, R. H.; BOSCHUNG, M. D. e ABDEL-GHANY, M. Ascorbic acid retention of selected vegetables blanched by microwave and conventional methods. *J. Food Quality*, 8 (2/3): 139-144, 1985.
- LATHROP, P. J. e LEUNG, H. G. Thermal degradation and leaching of vitamin C from green peas during processing. *J. Food Sci.*, 45(4): 995-998, 1980.
- LEE, M. H. e DAWSON, C. R. Ascorbate oxidase. Further studies on the purification of the enzyme. *J. Biol. Chem.*, 248(19): 6596-6602, 1973a.
- LEE, M. H. e DAWSON, C. R. Ascorbate oxidase. Spectral characteristics of the enzyme. *J. Biol. Chem.*, 248 (19): 6603-6609, 1973b.
- LEE, S. H. e LABUZA, T. P. Destruction of ascorbic acid as a function of water activity. *J. Food Sci.*, 40(2): 370-373, 1975
- LEE, Y. C.; KIRK, J. R.; BEDFORD, C. L. e HELDMAN, D. R. Kinetics and computer simulation of ascorbic acid stability of tomato juice as functions of temperature, pH and metal catalyst. *J. Food Sci.*, 42(3): 640-644, 648, 1977.
- LEICHSERING, J. M.; NORRIS, L. M. e PILCHER, H. L. I. Effect of storage and of boiling on the ascorbic, dehydroascorbic and diketogulonic acid contents of potatoes. *Food Res.*, 22 (1): 37-43, 1957.
- LENZ, M. K. e LUND, D. B. Experimental procedures for determining destruction kinetics of food components. *Food Tech.*, 34(2): 51-55, 1980.
- LOEFFLER, H. J. e POINTING, J. D. Ascorbic acid. Rapid determination in fresh, frozen, and dehydrated fruits and vegetables. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 14(11): 846-849, 1942.

- LORENZ, K. Microwave heating of food changes in nutrient and chemical composition. CRC-Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 7(4): 339-370, 1976.
- LOVETT-JANISON, P. L. e NELSON, J. M. Ascorbic acid oxidase from summer croock - neck squash (*C. pepo condensa*). J. Biol. Chem., 62(6): 1409-1412, 1940.
- MABESA, L. B. e BALDWIN, R. E. Ascorbic acid in peas cooked by microwaves. J. Food Sci., 44(3): 932-933, 1979.
- MACK, G. L. e KERTESZ, Z. I. Vitamin C in vegetables. III. The oxidation of ascorbic acid by mettalic catalyts. Food Res., 1(5): 377-382, 1936.
- MACK, G. L.; TAPLEY, W. T. e KING, C. G. Vitamin C in vegetables. X. Snap beans. Food Res., 4(6): 309-316, 1939.
- MACK, G. L. e TREESLER, D. K. Vitamin C in vegetables. VI. A critical investigation of the Tillmans method for the determination of ascorbic acid. J. Biol. Chem., 118(3): 735-742, 1937.
- MARCHESINI, A.; CAPELLETTI, P.; CANONICA, L.; DANIELI, B. e TOLLARI, S. Evidence about the catecholoxidase activity of the enzyme ascorbate oxidase extracted from *Cucurbita pepo medullosa*. Biochimica et Biophysica Acta, 484: 290-300, 1977.
- MARTIN, M. E.; SWEENEY, J. P.; GILPIN, G. L. e CHAPMAN, V. J. Broccoli nutrients. Factors affecting the ascorbic acid and carotene content of broccoli. J. Agr. Food Chem., 8(5): 387-390, 1960.
- MASURE, M. P.; DIETRICH, W. C.; LINDQUIST, F. E. e BLACKWOOD, L. C. A rapid test for adequacy of blanching in frozen Brussels sprouts. Food Tech., 7(9): 363-366, 1953.
- McCOMBS, L. C. Ascorbic acid oxidase activity of certain vegetables and changes in the content of reduced and dehydroascorbic acid during shelf-life. Food Res., 22(5): 448-454, 1957.
- McINTOSH, J. A.; TRESSLER, D. K. e FENTON, F. The effect of different cooking methods on the vitamin C content of quick-frozen vegetables. J. Home Eco., 32(12): 692-695, 1940.
- MILLER, J. e JOSLYN, M. A. Effect of sugars on oxidation of ascorbic acid. II. General and especific effects. Food Res., 14(4): 340-353, 1949a.
- MILLER, J. e JOSLYN, M. A. Effect of sugars on oxidation of ascorbic acid. III. Influence of pH and type of buffer. Food Res., 14(4): 354-363, 1949b.

- MILLS, M. B.; DAMRON, C. M. e ROE, J. H. Ascorbic acid, dehydroascorbic acid, and diketogulonic acid. *Anal. Chem.*, 21(6): 707-709, 1949.
- MOLEDINA, K. H. e FLINK, J. M. Determination of ascorbic acid in plant food products by HPLC. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 15(6): 351-358, 1982.
- MOLLER, J. e VAN POUCKE, M. Gel electrophoretic comparison of light-induced ascorbic acid oxidase from mustard seedlings and from pumpkin tissue. *Phytochemistry*, 9: 1803 - 1805, 1970.
- MONDY, N. I.; LEJA, M. e GOSSELIN, B. Changes in total phenolic, total glycoalkaloid, and ascorbic acid content of potatoes as a result of bruising. *J. Food Sci.*, 52 (3): 631-633, 1987.
- MORELL, S. A. Rapid photometric determination of ascorbic acid in plant materials. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 13 (11): 793-794, 1941.
- MUFTUGIL, N. Effect of different types of blanching on the color and the ascorbic acid and chlorophyll contents of green beans. *J. Food Process. and Preservation*, 10 (1): 69-76, 1986.
- NEBESKY, E.A.; ESSELEN Jr, W.B.; KAPLAN, A.M. e FELLERS, C.R. Thermal destruction and stability of peroxidase in acid foods. *Food Res.*, 15(2): 114-124, 1950.
- NERY, J. P. Vitamina C em variedades nacionais de batata. *Colêânea do Ital*, 12: 55-57, 1977.
- NOBLE, I. Color and ascorbic acid variations in cabbage cooked by various methods. *Food Res.*, 16(1): 71-76, 1951.
- NOBLE, I. Effect of length of cooking. Ascorbic acid and color of vegetables. *J. Am. Diet. Ass.*, 50(4): 304-307, 1967.
- NOBLE, I. e GORDON, J. Ascorbic acid and color retention in green beans cooked by different methods. *J. Am. Dietet. Ass.*, 32(2): 119-122, 1956.
- NOBLE, I. e GORDON, J. Effect of blanching method on ascorbic acid and color of frozen vegetables. *J. Am. Diet. Ass.*, 44 (2): 120-123, 1964.
- NOBLE, I. e HANIG, M. M. D. Ascorbic acid and dehydroascorbic acid content of raw and cooked vegetables. *Food Res.*, 13(6): 461- 471, 1948.
- NORBACK, J. P. Techniques for optimization of food processes. *Food Tech.*, 34(2): 86-88, 1980.

- ODLAND, D. e EHEART, M. S. Ascorbic acid, mineral and quality retention in frozen broccoli blanched in water, steam and ammonia-steam. *J. Food Sci.*, 40(5): 1004-1007, 1975.
- OLLIVER, M. Ascorbic acid. IV. Estimation. In: HARRIS, R.S. e SEBRELL, W. H. *The Vitamins*. Academic Press, 1967. v.1. p. 338-359.
- OLLIVER, M. Ascorbic acid. V. Occurrence in Foods. In: HARRIS, R. S. e SEBRELL, W. H. *The Vitamins*. Academic Press, 1967. v.1. p. 359-367.
- OLLIVER, M. Ascorbic acid. XI. Standardization of activity. In: HARRIS, R. S. e SEBRELL, W. H. *The Vitamins*. Academic Press, 1967. v.1. p. 367-369.
- O'MAHONY, M. *Sensory Evaluation of Food -Statistical Methods and Procedures*. Marcel Dekker, Inc., New York, 1986. 487p.
- OSER, B. L.; MELNICK, D. e OSER, M. Influence of cooking procedure upon retention of vitamins and minerals in vegetables. *Food Res.*, 8(2): 115-122, 1943.
- PACHLA, L. A.; REYNOLDS, D. L. e KISSINGER, P. T. Review of ascorbic acid methodology. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 68(1): 1-12, 1985.
- POINTING, J.D. Extraction of ascorbic acid from plant materials. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 15(6): 389-391, 1943.
- POTGIETER, M. e GREENWOOD, M. L. Influence of cooking method on ascorbic acid and thiamine contents of four varieties of kale (*Brassica oleracea* v. *acephala*). *Food Res.*, 15(3): 223-231, 1950.
- POULSEN, K. P. Optimization of vegetable blanching. *Food Tech.*, 40(6): 122-123, 126-129, 1986.
- PROCTOR, B. E. e GOLDBLITH, S. A. Radar energy for rapid cooking and blanching, and its effect on vitamin content. *Food Res.*, 2(2): 95-104, 1948.
- REDDY, N. N. e SISTRUNK, W. A. Effect of cultivar, size, storage and cooking method on carbohydrates and some nutrients of sweet potatoes. *J. Food Sci.*, 45(3): 682-684, 1980.
- REID, M. E. Protection of ascorbic acid during its extraction from plant tissues. *Food Res.*, 7(4): 288-294, 1942.
- REID, M. E. Vitamin C loss from soybeans stored in cooked and fresh state. *J. Home Eco.*, 35(9): 587-588, 1943.

- RETZER, J. L.; VAN DUYN, F. O.; CHASE, J. T. e SIMPSON, J. I. Effect of steam and hot - water blanching on ascorbic acid content of snap beans and cauliflower. Food Res., 10(6): 518-524, 1945.
- RICHARDSON, J. E.; DAVIS, R. e MAYFIELD, H. L. Vitamin C content of potatoes prepared for table use by various methods of cooking. Food Res., 2(1): 85-95, 1937.
- RIZZOLO, A.; FORNI, E. e POLESELLO, A. HPLC assay of ascorbic acid in fresh and processed fruit and vegetables. Food Tech., 34(2): 78-85, 1980.
- ROE, J. H. The determination of ascorbic acid as furfural and a comparison of results obtained by this method and by by indophenol titration. J. Biol. Chem., 16: 609 - 619, 1936.
- SAGUY, I. e KAREL, M. Modeling of quality deterioration during food processing and storage. Food Tech., 34(2): 78-85, 1980.
- SAKAI, Y.; WATANABE, H; TAKAY, R. e HASEGAWA, T. A kinetic model for oxidation of ascorbic acid and beta-carotene. J. Food Process. and Preservation, 11(2): 197-207, 1987.
- SCHWIMMER, S. Source book of food enzymology. AVI Publishing Company, pag. 288-290, 1981.
- SCOULAR, F. I. e EAKLE, K. H. Loss of ascorbic acid during cooking of stored sweet potatoes. Food Res., 8(2): 156 - 162, 1943.
- SHAW, P. E. e WILSON III, W. C. Ascorbic acid content of some tropical fruit products determined by high - performance liquid chromatography. J. Agr. Food Chem., 30(2): 394-396, 1982.
- SIMPSON, J. I. Editorial review. Home practices and the nutritive value of fruits and vegetables. Food Res., 8(5): 353-363, 1943.
- SOKAL, R. R. e ROHLF, F. J. Biometry. W. H. Freeman and Company, San Francisco, 1969. 776p.
- SOOD, R. e BHAT, C. M. Changes in ascorbic acid and carotene content of green leafy vegetables on cooking. J. Food Sci. Tech., 11(4): 131-133, 1974.
- SWARTZ, J. B. e CARROAD, P. A. Recycling of water in vegetable blanching. Food Tech., 33(6): 54-59, 1979.

- SWEENEY, J. P.; CHAPMAN, V. J.; MARTIN, M. E. e DAWSON, E. H. Quality of frozen vegetables purchased in selected retail markets. *Food Tech.*, 15(7): 341-345, 1961.
- TANNENBAUM, S. R. Vitamins and minerals. In: Fennema, O. R. *Principles of Food Science-Part 1. Food Chemistry.* Marcel Dekker, INC., 1976. p. 347-384.
- TAUBER, H. e KLEINER, I. S. A method for the quantitative determination of ascorbic acid (vitamin C). The vitamin C content of various plant and animal tissue. *J. Biol. Chem.*, 108(2): 563-571, 1935.
- TEWARI, C. P. e KRISHNAN, P. S. Loss of ascorbic acid during estimation by Roe-Kuether method. *J. Food Sci.*, 16(1): 11-14, 1961.
- THIJSSSEN, H. A. C.; KERKHOF, P. J. A. M. e LIEFKENS, A. A. A. Short - cut method for calculation of sterilization conditions yielding optimum quality retention for conduction-type heating of packaged foods. *J. Food Sci.*, 43(4):1096-1101, 1978.
- THOMAS, M. H.; BRENNER, S.; EATON, A. e CRAIG, V. Effect of electronic cooking on nutritive value of foods. *J. Am. Dietet. Ass.*, 25(1): 39-44, 1949.
- TOKUYAMA, K.; CLARK, E. E. e DAWSON, C. R. Ascorbate oxidase: A new method of purification. Characterization of the purified enzyme. *Biochemistry*, 4(7): 1362-1369, 1965.
- VAMOS - VIGYÁZÓ, L. Poliphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC -Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15(1): 49-127, 1981.
- VAN DUYNE, F. D.; CHASE, J. T.; FANSKA, J. R. e SIMPSON, J. I. Effect of certain home practices on reduced ascorbic acid content of peas, rhubarb, snap beans, soybeans, and spinach. *Food Res.*, 12(6): 439-448, 1947.
- VAN DUYNE, F. D.; CHASE, J. T. e SIMPSON, J. I. Effect of various home practices on ascorbic acid content of cabbage. *Food Res.*, 9(2): 164-173, 1944.
- VAN DUYNE, F. D.; CHASE, J. T. e SIMPSON, J. I. Effect of home practices on ascorbic acid content of potatoes. *Food Res.*, 10(1): 72-83, 1945.
- VAVICH, M. G.; STERN, R. M. e GUERRANT, N. B. Nutritive value of canned food. Determination of ascorbic acid of fresh green peas. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 17: 531, 1945.

- VILTER, R. W. Ascorbic acid. XII. Effects of ascorbic acid. Deficiency in man. In: HARRIS, R. S. e SEBRELL, W. H. The Vitamins. Academic Press, 1967. v.1. p.
- VON LOESECKE, H. W. Effect of harvesting and handling practices on composition of unprocessed foods. A. Foods of plant origin. In : HARRIS, R. S. e VON LOESECKE, H. W. Nutritional Evaluation of Food Processing, AVI, Connecticut, 1971, p. 58-86.
- WATTS, J. H. e GRISWOLD, R. M. Enzyme inactivation. Relation of rates of inactivation of peroxidase, catecholase, and ascorbate to oxidation of ascorbic acid in potatoes and parsnips. J. Agr. Food Chem., 1(8): 569-574, 1953.
- WELLINGTON, M. e TRESSLER, D. K. Vitamin C content of vegetables. IX. Influence of method of cooking on vitamin C content of cabbage. Food Res., 3(3): 311-315, 1939.
- WEISSBERGER, A. e LuVALLE, J. E. Oxidation process. XVII. The autoxidation of ascorbic acid by molecular oxygen. J. Am. Chem. Soc., 66: 700, 1944.
- WHEELER, K.; TRESSLER, D. K. e KING, C. G. Vitamin C content of vegetables. XII. Broccoli, cauliflower, endive, cantaloup, parsnips, new-zealand spinach, kohlrabi, lettuce, and kale. Food Res., 4(6): 593-604, 1939.
- WHITAKER, J. R. Principles of enzymology for the food sciences. Marcel Dekker, INC, New York, 1972. 636 p.
- WILLS, R. B. H., WIMALASINI, P. e GREENFIELD, H. Dehydroascorbic acid levels in fresh fruit and vegetables in relation to total vitamin C activity. J. Agric. Food Chem., 32(4): 836-838, 1984.
- ZEPPLIN, M. e ELVEHJEN, C. A. Effect of refrigeration on retention of ascorbic acid in vegetables. Food Res., 9(2): 100-111, 1944.