UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS CAMPUS POMBAL - PB

JANAILSON DA COSTA ALMEIDA

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICO E MICROBIOLÓGICO DO REPOLHO ROXO (*Brassica oleraceae*) E OBTENÇÃO DE CORANTES PARA A APLICAÇÃO EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICO E MICROBIOLÓGICO DO REPOLHO ROXO (*Brassica oleraceae*) E OBTENÇÃO DE CORANTES PARA A APLICAÇÃO EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

Janailson da Costa Almeida

Orientadora: Profª. D.Sc. Alfredina dos Santos Araujo

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Campina Grande, Câmpus de Pombal, como parte das exigências para a obtenção do título de Graduado em Engenharia de Alimentos.

Pombal 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

A447p Almeida, Janailson da Costa.

Parâmetros físico-químico e microbiológico do repolho roxo (*Brassica oleraceae*) e obtenção de corantes para a aplicação em produtos alimentícios / Janailson da Costa Almeida. — Pombal, 2015.

42 f.: il. color.

Monografia (Bacharel em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2015.

"Orientação: Prof.ª Dr.ª. Alfredina Araújo dos Santos, Prof. Dr. Gilcean Silva Alves".

Referências.

1. Antocianina. 2. Pigmentos. 3. Hortaliça. I. Santos, Alfredina Araújo doos. II. Alves, Gilcean Silva. III. Título.

CDU 633.86(043)

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICO E MICROBIOLÓGICO DO REPOLHO ROXO (*Brassica oleraceae*) E OBTENÇÃO DE CORANTES PARA A APLICAÇÃO EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande, como um dos requisitos para Obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Monografia aprovada em:/ de 2015
Banca examinadora:
Prof. D. Sc. Alfredina dos Santos Araújo - UFCG Orientadora
MSc. Everton Vieira da Silva - UFCG Examinador Interno
Prof. D. Sc. Gilcean Silva Alves - IFPB Examinador Externo
Prof. D. Sc. Patrício Borges Maracajá Examinador Externo

Dedico à minha família, João, Ivanide, Ivandra, Jailson e Iriandra por todo incentivo e apoio em todos os momentos. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, fonte de força para superar todas as dificuldades que tive em todo período do curso de Engenharia de Alimentos.

Aos meus pais João e Ivanilde que sempre se empenhou com toda garra, abrindo mão de muitas coisas para que seus filhos terminassem seus estudos. Obrigado pela educação que vocês têm me proporcionado. Tudo que conquistei foi graças a vocês.

Aos meus irmãos, Ivandra, Jailson e Iriandra, pela força e incentivo para eu ir mais a frete, obrigado pelo apoio.

A minha namorada Débora, que durante todo esse período de estudos, mesmo longe, contribuiu muito com seu amor, carinho, apoio, incentivo e seus conselhos maravilhosos me deixando com alto estima sempre. Muito obrigado!

A minha orientadora Professora Dra. Alfredina dos Santos Araújo, obrigada por confiar em minha capacidade, você não foi só uma professora nessa fase acadêmica e sim uma amiga e companheira. Obrigado pelos ensinamentos que foram me passados.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gilcean Silva Alves, obrigado pelos ensinamentos adquiridos e ate pelos "puxões de orelhas". Agradeço pela paciência e acima de tudo pela amizade.

Ao Centro Vocacional Tecnológico (CVT), onde todas as análises foram desenvolvidas.

Aos meus amigos e companheiros de pesquisas, Fernanda, Cesar, José Nildo, Ana Flavia, katiane, Simone, Williane, Daniele. Obrigado pela ajudar no desenvolvimento deste trabalho. Ao qual agradeço toda equipe do CVT

A meus amigos de São Bento (turma sem frescura), obrigado pelo companheirismo mesmo estando longe.

A turma do "Anexo" não poderia deixar de agradecer. Obrigado por tudo, pelo apoio todas as vezes que precisei

Aos meninos que moram comigo (Castelo), Alan, Elan, Levi e Felipe. Agradeço pelo companheirismo de cada um.

A todos os professores e todos que fazem parte da UFCG-Pombal que auxiliaram na minha formação.

E a todas as pessoas que de forma direta ou indireta auxiliaram na execução deste trabalho.

RESUMO

O repolho é uma hortalica folhosa, com grande versatilidade, não somente pelo seu valor nutritivo. Além de colorir a mistura, destaca-se pelo elevado teor de antocianinas e compostos fenólicos, contribuindo para a prevenção de doenças cardiovasculares, bem como de alguns tipos de câncer. As antocianinas são largamente encontradas na natureza e responsáveis pela maioria das colorações azuis, violeta e vermelhas de flores e frutos, sendo sua principal utilização como corante natural na indústria. Diversos fatores interferem na estabilidade das antocianinas, e vários exemplos de estudos a respeito são encontrados na literatura. Portanto, é primordial definir as condições de obtenção do pigmento, de forma que o mesmo apresente o mínimo de alterações de suas características para o seu uso posterior. O presente trabalho teve como objetivo a obtenção e caracterização de um corante, antocianina, de repolho roxo (Brassicaoleracea) para aplicação em novos produtos alimentícios. No corrente estudo, o extrato foi obtido por meio de procedimento alcoólico e aquoso. As características avaliadas foram:pH; acidez total titulável; Teor de sólidos solúveis (°Brix); umidade; cinzas; proteínas; Extração e quantificação de antocianinas totais; Determinação de Fibras; Vitamina C. As características microbiológicas: Coliformes a 35°C e a 45°C; Contagem total de bactérias Aeróbias mesófilas; Salmonellasp/ 25g; Staphylococcus spp. Os resultados microbiológicos, 70% das amostras de repolho estão aptas ao consumo humano, de acordo com a legislação vigente. O resultado encontrado para antocianina no repolho roxo in natura foi de 6,58 mg/100g, para o extrato por método alcoólico foi de 4,58 mg/100g e 5,33 mg/100g para o extrato aquoso. Observou-se que a extração pelo método aquoso teve um rendimento melhor, correspondente a 50% do seu valor inicial, a extração alcoólica foi de 30% do seu volume inicial.

Palavras - chave: Antocianina, pigmentos, hortaliça

Abstract

Cabbage is avegetable crop with great versatility, not limited to its nutritional value. Besides coloring the mixture, it stands out for its high quantity of anthocyanin and phenolic compounds, which contribute to prevention of cardiovascular diseases and some types of cancer. Anthocyanins are widely found in nature and are responsible for the majority of blue, violet and redpresent in flowers and fruits. Thus, its main utilizationis in industries as a natural dye. Several factors interfere in anthocyanin stability, and various studies about it are found in literature. Therefore, it is essential to define the conditions under which the pigment is obtained to reduce to a minimum the alterations in pigment features. This study aimed to obtain and characterize an anthocyanin dye from red cabbage (Brassica oleracea) to its further application in new food products. In the present study, the cabbage extract was obtained through alcoholic and aqueous procedure. The pigment characteristics evaluated were: pH, total titratable acidity, soluble solid content (°Brix), humidity, ashes, proteins, extraction and quantification of total anthocyanins, fibre determination, vitamin C. Microbiology characteristics: coliforms at 35°C and at 45°C, total count of aerobic mesophilic bacteria, Salmonella sp/ 25g, Staphylococcus spp. The microbiological results were that 70% of the cabbage samples were fit for human consumption in accordance with the current legislation. The result found for anthocyanin in red cabbage in natura was 6.58 mg/100g. The results found for the extraction through alcoholic method and through aqueous method were 4.58 mg/100g and 5.33 mg/100g, respectively. It was observed that the extraction through aqueous procedure had a better efficiency, corresponding to 50% of the initial volume, while alcoholic procedure was 30% of the initial volume.

Key-words: anthocyanin, dye, vegetable.

Lista de figuras

Figura 1 Estrutura química das antocianinas16
Figura 2 - Fluxograma do processo de extração de pigmento do repolho roxo17
Figura 3 - Obtenção do extrato pelo método aquoso23
Figura 4 - Obtenção do extrato pelo método alcoólico24
Figura 5 - Médias dos Resultados obtidos na analise de pH25
Figura 6 - Média dos Resultados obtidos na analise de Sólido Solúvel .2826
Figura 7 - médias dos resultados obtidos para teor de acidez total titulável27
Figura 8 - Médias dos Resultados obtidos na analise de Umidade27
Figura 9 - Médias dos Resultados obtidos na analise do teor de Cinzas28
Figura 10 - Médias dos Resultados obtidos na analise de Proteína29
Figura 11 - Médias dos Resultados obtidos na analise de Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C)
Figura 12 - Antocianinas extraídas pelos dois métodos31
Figura 13 - rendimento do extrato pelo método aquoso31
Figura 14 - rendimento do extrato pelo método alcoólico31
Figura 15 - Médias dos resultados obtidas para <i>Sthaphylococcus</i> spp nas amostras de repolho roxo sanitizadas e não-sanitizadas32
Figura 16 - Médias dos resultados obtidos para a contagem total de bactérias aeróbias mesófilas nas amostras de repolho roxo sanitizadas e não-sanitizadas
Figura 17 - Médias dos resultados obtidos para bolores e leveduras nas amostras de repolho roxo sanitizadas e não-sanitizadas
de repolho roxo sanitizadas35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral	12
2.2 Objetivos específicos	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEORICA	13
3.1 Repolho	13
3.2 Repolho roxo	13
3.3 Corante	14
3.4 Antocianina	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS	17
4.1 Seleção e coleta da amostras	17
4.2 Análises Físico químicas	18
4.2.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)	18
4.2.2 Sólidos Solúveis Totais (SST) (°Brix)	18
4.2.3 Acidez Total Titulável (ATT)	18
4.2.4 Umidade	18
4.2.5 Teor de Cinzas	19
4.2.6 Proteína	19
4.2.7 Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C)	19
4.2.8 Determinação de Fibras	19
4.2.9 Extração e quantificação de antocianinas totais	21
4.3 Analise Microbiológica	21
4.3.1 Coliformes a 35°C e a 45°C	21
4.3.2 Bolores e Leveduras	22
4.3.4 Salmonella sp/ 25g	22
4.3.4 Staphylococcus spp	22
4.4 Obtenção do Extrato	23
4.4.1 Extrato aquoso	23
4.4.2 Extrato alcoólico	23
5. RESULTADOS	25
5.1 Físico químico	25

5.2 Microbiológico	32
6. CONCLUSÕES	37
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

O repolho (*Brassica oleraceae var. capitata*) é uma planta herbácea, folhosa, com grande versatilidade, não somente pelo seu valor nutritivo, sobretudo cálcio proteína e vitamina C, constituindo-se em alimento de excelente qualidade para grande parte da população (LÉDO et al.,2000), pelo seu caráter social por ser uma cultura em que se utiliza muita mão-de-obra, sendo cultivada essencialmente por pequenos agricultores (FILGUEIRA, 2000).

O repolho roxo (*Brassica oleracea*) é uma hortaliça de cabeça, formada por folhas espessas, cerosas, conchoidais e imbricadas numa sobreposição de folhas. Destaca-se como fonte de vitamina C, mas também fornece vitaminas B1, B2, E e K, além de sais minerais, sobretudo cálcio e fósforo. As variedades mais apropriadas ao processamento mínimo são as que têm alta compacidade da cabeça (cabeças mais firmes), por oferecer maior resistência ao corte e, consequentemente, resultar num produto de melhor qualidade. Estudos demonstram que o repolho é uma das principais hortaliças escolhidas quando se deseja a agregação de valor, sendo assim até mais valorizado que na sua forma *in natura* (SILVA, 2007).

A população vem reavaliando sua dieta, consciente dos benefícios que o consumo de determinadas substância podem trazer à saúde. Nesse sentido vários trabalhos científicos indicam efeitos positivos na ingestão de certos alimentos possuidores de corantes naturais a exemplo tem-se o repolho roxo, hortaliça elegida como protagonista desse estudo (DOS SANTOS, 2013).

A utilização de corantes na indústria de alimentos é de grande importância para as características sensórias do alimento, pois a cor e aparência têm papel fundamental na aceitação do produto pelos consumidores. E quando o assunto trata-se como corante natural, essa aceitação é ainda mais favorável devido tratar-se de um aditivo saudável (LOPES et al.,2000)

As antocianinas são estudadas em todo o mundo como agentes de coloração em alimentos, pois elas são as responsáveis pelos tons de vermelho e azul de muitas frutas e vegetais (MAZZA e MINIATI,1993), e conseqüentemente, provêem a cor atrativa de muitos sucos, vinhos, geléias e conservas.

A estrutura básica da antocianina C6-C3-C6 é fonte de uma infinidade de colorações produzidas pela sua combinação química com glicosídeos e/ou grupos acila e também pela sua interação com outras moléculas e/ou condições do meio (BROUILLIARD et al., 1991).

Métodos convencionais de extração de pigmentos usualmente empregam ácido hidroclorídrico diluído em metanol. Metanol contendo 0,001% HCl foi mais efetivo, porém o HCl é corrosivo e o metanol é tóxico para o ser humano; consequentemente, os pesquisadores que trabalham com alimentos preferem outros sistemas de extração (LOPEZ et al., 2000).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obter um corante, antocianina, de repolho roxo (*Brassica oleracea*) para aplicação em novos produtos alimentícios.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a qualidade microbiológica do repolho roxo
- Avaliar a qualidade físico-química do repolho roxo (*Brassica oleracea*) obtido no mercado local;
- Obter extrato através de procedimento alcoólico;
- Obter extrato através de procedimento aquoso;
- Comparar o rendimento das duas formas de extração;
- Avaliar físico-química do extrato.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

3.1 Repolho

O repolho, *Brassica oleraceae* var. *capitata*, é uma hortaliça anual e se caracteriza pela superposição das folhas (CARVALHO e IKUTA, 2003). Pertence à Família *Brassicaceae* que abrange várias espécies de elevado valor nutracêutico. É de grande importância econômica, estando entre as hortaliças mais produzidas no Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 1999; FONTANÉTTI et al., 2006). Nutricionalmente, o repolho apresenta alto valor nutritivo, vitamina C, isotiocianatos, cálcio e magnésio (CARVALHO et al., 2006).

O repolho é uma hortaliça folhosa, com grande versatilidade, não somente pelo seu valor nutritivo. Tem caráter social, pois utiliza muita mão-de-obra, sendo cultivada essencialmente por pequenos agricultores (FILGUEIRA, 2008).

Existem duas espécies de repolho, o repolho liso (*B. oleracea* L. var. *capitata* L.), de maior expressão comercial no Brasil, e o repolho crespo (*B. oleracea* L var. *sabauda Martens*). São classificados segundo a forma (achatada e pontuda) e a cor da cabeça (verde ou branca e roxa) (TIVELLI e PURQUERIO, 2005).

3.2 Repolho roxo

O repolho roxo (*Brassica oleracea*) é uma fonte rica e relativamente barata de um pigmento arroxeado. Seu extrato apresenta poder tintorial e estabilidade superiores aos outros corantes da classe das antocianinas, em virtude de sua configuração química (BRIDLE e TIMBERLAKE, 1997). Seu extrato porém, apresenta substâncias sulfuradas que são extraídas juntamente com pigmentos e que lhe conferem odor desagradável (GUIMARÃES et al., 1986). O repolho roxo possui ainda uma quantidade significativa de açúcares redutores, o que acelera sua degradação ou causa problemas em processos seguintes como a secagem por atomização.

O repolho roxo se caracteriza como uma hortaliça largamente consumida e conhecida por suas propriedades nutricionais e funcionais, sendo ricas em vitaminas, minerais, fibras, compostos antioxidantes (ROSSETO et al., 2002), fenólicos e nitrogenados, além de compostos bioativos, incluindo

tocoferóis, ácido ascórbico, carotenóides, glucosinatos e polifenóis (PODSEDEK, 2007).

O repolho roxo, além de colorir a mistura, destaca-se pelo elevado teor de antocianinas e compostos fenólicos, contribuindo para a prevenção de doenças cardiovasculares, bem como de alguns tipos de câncer (SINGH et al., 2006).

A demanda por repolhos roxos é muito menor que a de repolhos verdes, mas vem aumentando, especialmente em grandes centros. Em 2007, foram comercalizados na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo (CEAGESP) cerca de 4 mil toneladas de repolho roxo, com preço médio mensal de R\$ 0,61/kg. (FILGUEIRA, 2008).

3.3 Corante

Os corantes naturais são usados como forma de manter a coloração dos alimentos. Frequentemente os corantes dos alimentos sofrem séria degradação durante o processamento, e a restituição da cor perdida é uma maneira de manter o aspecto de frescor dos alimentos. Conhecer, quantificar e monitorar o processo de extração das antocianinas permitirá novos avanços para a obtenção de um processo rentável e viável (XAVIER, 2004).

Embora o consumo de um determinado alimento devesse depender principalmente do seu valor nutricional, a sua cor, aroma e textura são fatores que conduzem à preferência do consumidor. Dentre estes fatores, a cor é o mais importante fator de preferência, já que a qualidade que mais facilmente desperta a atenção do consumidor (BOBBIO, BOBBIO, 1995).

Os corantes são usados para restituir supostas perdas de coloração que sofreram durante o processo de produção e armazenamento do alimento, para manter a uniformidade do produto e atender as expectativas dos consumidores, além de tornar os produtos mais atrativos ao consumidor (CUNHA, 2008).

3.4 Antocianina

O interesse nas antocianinas tem aumentado significativamente devido a suas cores atrativas, solubilidade em água (o que facilita sua incorporação em sistemas aquosos) e efeitos benéficos à saúde promovidos por estas através

de diversos mecanismos de ação, incluindo a capacidade antioxidante. Seu potencial antioxidante é regulado por suas diferenças na estrutura química. Variando a posição e os tipos de grupos químicos nos anéis aromáticos das antocianinas, a capacidade de aceitar elétrons desemparelhados de moléculas de radicais também varia. Seu potencial antioxidante também é dependente do número e da posição dos grupos hidroxilas e sua conjugação, assim como da presença de elétrons doadores no anel da estrutura, devido à capacidade que o grupo aromático possui de suportar o desaparecimento de elétrons. Esta classe de compostos demonstrou também atividades anti-inflamatória, antiaterosclerótica e propriedades anticâncer em diversos estudos (COSTA, 2005; VOLP et al., 2008; TAFFARELLO, 2008).

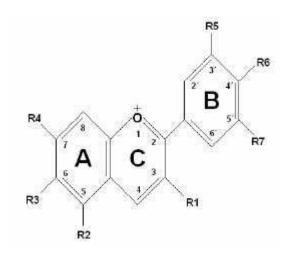
As antocianinas são largamente encontradas na natureza e responsáveis pela maioria das colorações azul, violeta e vermelho das flores e frutos, sendo sua principal utilização na indústria, como corante natural (MALACRIDA; MOTTA, 2005). Elas apresentam propriedades que ajudam a manter hábitos saudáveis de alimentação que são demonstradas pelas as atividades anticarcinogênicas, antivirais e antioxidantes (WANG et al., 2000).

Quando extraídos do meio natural, as antocianinas apresentam-se na forma de sais flavílicos, normalmente ligados a moléculas de açúcares, sendo os mais comuns a β -Dglucose, a β -D-galactose e a α -D-ramnose, e quando livres destes açúcares são conhecidos como antocianidina (SOARES et al., 2001).

Diversos fatores interferem na estabilidade das antocianinas, e vários exemplos de estudos a respeito são encontrados na literatura. Portanto, é primordial definir as condições de obtenção do pigmento, de forma que o mesmo apresente o mínimo de alterações de suas características para o seu uso posterior. Geralmente são muito estáveis sob condições ácidas, mas podem se degradar por vários mecanismos, iniciando com perda da cor, seguida da formação de coloração marrom e de produtos insolúveis. A estabilidade da cor de antocianinas e dependente da estrutura e da concentração dos pigmentos, assim como de diversos fatores tais como pH, temperatura e presença de oxigênio (LOPES, 2002).

As funções desempenhadas pelas antocianinas nas plantas são variadas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função ecológica. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como: polinização e dispersão de sementes. Devido à comprovada ação inibitória da cianidina 3-glicosídeo no crescimento larval da Heliothis viriscens, uma praga que ataca o tabaco, as antocianinas também podem ser consideradas como agentes de controle biológico. A estrutura química das antocianinas é baseada em uma estrutura policíclica de quinze carbonos, apresentada na Figura 1 (LÓPEZ et al., 2000):

Figura 1 - Estrutura química das antocianinas.



Fonte - (LÓPEZ et al., 2000).

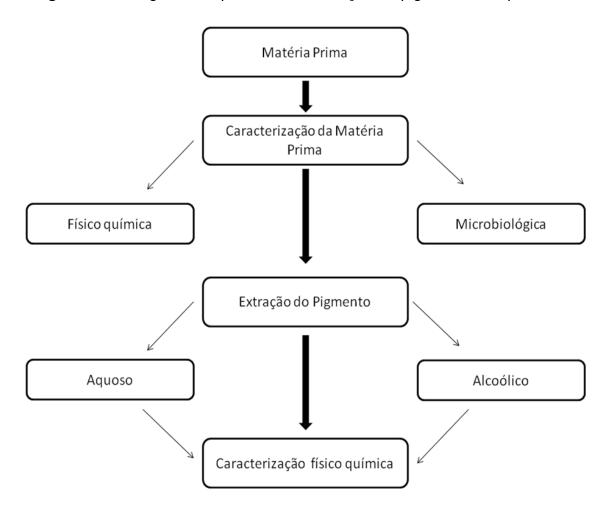
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção e coleta das amostras

As amostras do repolho roxo foram adquiridas no mercado local da cidade de Pombal – PB e embaladas individualmente em sacos plásticos, transportadas em condições ambientes para Centro Vocacional Tecnológico (CVT) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). As hortaliças foram lavadas em água corrente, em seguida, parte delas foram sanitizadas sendo imersas por aproximadamente 15 minutos em água contendo 25 ml/L (uma colher de sopa) de água sanitária, com posterior imersão em água destilada.

A figura abaixo (figura 2) mostra o fluxograma do processo de extração do pigmento do repolho roxo.

Figura 2 - Fluxograma do processo de extração de pigmento do repolho roxo



4.2 Análises físico-químicas

As analise físico-química realizada no repolho roxo e no extrato foram caracterizados pelos seguintes parâmetros: pH, sólidos solúveis totais, acidez, teor de umidade (%), teor de cinzas(%), teor de proteínas(%), determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C), teor de fibras(%), teor de Antocianina e teor de flavonóides totais, todas as analises foram realizadas em triplicatas.

4.2.1. Potencial Hidrogeniônico (pH)

Determinou-se pelo método potenciométrico, que baseia-se na concentração hidrogeniônica usando o pHmetro. Seguindo método 017/IV determinado por IAL (2008).

4.2.2. Sólidos Solúveis Totais (SST) (°Brix)

As análises foram realizadas com o auxílio de um refratômetro portátil (Reichert AR 200). A leitura foi feita de forma direta, por meio da aplicação de uma gota de suco de repolho roxo, sobre o prisma do aparelho. Os resultados foram expressos em graus Brix (°B), (IAL, 2008)

4.2.3. Acidez Total Titulável (ATT) (% de ac/100g de frutos)

Foi realizada por titulometria de neutralização, utilizando-se 50 mL de suco (5/50 mL água destilada) da amostra. Nas amostras do repolho roxo *in natura*, realizou-se o procedimento de maceração para que se tenham resultados mais preciso. No momento da leitura, o suco foi colocado em erlenmeyer de 250 mL e de duas a três gotas de fenolftaleína a 1%. Procedeu-se a titulação utilizando hidróxido de sódio 0,1 N, até o ponto de viragem, onde a solução ficou totalmente rósea. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de ácido por 100 gramas do fruto. Seguindo o método 016/IV do Instituto Adolf Lutz (2008).

4.2.4 Umidade (%)

Os teores de umidade foram determinados através do método de secagem a 105°C, em estufa ate que amostra permaneça em peso constante, de acordo com a metodologia 012/IV do Instituto Adolf Lutz (2008).

4.2.5. Teor de Cinzas (%)

Foi obtido pelo método gravimétrico que consiste na incineração do material em mufla a 550 °C, determinadas segundo o método 018/IV do Instituto Adolf Lutz (2008) e os resultados expressos em porcentagem (p/p).

4.2.6. Proteínas (%)

Os teores de proteínas foi determinados através do método Kjedahl, 036/IV descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e os resultados encontrados estão expressos em porcentagem (p/p).

4.2.7. Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C) por titulação

Pesou-se 1,0g da amostra em um erlenmeyer e colocou 49mL da solução de ácido oxálico e diluiu bem. Em seguida titulou-se com a solução de DCFI até coloração rosada durante 15 segundos, e anotou-se o volume gasto.

Os resultados serão expressos mg de ácido ascórbico/100g da amostra.

Cálculos:

mg de ácido ascórbico/100g = V x F x 100
Pa

Onde:

V = volume gasto de DCFI utilizado para titular a amostra

F = fator da solução

Pa = Peso da amostra (g)

4.2.8. Determinação de Fibras (%)

O método utilizado na determinação do teor de fibra bruta foi o da digestão ácido-base descrito pela AOAC (1997), com modificações feitas por Pontes júnior (2012). Nessa metodologia, foram realizados dois procedimentos de lavagem dos saquinhos em ácido e base, o primeiro consistiu na lavagem do saquinho sem amostra e a segunda com amostra.

No primeiro procedimento, após a confecção de saquinhos de TNT (5 cm x 5 cm) e vedados com a prensa seladora, os mesmos foram identificados e submetidos a fervura na solução ácida de 2,25 L, no determinador de fibras SL-118, por quinze minutos e, posteriormente, realizaram-se três lavagens com

água destilada fervente, sendo que, a primeira lavagem durou cinco minutos, e as outras duas, três minutos cada. Em seguida, foram fervidos em solução básica de 2,25 L, por quinze minutos, utilizando se, em seguida, o mesmo procedimento de lavagem com água destilada descrita anteriormente. Esta lavagem prévia é realizada para ambientalizar os saquinhos, impedindo algum erro posterior na quantificação. Após as lavagens, foram colocados em estufa (105°C) por dezesseis horas, e, após este período foram colocados no dessecador, com o auxílio de uma pinça, por quarenta minutos e, posteriormente, pesados e os valores dos sacos vazios anotados.

No segundo procedimento, para cada amostra, pesou-se um grama do repolho roxo, que foi adicionado aos saquinhos. Estes foram vedados, espalhando-se uniformemente a amostra dentro dos saquinhos e transferindo-os posteriormente para o suporte do determinador de fibra. O equipamento contendo 2,25 L de solução ácida, à temperatura ambiente, foi fechado. Ao atingir a temperatura de 95°C foi cronometrado o tempo de 30 minutos. Passado este tempo, escoou-se a solução ácida em recipiente apropriado, para posterior neutralização e descarte e, em seguida, lavaram-se os saquinhos com água destilada fervente por três vezes, sob agitação do aparelho, para remover o excesso de solução ácida, sendo a primeira lavagem de cinco minutos e as outras duas de três minutos. Escoou-se toda a água contida no recipiente do equipamento ao término de cada lavagem, trocando-a para a lavagem seguinte.

Adicionaram-se ao aparelho 2,25 L de solução básica e aguardou-se o aquecimento da solução (95°C), em seguida, cronometrou-se o tempo de 30 minutos. Após o término da extração, desligou-se o aparelho e escoou-se a solução básica. Em seguida realizaram-se novamente as lavagens com água destilada fervente como descrito anteriormente. Os saquinhos foram então retirados do suporte do aparelho e distribuídos em bandejas inox, forradas com papel toalha e levados à estufa (105°C) por dezesseis horas. Após este período, foram retirados os saquinhos e colocados em dessecador por um período de uma hora, para equilíbrio de temperatura e umidade, sendo em seguida pesados e os valores anotados em planilhas.

O teor de fibra bruta foi obtido por meio da diferença do peso do saquinho seco com a amostra, após a digestão ácido-base, pelo peso do saquinho seco sem a amostra, antes da digestão. O valor obtido foi multiplicado por cem para se obter o teor de fibra bruta em porcentagem.

4.2.9. Extração e quantificação de antocianinas totais (mg/100g)

A determinação de antocianinas totais foi realizada segundo o método descrito por Lees e Francis (1972), com algumas adaptações. Para esta quantificação, em béqueres envoltos em papel alumínio, as amostras (repolho roxo in natura, Extrato Alcoólico e extrato aquoso do repolho roxo) foram homogeneizadas com solução extratora a base de etanol acidificado com ácido clorídrico e descansaram por 24 hora a temperatura de refrigeração. Após esse período as amostras foram filtradas com auxílio de papel de filtro e os resíduos lavados exaustivamente com a solução extratora até a remoção completa dos pigmentos. A absorbância foi medida a 535nm, em espectrofotômetro (modelo Spectrophotometer, SP 2000 UV).

4.3 Analise Microbiológica

As amostras de repolho roxo foram submetidas à análise de qualidade higiênico sanitárias, de acordo com os parâmetros de Coliformes à 45°C (NMP/g), *Salmonella* sp/25g (presença ou ausência), *Staphylococcus* spp (UFC/g) e Bolores e Leveduras (UFC/g), conforme metodologia descrita por Silva (2010). As hortaliças foram lavadas em água corrente, em seguida, parte delas foram sanitizadas sendo imersas por aproximadamente 15 minutos em água contendo 25 ml/L (uma colher de sopa) de hipoclorito de sódio, com posterior imersão em água destilada e outra parte foram analisadas sem nenhum processo de sanitização.

4.3.1. Coliformes a 35°C e a 45°C

Homogeneizou-se 25 g de amostra de repolho roxo em bandeja orbital com circulação constante por 25 mnutos, com 225 mL de Água Peptonada 0,1 %. Para o teste presuntivo alíquotas de 1 mL de cada diluição foram inoculadas

em três tubos contendo 10 mL de Caldo Lauryl Sulfato Triptose (HIMEDIA M080), com tubos de Duhran invertidos e incubados a 35º ± 2 °C/24-48 h. A partir dos tubos com leitura positiva, foi transferida uma alçada da cultura para o teste confirmatório no Caldo Verde Brilhante Bile 2% (HIMEDIA 121), incubados a 35 ± 2 °C/48 h para o caldo EC, incubados em banho-maria a 44,5 °C/24 h para coliformes a 45 °C. Para a quantificação foi utilizada a técnica de tubos múltiplos e os resultados foram expressos em NMP/g.

4.3.2. Bolores e Leveduras

Na determinação de Bolores e leveduras, utilizando-se a técnica em profundidade (pour plater), empregando-se o meio agar batata dextrose (Prodimol biotecnologia) fundido e acidificado com ácido tártarico a 10%. Após a solidificação do ágar, as placas foram incubadas uma temperatura de 25°C durante 5 dias. Após este tempo foi realizada a leitura das placas. E os resultados expressos em UFC/g. Seguindo a metodologia sugerida por Silva (2010)

4.3.3 Salmonella sp/ 25g

Na determinação de presença de *Salmonella* sp/25g utilizou-se o método em superfície no meio de cultura Salmonella Diferential Ágar (HIMEDIA M1078) incubando-se a temperatura de 36 ± 1 °C/48 h.

4.3.4 Staphylococcus spp./g

Na determinação de *Staphylococcus* spp. utilizou-se o método em superfície no meio de cultura Ágar Baid-Parker (Prodimol biotecnologia) suplementado com solução de gema de ovo a 50% e telurito de potássio a 3,5%. As placas foram incubadas a 35°C/48 horas. A solução de gema de ovo possibilita a verificação das atividades proteolítica e lipolítica do *Staphylococcus* sp., por meio do aparecimento de um halo de transparência e um de precipitação ao redor da colônia (colônias típicas), ao mesmo tempo em que o *Staphylococcus* sp. reduz o telurito de potássio produzindo colônias negras (SILVA, 2010)

4.4 Obtenção do extrato

4.4.1 Extrato aquoso

A espécie utilizada para obtenção dos extratos de repolho roxo foi a *Brassica oleracea*, onde foram utilizados aproximadamente 50g de repolho roxo *in natura*, previamente triturado. Posteriormente, adicionou 150 mL de água destilada, aqueceu a solução a fervura até que a água reduza em 50% do volume inicial. O tempo da extração foi de aproximadamente 45 minutos, esperou-se a solução esfriar, para só então ser filtrada, sendo posteriormente armazenada em frasco escuro, em congelador doméstico (SOARES *et al.*, 2001).



Figura 3 - Obtenção do extrato pelo método aquoso.

4.4.2 Extrato alcoólico

Para a obtenção do extrato alcoólico foi utilizados 50g de repolho roxo *in natura*, previamente triturado e empregando como solvente 100 mL de etanol 99,5%; o tempo estabelecido para a extração foi de 48 horas. O béquer foi envolto por papel alumínio e mantido em temperatura ambiente, após este período filtrou-se a solução e levou o filtrado à evaporação em rota evaporador

à temperatura de 49° C, até obtenção de volume constante, o extrato foi armazenado em frasco escuro, em congelador doméstico (RAMOS et al., 2000).

Figura 4 - Obtenção do extrato pelo método alcoólico.



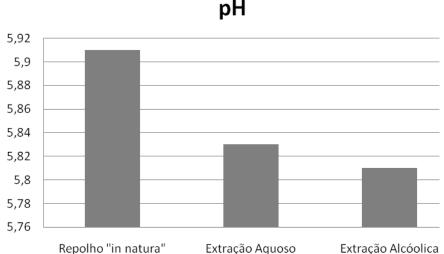
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Físico-Químico

Na análise de pH os valores encontrados para o repolho roxo *in natura* foi de 5,90 pouco superior ao dos extratos, onde obtiveram valores de 5,83 e 5,81 para extração aquosa e extração alcoólica respectivamente (Figura 5). Resultado semelhantes em Pesquisa realizada por Santos et al (2013) encontrando valor de 5,91 para repolho roxo *in natura* e para o extrato valore de 4,32. Trabalho realizado por Rinaldi et al. (2009) encontrou valores de 5,44, esses resultados podem avaliar, o repolho, como um alimento não ácido e mais favorável à presença e desenvolvimento de microrganismos patogênicos (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

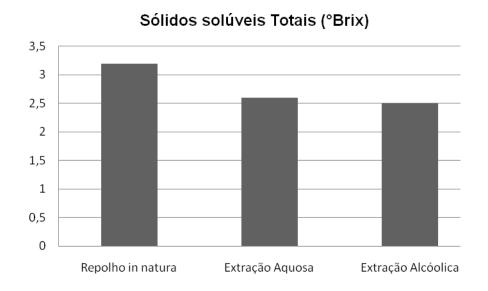
O pH é um dos principais fatores limitante no processamento e utilização das antocianinas, comprometendo a estabilidade química e cor do pigmento. Em soluções ácidas, a antocianina é vermelha, mas com o aumento do pH a intensidade de cor diminui. Em solução alcalina, a cor azul é obtida, porém é instável (MAZZA; BROUILLARD, 1987).

Figura 5 - Médias dos Resultados obtidos na analise de pH.



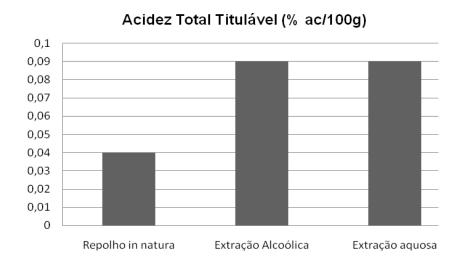
O teor de sólidos solúveis expressos em ºBrix obtiveram resultados de 3,2 para o repolho in natura, 2,6 e 2,5 para o extrato Aquoso e Extrato Alcoólico, respectivamente, expostos na Figura 6. Os valores obtidos foram inferiores aos expostos por Santos et al (2013) que obteve 8,4 para o resultado no repolho in natura e 8,1 para o extrato. Rinaldi et al. (2005) encontraram conteúdo de sólidos solúveis, com valores mais aproximados com essa pesquisa, entre 2 e 5 ºBrix em repolho minimamente processado. Segundo GOMES et al. (2002) enfatiza que os açúcares solúveis presentes nos frutos na forma combinada são responsáveis pela doçura, sabor e cor atrativas com o derivado das antocianinas. Santos et al. (2004) observam que o teor de sólidos solúveis pode variar devido a fatores climáticos, variedade, solo e adição de água durante o processamento, causando a diminuição dos teores de sólidos solúveis.

Figura 6 - Média dos Resultados obtidos na analise de Sólido Solúvel (Brixº)



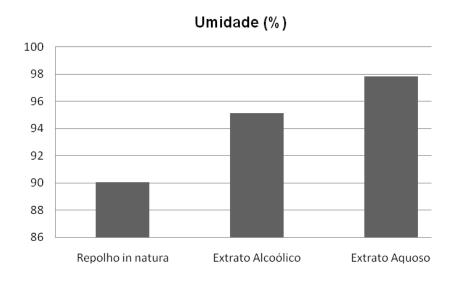
O teor de acidez para repolho roxo *in natura* foi de 0,04 %, os extratos, obtiveram valores de 0,09 % pelo método alcoólico e aquoso (figura 7). Valores semelhantes ao encontrado por Santos et al (2013), encontrou valores de 0,03% para repolho *in natura*, e 0,09% para os extratos concentrados.

Figura 7 – Médias dos resultados obtidos para teor de acidez total titulável (% ac/100g)



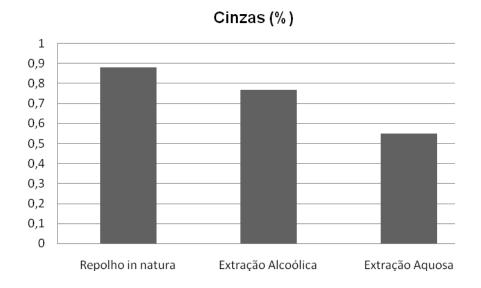
O repolho roxo *in natura* apresentou teor de umidade de 90,03 ± 0,54% enquanto os valores para os extratos Alcoólico apresentaram teores de 95,13 ± 0,09% e extração Aquoso 97,82 ± 0,02% (figura 8). Pesquisa realizada por Santos (2013) indicaram valores próximos ao constatado na pesquisa, com valores variando de 94,64% e 90,90% para o extrato e repolho *in natura*, respectivamente. O alto teor de umidade encontrado no repolho in natura e nos extratos pode causar uma rápida deterioração, já que a umidade tem grandes ligações com a propagação de microrganismos deterioradores de alimentos.

Figura 8 - Médias dos Resultados obtidos na analise de Umidade (%)



A quantidade de Cinzas no repolho *in natura* apresentou valor de 0,88 ± 0,07%, esse valor caiu para os extratos, variando de 0,77 ± 0,18 e 0,55 ± 0,22% para extração alcoólica e Aquosa, respectivamente expresso na figura 9, valores próximos ao apresentado na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), a qual analisou amostras de Repolho Roxo cru (TACO, 2011). Estudo realizado por Arbos (2009) apresentaram teores de cinzas variando de 0,93 ± 0,004 a 0,98 ± 0,004 %, para amostras de Alfaces orgânicos. O conteúdo em cinzas em uma amostra alimentícia representa o conteúdo total de minerais podendo, portanto, ser utilizado como medida geral da qualidade, e freqüentemente é utilizado como critério na identificação de alimentos. O conteúdo em cinzas se torna importante para os alimentos ricos em certos minerais, o que implica em seu valor nutricional (ZAMBIAZI, 2010).

Figura 9 - Médias dos Resultados obtidos na analise do teor de Cinzas (%)



O repolho *in natura* estudado destacou-se (figura 10) teores protéicos de $1.6 \pm 0.006\%$ semelhantes aos valores exposto na Tabela de Composição de Alimentos – (TACO, 2011) de 1.9 %, os resultados dos extratos apresentaram valores inferiores ao do repolho *in natura*, proporcionado valores de $0.36 \pm 0.03\%$ para o extrato alcoólico e $0.40 \pm 0.02\%$ no extrato aquoso.

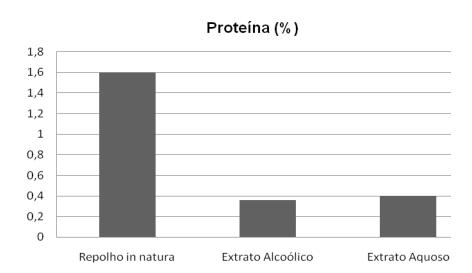
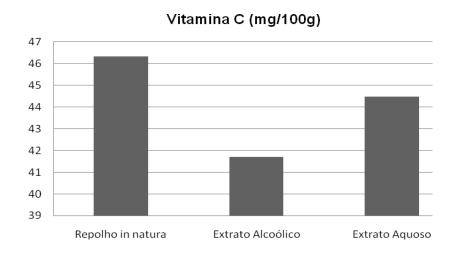


Figura 10 - Médias dos Resultados obtidos na análise de Proteína (%)

Verificou-se que teores de vitamina C na hortaliça para o repolho roxo *in natura,* foi de 46,32 (mg/100g), o extrato obtiveram valores variando de 41,69 a 44,48 mg/100g para o extrato alcoólico e aquoso, respectivamente (figura 11). Pesquisa realizadas por Ohse (2001), constatou valores de vitamina C variando de 41,89 a 19,24 (mg/100g) em alface produzido em Santa Maria/RS. Comparando-se estes teores com os relatados por Ferreira et. al. (2002) em hortaliças convencionais, como couve (60 mg/100g), brócolis (111 mg/100g) e couve-flor (72 mg/100g), constata-se que as espécies pesquisadas neste estudo apresentam-se como fonte de vitamina C.

Figura 11 - Médias dos Resultados obtidos na analise de Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C) (MG/100g)



De acordo com o teor de fibras (2,0 %) registrado na Tabela de Composição de Alimentos – (TACO, 2011), pode-se observar que as amostras de repolho roxo *in natura* analisada, apresentaram valores semelhantes ao exposto na TACO, com média de 2,4. Valor bastante significativo diante da recomendação para adultos de consumo de fibras, que é de 25 a 30 g/dia. Valores parecidos no estudo realizado por Arbos (2009) utilizando alfaces, onde apresentaram 2,28 %. Dados obtidos por Favaro-Trindade et al. (2007) encontrou resultados de 1,57% em alfaces orgânicas.

Para a quantificação de antocianina, o repolho *in natura* obteve-se uma média de 6,58 mg/100g, enquanto que os extrato obtiveram valores variando de 4,58 a 5,33 mg/100g (extração alcoólica e extração aquosa, respectivamente). Valores inferiores estudados por Machado (2013), onde encontrou teores de 7,89 (mg/100g da amostra). Pesquisa realizada por Gioppo (2011), encontrou valores muito abaixo encontrado nesse estudo, com valores de 0,12 mg/100g para repolho roxo minimamente processado.

As hortaliças podem sofrer mudanças de temperatura durante o processamento, estocagem e preparo doméstico. Segundo Mazza e Miniati (1993), o aumento da temperatura pode causar destruição logarítmica das antocianinanas. Goffey et al. (1981), todavia, afirmam que isso nem sempre acontece, pois para algumas antocianinas o aumento na temperatura pode favorecer a produção de complexos ou reações de polimerização durante a degradação, que estabilizam os pigmentos. Processos utilizando baixo tempo em alta temperatura têm sido recomendados para melhor retenção dos pigmentos.



Figura 12 – Antocianinas extraídas pelos dois métodos

O melhor rendimento foi observado para a extração aquosa, onde chegou-se a uma quantidade de 50% do volume inicial, para o extrato alcoólico a quantidade foi de 30% do seu volume inicial.

Figura 13 - rendimento do extrato pelo método aquosa



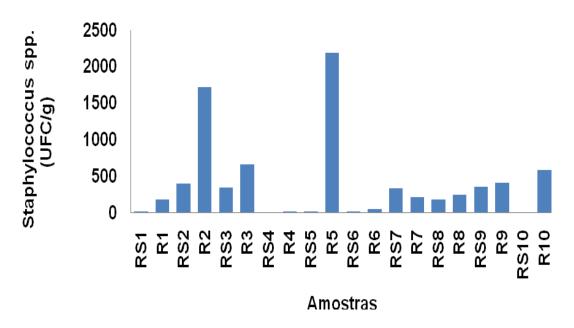
Figura 14 - rendimento do extrato pelo método alcoólico.



5.2 Resultados Microbiológicos

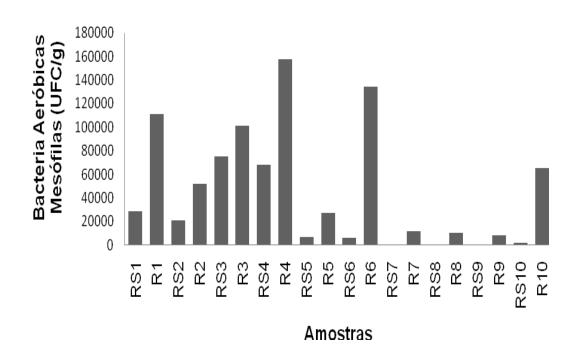
Na análise de Sthaphylococcus spp as amostras sanitizadas obtiveram valores variando da ausência em uma das amostras até 4,0 x 10² UFC/g desse microrganismo. os resultados encontrados nas amostras não sanitizadas, apresentaram uma variação crescente de 2,0 x 10¹ a 2,1 10³ UFC/g exposto na figura 15. pesquisa realizadas por Silva (2013), obteve resultados variando de 1,0 x 10³ a 1,0 x 10⁴ UFC/g em couves minimamente processados. Ferreira (2006) diz que as toxinfecções alimentares são causadas por agentes etiológicos tais como bactérias, vírus, fungos e parasitas, principalmente devido a práticas inadequadas de manipulação, matérias-primas contaminadas, falta de higiene durante preparação, além de equipamentos e estrutura operacional deficientes em alimentos que sofrem manipulação intensa no processamento. O Staphylococcus aureus é facilmente transmitido aos alimentos pelo próprio operador, no qual o microrganismo se encontra no seu nariz, boca, pele e especialmente, em ferimentos (EVAGELISTA, 2001). O Staphylococcus spp é uma bactéria que habita com frequência a nasofaringe do ser humano, a partir da qual pode facilmente contaminar as mãos do homem e penetrar no alimento, causando a intoxicação alimentar estafilocócica (MARTINS, 2010).

Figura 15- Médias dos resultados obtidas para *Sthaphylococcus* spp nas amostras de repolho roxo sanitizadas e não-sanitizadas.



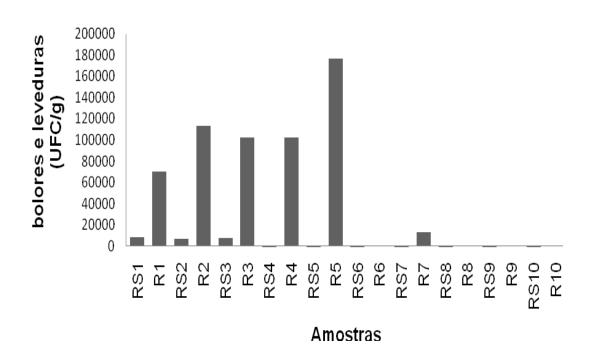
Para os resultados de bactérias aeróbias mesófilas, as amostras sanitizadas demonstraram valores variando de 6,3 x 10² UFC/g a 7,5 x 10⁴ UFC/g, amostras não sanitizadas com valores mínimos de 8,3 x 10³ UFC/g e máximos de 1,5 x 10⁵ UFC/g (figura 16). Segundo Franco e Landgraf (2008), produtos com valores totais de mesófilos >10⁶ UFC/g indicam que o produto apresenta alterações e pode estar impróprio para consumo humano, causando risco à saúde, pois muitas bactérias patogênicas são mesófilas. A presença de bactérias nos alimentos, além de favorecer a deterioração e/ou redução da vida útil desses produtos, possibilita a veiculação de patógenos, acarretando potenciais riscos à saúde do consumidor. Assim, a higiene correta dos alimentos é necessária para garantir a segurança e a sua salubridade em todos os estágios de sua elaboração até o produto final, minimizando a preocupação para a saúde pública (CORTEZ, 2003).

Figura 16 - Médias dos resultados obtidos para a contagem total de bactérias aeróbias mesófilas nas amostras de repolho roxo sanitizadas e nãosanitizadas.



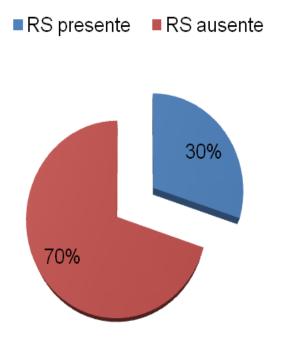
Os resultados obtidos nas contagens das amostras sanitizadas e não sanitizadas para Bolores e Leveduras apresentaram valores variando de 1,1 x 10^2 a 8,8 x 10^3 UFC/g e 5,3 x 10^2 a 1,7 x 10^5 UFC/g respectivamente representados na figura 17. Não a padrões estabelecido para Bolores e Leveduras, segundo Rosa (2002), recomendações são feitas para que produtos de origem vegetal apresente valore < 10² desse microrganismos. No presente trabalho todas as amostras de repolho roxo sanitizadas e não sanitizadas excederam o valor. Pesquisa realizada por Alcântara (2009), as amostras de alfaces também excederam valores de 10² UFC/g, apresentado valores de 5,42 x 10² para amostra de alface que não recebeu nenhum tratamento e valor de 4,25 x 10² para amostra de alface que recebeu tratamento sanitizante com hipoclorito de sódio. A presença de Bolores e Leveduras em índice elevados nos alimentos pode fornecer várias informações tais como, condições higiênicas deficientes de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria-prima com contaminação excessiva (SIQUEIRA, 1995).

Figuras 17 - Médias dos resultados obtidos para bolores e leveduras nas amostras de repolho roxo sanitizadas e não-sanitizadas.



Na pesquisa de *Salmonella sp/25g* 30% das amostras sanitizadas apresentaram contaminação, as amostras não sanitizadas apresentaram 100% de presença deste patógeno como mostrada na figura 18. Trabalho realizado por Alcântara (2009) constatou ausência desse patógeno nos tratamentos utilizando com alfaces. A salmonelose, por sua vez, é geralmente uma doença autolimitada, apresentando cólicas abdominais, vômito, febre e diarréia, e particularmente em crianças e idosos pode se tornar grave (SAMUEL, 2007).

Figura 18 - Médias dos resultados obtidos para *Salmonella* 25g nas amostras de repolho roxo sanitizadas



Para Coliformes a 45°C, 20% das amostras sanitizadas apresentaram este microrganismo com valores máximos de 0,36 x 10 NMP/g. As amostras não sanitizadas demonstraram valores máximos de 2,2 x 10 NMP/g. A sanifização dos repolhos reduziu o NMP/g de coliformes a 45°C com aplicação de sanitizantes. Essa redução foi significante. Pesquisa realizada por Alcântara (2009) encontrou valores máximos de 2,93 x 10 NMP/g para alfaces que não

passaram por tratamento de sanitização e ausência desse microrganismo para alfaces que receberam saficação com hipoclorito. Hortaliças que detecta a presença de coliformes 45°C é comum (Santana, 2006; Lotto & valarini, 2007). Esse episodio é freqüente, uma vez que, na prática cultural para a obtenção do alimento, utiliza-se esterco de origem animal, sem nenhum tratamento adequado de compostagem (Machado, et al.., 2006).

A presença de Coliformes totais em alimentos processados segundo SILVA (1997) é considerada uma indicação útil de contaminação póssanitização ou pós-processo, evidencialmente práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos.

6. CONCLUSÕES

Verificou-se que 70% das amostras sanitizadas estão aptas ao consumo humano segundo a legislação vigente oferecendo a ausência de patógenos como a *Salmonella sp*, logo as que não passaram por esse método da sanitização, nenhuma esta apta ao consumo humano, pois oferece risco a saúde do consumidor. Recomenda-se que sejam aplicadas o recurso de sanitização antes de elaborar qualquer processo de consumo com hortaliças.

Valores obtidos de 5,90 para análises de pH, afirma-se que o repolho roxo é um alimento não ácido e favorável à presença e desenvolvimento de microrganismos patogênicos.

Observou-se que o repolho roxo é fonte de vitamina C, e não teve grandes perdas de vitamina no processo de extração do pigmento. Para o teor de proteína foi observado à perda significativa da mesma, onde o repolho *in natura* apresentou valores de 1,6 mg/100g os extratos obtidos com valores máximos de 0,40 mg/100g.

Para o método de extração aquoso, esse teve um rendimento melhor que o alcoólico, observando os custos para obtenção dos produtos, no método alcoólico obteve-se valores mais elevado, por utilizar reagentes e quantidade de energia em longos períodos de tempo, no aquoso foi usado apenas água e um curto período de tempo de energia.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, E. M. CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUIMICA E MICROBIOLOGICA DE MORANGO, ALFACE E CENOURA ORGÂNICA. Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais 2009.
- ARBOS, K. A. **QUALIDADE SANITÁRIA E NUTRICIONAL DE HORTÍCOLAS ORGÂNICAS.** Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná. 162 p. Curitiba. 2009
- BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food Chem, v. 58, n. 1-2, p 103-109, 1997.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de alimentos** . São Paulo: Livraria Varela Ltda. 1995. 151 p.
- BROUILLARD, R.; WIGAND, M. C.; DANGLES, O. **CHEMINAT A., pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives.** J. Chem. Soc. Perkin Trans. v.2, p.1235-1241, 1991.
- CARVALHO, R. I. N.; IKUTA, A. R. Y. Competição entre cultivar e híbridos de repolho no município de Piraquara, PR. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 1, n. 2, p. 33-36, 2003.
- CARVALHO, P. G. B.; MACHADO, C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. N. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 24, n.4, p. 397-404, 2006.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio.** Lavras: ESAL/FAEPE, 293 p.1990.
- CORTEZ, A. L. L. Indicadores de qualidade higiênico-sanitária em lingüiça frescal comercializada no município de Jaboticabal, SP. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 42p. 2003.
- COSTA, A. E. Adsorção e Purificação de Corantes Naturais Com Sílica Amorfa. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 91p. 2005.
- CUNHA, F. G. Estudo da Extração Mecânica de Bixina das Sementes de Urucum em Leito de Jorro. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 92p. 2008.

- EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos.** 2ª Ed. São Paulo: Atheneu, 2001.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; MARTELLO, L. S.; MARCATTI, B.; MORETTI, T. S.; PETRUS, R.R.; ALMEIRDA, E.; FERRAZ, J.B.S. Efeito dos Sistemas de Cultivo Orgânico, Hidropônico e Convencional na Qualidade de Alface Lisa. **Braz. J. Food Technol.**, v.10, n.2, p.111-115, 2007.
- FERREIRA, S. M. S. Contaminação de alimentos ocasionada por manipuladores. 2006. 47 f. Monografia (Especialização em Qualidade em Alimentos)-Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- FERREIRA, W. R.; RANAL, M. A.; FILGUEIRA, F. A. R. Fertilizantes e espaçamento entre plantas na produtividade da couve-da-malásia. Horticultura Brasileira, 20(4): 635-640. 2002.
- FILGUEIRA, F. A. R. Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 402 p. Viçosa: UFV, 2000.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura:** agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. p. 279-299. Viçosa: UFV, 2008.
- FONTANÉTTI, A.; CARVALHO, G. J.; GOMES, L. A. A.; ALMEIDA, K.; MORAES, S. R. G.; TEIXEIRA, C. M. **Adubação verde na produção orgânica de alface americana e repolho.** Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 24, n. 2, p. 146-150, 2006.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed). Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press, p.181-207, 1982.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, SP: 2008.
- GIOPPO, M. **Pós-Colheita de brócolis, repolho roxo e alface sobre diferentes ambientes e reguladores**. Dissertação apresentado ao curso de pós-graduação em agronomia. Universidade Estadual de Ponta Grossa. p. 29. Ponta Grossa. 2011
- GOFFEY, D. G.; CLYDESDALE, F. M.; FRANCIS, F. J.; DAMON JR., R. A. Stability and complexation of cyaniding-3-glucoside and raspberry juice extract in the presence of selected cations. Journal of Food Protection, v.44, n.7, p.516- 523, 1981.
- GOMES, P. M. A., FIGUEIRÊDO, R. M. F., QUEIROZ, A.J. de M. Caracterização e isotermas de adsorção de umidade da polpa de acerola em pó. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.4, n.2, p.157-165, 2002.
- GUIMARÃES, I. S. S.; CARVALHO, M. P. M.; VASCONCELLOS, H. O.; LEAL, N. R., ARAUJO, M. L. **Extração de antocianinas de repolho roxo.** Rio de Janeiro: EMBRAPA. n. 6, 1986. 6p.

- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz. 4 ed. São Paulo, 2008.
- WANG, C. J.; WANG, J. M.; WEA, L. L.; CHIA, Y. C.; CHOU, F. P.; TSENG, T. H. Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tertbutyl hidroperoxideinduced hepatic toxicity in rats. Food and Chemical Toxicology, 38,411-416, 2000.
- LÉDO, F. J. S.; SOUZA, J. A.; SILVA, M. R. **Avaliação de cultivares e híbridos de repolho no Estado do Acre**. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.18, n.2, p.138-140, 2000.
- LOPES, T. J. **Estudo da extração de antocianinas em colunas recheadas**.. Dissertação (mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 140f. 2002.
- LOPES, T. J; XAVIER, M. F; QUADRI, M. G. N; QUADRI, M. B. **Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade**. R. Bras. Agrociência, Pelotas, v.13, n.3, p. 291-297, jul-set, 2007.
- LÓPEZ O. P.; JIMÉNEZ A. R.; VARGAS F. D. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability, Crit. Rev. Food Sci. Nutr, v.40, n.3, p.173-289, 2000.
- MACHADO, D. C.; MAIA, C. M.; CARVALHO, I. D.; SILVA, N. F.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; Serafini, A. B. **Microbiological quality of organic vegetables produced in soil treated with different types of manure and mineral fertilizer**. Brazilian Journal of Microbiology, v.37, n.04, p.538-544, 2006.
- MACHADO, W. M.;PEREIRA, A. D.; MARCON, M. V. **Efeito do** processamento e armazenamento em compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças. Exatas Terras. v. 19., p. 17-30, Ponta Grossa, 2013.
- MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em sucos de uva. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2005. vol. 25, 659-664.
- MARTINS, W.F., RODRIGUES, M.S.A; PEREIRA, K.D.; ALMEIDA, M.C.B.M; BEZERRA, R.R.A.; ARAUJO, A.S. **Avaliação microbiológica de queijos tipo manteiga fabricados artesanalmente no município de Pombal PB.** IV Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite, Florianópolis-SC, 2010.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. Food Chemistry, Oxford, v.25, p.207-225, 1987.
- MAZZA, G.; MINIATI, E., **Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains**. CRC Press, London, p. 362. 1993
- OHSE, S.; NETO, D. D.; MARODIN, V. S.; MANFRON, P. A.; AITA, A. TEORES DE NITRATO E DE VITAMINA C EM ALFACE PRODUZIDA EM SANTA

- MARIA/RS: UM ESTUDO PRELIMINAR. INSULA, Florianópolis, N° 30, p.63-73. 2001
- OLIVEIRA, A.P.; COSTA, J.S.; COSTA, C.C. Desempenho de seis híbridos de repolho na época chuvosa de Areia-PB. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 17, n. 2, p. 164- 166, 1999.
- PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 40, p. 1-11, 2007.
- RAMOS, L.A.; LUPETTI, K. O.; CAVALHEIRO, E. T. G.; FATIBELLO-FILHO, O. j. **Eclet. Quim.**, 2000.
- RINALDI, M. M.; BENEDETTI, B. C.; MORETTI, C. L. **Estabilidade de repolho minimamente processado sob diferentes sistemas de embalagem.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.29 no.2 Campinas 2009.
- ROSSETTO, M.; VANZANI, P.; MATTIVI, F.; LUNELLI, M.; SCARPA, M.; RIGO, A. Synergistic antioxidant of catechin and malvidin 3- glucoside on free radical-initiated peroxidation of linoleic acid in micelles. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 408, p. 239-245, 2002.
- SAMUEL C. M; VURGIA D. J; KOEHLER, K. M; MARCUS, R; DENNEN, V; DAMASKE, B; SHIFERAW, B; HADLER, J; HENAO, O. L; ÂNGULO, F. J. Consumption of risky foods among adults at high risk for severe foodborne diseases: room for improved targeted prevention messages. *Journal of Food Safety*; 27:219-232. 2007.
- SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C.C.; ALCÂNTARA, L. M.; OLIVEIRA, T. W. S. de; RODRIGUES, B da M. Qualidade física microbiológica e parasitológica de alface (lactuca sativa) de diferente sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, campinas, v. 33, n. 1, p. 129-138, jun. 1999
- SANTOS, F. A.; SALLES, J. R. J.; CHAGAS FILHO, E.; RABELO, R. N. Análise qualitativa das polpas congeladas de frutas produzidas pela SUFRUTS, MA. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 18, n. 119, p.14-22, 2004.
- SANTOS, G. R.; DIAS, S. S.; CONSTANT, P. B. L.; SANTOS, J. A. B. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO REPOLHO ROXO (Brassica oleracea). **Anais do Simpósio Internacional de Inovação Tecnológica-SIMTEC**, v. 1, n. 1, 2013.
- SILVA, A. C. Caracterização microbiológica e importância da pesquisa de estafilococos coagulase positiva em couves minimamente processadas, comercializadas no município de campo mourão. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2013.

- SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** Valéria Christina Amstalden São Paulo: Livraria Varela, p31, 1997.
- SILVA, E. O.; CARNELOSSI, M. A. G.; PUSCHMANN, R.; SOARES, N. F. F.; VANETTI, M. C. D.; MININ, V. P. R.; CAMPOS, R. S. **Processamento mínimo de repolho**. Manual de Processamento de Frutas e Hortaliças. Cap 25. pág. 465-482. Embrapa. Brasília, DF. 2007.
- SINGH, J.; UPADHYAY, A. K.; BAHADUR, A.; SINGH, B.; SINGH, K. P.; RAI, M. Antioxidant phytochemicals in cabbage (*Brassica oleraceae* L. var. capitata). Scientia Horticulturae, v. 108, p. 233-237, 2006.
- SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos.** Brasilia: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA, CCTA, , p. 159, 1995.
- SOARES, M. H. F. B.; ANTUNES, P. A..; CAVALHEIRO E. T. G., Revista Química Nova, 2001.
- TACO. **Tabela de Composição de alimentos**. Campinas: NEPA-Unicamp. 161 p. 2011.
- TAFFARELLO, D. Extratos de Arrabidaea chica (Humb. & Bonpl.) Verlot Obtidos Por Processos Biotecnológicos: Otimização da Extração a Avaliação Farmacológica. Dissertação (Mestre em Biotecnologia), Instituto Butantan/IPT, Universidade de São Paulo, São Paulo, 43p. 2008
- TIVELLI, S. W.; PURQUERIO, L. F. V. **Repolho**. 2005. Disponível em: http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Repolho/Repolho.htm>. Acesso em: 20 nov. 2013.
- VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. **Pigmentos Naturais Bioativos**. Alim. Nutr., v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.
- XAVIER, M. F. **Estudo da extração de antocianinas em colunas recheadas**.. Dissertação (mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 135f. 2004.
- ZAMBIAZI, R. C. **Análise Físico Química de Alimentos**. Pelotas: Editora Universitária/UFPEL, 202p. 2010. SAS Institute. System for Information, versão 8.0. Cary, 2007. 1 CD Rw.