

Fotos: Leonora Mattos



Protocolo de avaliação da qualidade física e química de cebola

Lidiane Batista Muniz¹
Leonora Mansur Mattos²
Celso Luiz Moretti³

1. Introdução

Como as demais hortaliças, a cebola é um produto altamente perecível, o que determina importantes perdas pós-colheita se não forem observadas as devidas técnicas de produção, como ponto de colheita, adequada cura, eficiente sistema de armazenamento, cuidados no manuseio e no transporte e outros (MORETTI; DURIGAN, 2002). Todos estes fatores integrados são importantes e interferem na conservação e na qualidade final do produto, haja vista que os bulbos são estruturas vivas e mesmo depois de colhidos, continuam os seus processos fisiológicos (BOEING, 2002; BRECHT et al., 2007).

A qualidade pós-colheita relaciona-se ao conjunto de atributos ou propriedades que tornam os produtos agrícolas apreciados como alimento. A manutenção dos atributos de qualidade é afetada pelo mercado de destino, como armazenamento, consumo *in natura* ou processamento. Entre as características físicas e químicas utilizadas para avaliar a qualidade pós-colheita de hortaliças, destacam-se perda de

massa fresca, firmeza, sólidos solúveis, acidez titulável, cor, pungência, pH, teor de fitoquímicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005) e ação antioxidante.

Neste protocolo, são relatadas as informações necessárias para a avaliação da qualidade química e física em cebola, baseadas em adaptações e modificações realizadas no Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Hortaliças.

2. Avaliação da qualidade física

2.1 Perda de massa fresca

A perda de massa fresca (%) é mensurada pela relação entre a diferença do peso inicial e o final, dividido pelo peso inicial e multiplicado por 100. O peso inicial utilizado refere-se sempre à última medição. Para efetuar a pesagem usar balança eletrônica e utilizar a média das bandejas, contendo aproximadamente 10 bulbos. A determinação da perda de massa fresca baseia-se na metodologia descrita por Finger et al. (1999).

¹ Doutoranda em Nutrição Humana, Universidade de Brasília, Brasília, DF. – lmuniz@unb.br

² Pesquisadora, Dra. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. – leonora@cnph.embrapa.br

³ Pesquisador, Dr. Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. – moretti@cnph.embrapa.br

2.2 Firmeza

Determinada com auxílio de um penetrômetro de bancada, com ponta de prova de 5 mm de diâmetro. Devem-se realizar três medidas na região equatorial dos três bulbos selecionados aleatoriamente, obtendo-se a pressão requerida à penetração em kgf. Converter as leituras em unidade de Newton, multiplicando cada medida por 9,82 N (COELHO, 1994).

2.3 Coloração pelo sistema $L^*a^*b^*$

As variações de cor externa nos bulbos são realizadas por colorimetria $L^*a^*b^*$, por meio da leitura direta no colorímetro de acordo com Minolta Corporation (1994). Neste sistema de representação de cor, os valores de $L^*a^*b^*$ descrevem a uniformidade da cor no espaço tridimensional, em que o valor L^* corresponde a quão claro ou quão escuro é o produto analisado (0: preto; 100: branco), os valores de a^* correspondem à escala do verde ao vermelho (a^* negativo, verde; a^* positivo, vermelho) e os valores de b^* correspondem à escala do azul ao amarelo (b^* negativo, azul; b^* positivo, amarelo). Realizar três medidas na região equatorial da superfície do material vegetal intacto.

3. Avaliação da qualidade química

3.1 Preparo da amostra

Para as análises abaixo, obter extrato por meio de trituração e homogeneização em mix dos bulbos das cebolas durante 1 minuto (100 g de cebola).

3.2 Acidez total titulável

A determinação da acidez titulável total é realizada por método de volumetria 942.15 da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2005). Pesar 10 g da matéria fresca em 100 mL de água destilada num liquidificador durante 3 minutos. Proceder a titulação com NaOH 0,1 mol.L⁻¹ até pH 8,2 em titulador, onde considera-se que todo o ácido pirúvico, ácido orgânico predominante em cebolas, tenha sido titulado. A acidez da solução é expressa em miliequivalentes de ácido pirúvico por kg de matéria fresca.

3.3 Sólidos solúveis totais

A determinação dos sólidos solúveis totais é realizada por refratometria segundo o método

983.17 da AOAC (2005), a partir do exsudato das amostras sobre a superfície do prisma, utilizando refratômetro digital de mesa, e os resultados expressos em °Brix. Antes da leitura da amostra, calibrar o refratômetro com água destilada.

3.4 Pungência

Este método determina, por espectrofotometria, a quantidade total de 2,4-dinitrofenilhidrazina que reage com grupos carbonilas e avalia o desenvolvimento enzimático do ácido pirúvico como medida do grau de pungência em cebolas. A extração do suco é realizada por meio da trituração dos bulbos de cebolas durante 1 minuto, na proporção de 1:1 (1 g de cebola: 1 mL de água destilada). Filtrar o triturado em papel de filtro quantitativo (diâmetro 9 cm e porosidade 25 μ m) e deixar em repouso por 10 minutos. Em tubos de ensaio, adicionar 0,5 mL do filtrado (extrato), 1,5 mL de ácido tricloroacético 5%, agitar posteriormente em vortex e deixar em repouso por 1 hora. Após este período, adicionar 18,0 mL de água destilada e agitar novamente em vortex. Para a determinação do ácido pirúvico, transferir 1 mL da solução anterior (suco) para tubos de ensaio, adicionar 1 mL da solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), 1 mL de água destilada e agitar em vortex. Colocar os tubos de ensaio em banho-maria a 37 °C em 10 minutos. Após este período, resfriar em água gelada imediatamente após a retirada do banho-maria. Adicionar-se 5 mL de NaOH 0,6 mol.L⁻¹, agitar em vortex e deixar por 5 minutos para desenvolver a cor amarela. A leitura das absorvâncias é realizada em espectrofotômetro a 420 nm, utilizando o piruvato de sódio como padrão. Calcular a pungência pela elaboração da curva padrão do piruvato de sódio em 6 concentrações diferentes (0 a 50 μ mol.L⁻¹). A determinação da pungência é realizada usando reagente 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) pelo método descrito por Schwimmer e Weston (1961), modificado por Anthon e Barrett (2003).

3.5 Preparo do extrato etanólico

Pesar 3 gramas de amostra e adicionar 20 mL de etanol 70%, em seguida, agitar a amostra por 1 hora em um *shaker* e ultrassonificar por 20 minutos. Após homogeneização, filtrar utilizando papel filtro quantitativo. Armazenar o sobrenadante

em balão volumétrico de 50 mL. Submeter o resíduo retido no filtro a outra extração e transferir o sobrenadante para o balão que contém o sobrenadante da primeira extração. Utilizar 10 mL de etanol a 70% para lavagem final do resíduo que deve ser então descartado. Completar o balão para o volume de 50 mL com etanol a 70%. Armazenar os extratos em frascos de plástico com tampa, em bandeja coberta com papel alumínio em freezer à -4 °C.

O extrato etanólico é utilizado para determinar o teor de fenólicos totais, quercetina e atividade antioxidante.



Figura 1. Esquema da extração das amostras de cebola, segundo Nuutila et al. (2003), modificado por Muniz, 2007.

3.6 Fenólicos totais

A obtenção do teor de compostos fenólicos presentes nos bulbos de cebola é realizada pelo método desenvolvido por Singleton e Rossi (1965), modificado por Nuutila et al. (2003), empregando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Este método colorimétrico baseia-se na redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina e é o mais utilizado para a determinação de compostos fenólicos totais em alimentos. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos é medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção visível no comprimento de onda de 735 nm.

Adicionar em tubos de ensaio de plástico, 200 μ L do extrato, 600 μ L de etanol 70%, 400 μ L de Folin-Ciocalteu e 2000 μ L da solução de carbonato de sódio (20% m/v). A mistura deve ser homogeneizada em agitador de tubos, sendo adicionados mais

800 μ L da solução de carbonato de sódio (20% m/v). Posteriormente, as amostras devem ser centrifugadas em uma centrífuga por 3 minutos a 14000 rpm e mantidas em repouso por 20 minutos em temperatura ambiente. Realizar a leitura da absorvância em comprimento de onda de 735 nm, utilizando-se o espectrofotômetro UV-visível. Utilizar o ácido gálico como padrão. O cálculo do teor de fenólicos é realizado pela elaboração da curva padrão do ácido gálico em 7 concentrações diferentes, entre 0,100 e 0,600 μ g.mL⁻¹.

3.7 Quercetina

A determinação da quercetina é realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo procedimento descrito por Lombard et al. (2002), modificado por Muniz et al. (2007). Utilizar cromatógrafo, com coluna C18 (CLC-ODS) em fase reversa de 150 mm x 3,9 mm e com pré-coluna C18, injetor automático de 50 μ L, detector de UV-VIS no comprimento de onda de 362 nm, com arranjo de fotodiodo e temperatura de 40 °C. A fase móvel é constituída dos seguintes eluentes: 98% H₂O : 1,9% THF : 0,1% TFA (solução A) e 100% acetonitrila (solução B) sob o fluxo de 1 mL.min⁻¹. Injetar 50 μ L da amostra, realizar duas injeções separadas para cada extrato da amostra. A eluição é realizada por um gradiente, utilizando o seguinte programa: (1) 17% da solução B, por 5 min; (2) gradiente até 90% da solução B, por 20 min; (3) gradiente até 95% da solução B, por 1 min; (4) 95% da solução B, por 2 min; (5) gradiente até 17% da solução B, por 2 min; e (6) 17% da solução B, por 20 min para equilibrar a coluna, totalizando um programa de 50 min.

Como padrão a quercetina aglicona (1 μ g. μ L⁻¹) é utilizada, injetar 10 μ g. μ L⁻¹ com o tempo de retenção de aproximadamente de 15 minutos. O cálculo do teor de quercetina é realizado por meio da elaboração da curva padrão da quercetina aglicona em 6 concentrações diferentes, no intervalo de 10 a 100 μ g. μ L⁻¹.

Os resultados obtidos são expressos em miligramas de quercetina por kg de cebola fresca (mg.kg⁻¹).

3.8 Atividade Antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante pelo sistema b-caroteno/ácido linoléico é realizada por meio de ensaio espectrofotométrico baseado na descoloração

(ou oxidação) do *b*-caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa de um ácido graxo (por exemplo: ácido linoléico), segundo procedimento descrito por Andarwulan et al. (1999) e Ismail et al. (2004). Para o preparo da emulsão utilizar *b*-caroteno diluído em clorofórmio (20 mg.mL⁻¹), adicionar 0,02 mL de ácido linoléico e 0,2 mL de Tween 20. Após a evaporação do clorofórmio a 45 °C por 10 minutos em evaporador rotatório, adicionar 100 mL de água destilada a emulsão e agitar por 1 hora a temperatura ambiente em *shaker*. A mistura reativa, assim preparada, deve estar límpida com absorvância entre 0,6 e 0,7 a 470 nm. No tubo de ensaio, adicionar 5 mL desta solução a 0,2 mL dos extratos (1mg.mL⁻¹ de *b*-caroteno). Após ser homogeneizada, a leitura é realizada em espectrofotômetro a 470 nm, sendo esta a leitura do tempo zero (tempo inicial). Colocar os tubos em banho-maria (45 °C) e realizar a próxima leitura após 30 minutos. Utilizar o butil hidroxitolueno (BHT) como padrão, substância de uso tradicional em alimentos e medicamentos como agente antioxidante, preparado em metanol p.a. (0,1 mg.mL⁻¹ de BHT).

Todas as soluções e emulsões devem ser previamente preparadas. O percentual da atividade antioxidante é mensurado para designar o descoramento do *b*-caroteno, por meio da seguinte equação matemática:

$$\% \text{ AA} = 1 - \left(\frac{(\text{Abs amostra inicial} - \text{Abs amostra final})}{(\text{Abs controle inicial} - \text{Abs controle final})} \right) \times 100$$

4. Referências

- ANDARWULAN, N.; FARDIAZ, D.; WATTIMENA, G. A.;
- SHETTY, K. Antioxidant activity associated with lipid and phenolic mobilization during seed germination of pangium edule Reinw. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 8, p. 3158-3163, 1999.
- ANTHON, G. E.; BARRETT, D. M. Modified for the determination of pyruvic acid with DNPH in the assessment of onion pungency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 83, p. 1210-1213, 2003.
- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18th ed. Gaithersburg, 2005. 1298 p.
- BOEING, G. Fatores que afetam a qualidade da cebola na agricultura familiar catarinense. Florianópolis: **Instituto CEPA/SC**, , 2002.
- BRECHT, J. K; SALTVEIT, M. E.; TALCOTT, S. T.; MORETTI, C. L. Alterações metabólicas. In: MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças: Sebrae, 2007. v. 1, cap. 2, p. 41-99.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005.
- COELHO, A. H. R. Qualidade pós-colheita de pêssegos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 180, p. 31-39, 1994.
- FINGER, F. L.; ENDRES, L.; MOSQUIM, P. R.; PUIATTI, M. Physiological changes during postharvest senescence of broccoli. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 9, p. 1565-1569, 1999.
- ISMAIL, A.; MARJAN, Z. M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, London, v. 87, p. 581-586, 2004.
- LOMBARD, K. A.; E. GEOFFRIAUX; E. PEFFLEY. Flavonoid quantification in onion (*Allium cepa* L.) by spectrophotometric and HPLC analysis. **HortScience**, Alexandria, v. 37, n. 4, p. 682-685, 2002.
- MINOLTA CORPORATION. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Ramsey: Minolta Corporation Instrument Systems Division, 1994. 49 p.
- MORETTI, C. L.; DURIGAN, J. F. Processamento de cebola. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 218, p. 99-104, 2002.
- MUNIZ, L. B. **Caracterização química, física e de compostos funcionais em cebolas frescas e minimamente processadas**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, DF.

NUUTILA, A. M.; PUUPPONEN-PIMIA, R.; AARNI, M.; OKSMAN-CALDENTY, K. M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, London, v. 81, p. 485-93, 2003.

SCHWIMMER, S.; WESTON, W. J. Enzymatic development of pyruvic acid in onion as a measure of pungency. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 9, n. 4, p. 301-304, 1961.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 20, p. 144-58, 1965.

Comunicado Técnico, 83

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na Embrapa Hortaliças
Rodovia BR-060, trecho Brasília-Anápolis, km 9
C. Postal 218, CEP 70.351.970 – Brasília-DF
Fone: (61) 3385.9000
Fax: (61) 3556.5744
E-mail: sac@cnph.embrapa.br
1ª edição
1ª impressão (2009): 1.000 exemplares
2ª impressão (2012): 2.000 exemplares

Comitê de Publicações

Presidente: Warley Marcos Nascimento
Editor Técnico: Fábio Akyoshi Suinaga
Supervisor Editorial: George James
Secretária: Gislaine Costa Neves
Membros: Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho,
Ítalo Morais Rocha Guedes,
Jadir Borges Pinheiro,
José Lindorico de Mendonça,
Mariane Carvalho Vidal,
Neide Botrel,
Rita de Fátima Alves Luengo

Expediente

Normalização bibliográfica: Antonia Veras
Editoração eletrônica: André L. Garcia