

Estudo das condições de extração de compostos fenólicos de cebola (*Allium cepa* L.)

Study on the extracting conditions of phenolic compounds from onion (*Allium cepa* L.)

RIALA6/1208

Michele Moraes de SOUZA*, Vânia Machado REcart, Meritane da ROCHA, Eliane Pereira CIPOLATTI, Eliana BADIALE-FURLONG

*Endereço para correspondência: Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Análise e Bioquímica de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rua: Engenheiro Alfredo Huch, 475, caixa postal 474, CEP 96201900, Rio Grande, RS, Brasil; e-mail: michele.moraesdesouza@gmail.com

Laboratório de Análise e Bioquímica de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil

Recebido: 24.09.2008 – Aceito para publicação: 02.07.2009

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estabelecer as melhores condições para efetuar extração de compostos fenólicos totais de diferentes classes comerciais de cebola (*Allium cepa* L.). Por meio de Planejamento Experimental Fatorial foram determinadas as variáveis que influenciam significativamente nas etapas de extração. As variáveis estudadas foram: natureza do solvente, procedimento de agitação, tempo de extração e tempo de agitação com e sem interrupções. A melhor combinação resultou em um modelo preditivo, empregando-se metanol como solvente, agitação de 120 minutos a 200 rpm. O maior conteúdo fenólico em diferentes classes de cebola foi 2275 µg/g, 88% de recuperação e o limite de quantificação foi de 31 µg fenóis/g.

Palavras-chave. cebola, compostos fenólicos, planejamento experimental.

ABSTRACT

The present study was carried out to establish the best conditions for performing the total phenolic compounds extraction from diverse kinds of commercialized onion (*Allium cepa* L.). By means of the factorial experimental design the variables that significantly influence the extraction stages were determined. The following variables were analyzed: type of solvent, shaking process, time of extraction, and time with and without shaking interruptions. The best combining proceeding resulted in a predictive model, by using methanol as solvent, shaking for 120 minutes, and at 200 rpm. The highest phenolic content in different kinds of onion was 2275 µg/g, the recovery was 88%, and the quantification limit of 31 µg/g.

Key words. onion, phenolic compounds, experimental design.

INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos, nas formas de ácidos fenólicos, derivados de ácido hidroxicinâmico e flavonoides, vêm se destacando entre os que podem prevenir danos à saúde, mesmo estando presentes em quantidades traços nos alimentos^{1,2}. As substâncias fenólicas podem aparecer livres ou na forma de glicosídeos, e a posição do açúcar na estrutura fenólica influi na solubilidade e em outras propriedades físico-químicas. Estas diferenças podem ser usadas para separá-los, quantificá-los e desenvolver estudos sobre suas atividades fisiológicas^{1,3,4}.

A determinação de compostos fenólicos totais em tecidos vegetais é a etapa inicial de qualquer investigação de funcionalidade, avaliação biológica e estímulo ao consumo, visando a prevenção de doenças crônico-degenerativas⁵. Para extração de compostos fenólicos em diversas estruturas vegetais vêm sendo mencionados sistemas aquosos, aceto etílicos e alcóolicos, sob diferentes condições de interações com as matrizes^{6,7,8}. A quantificação dos compostos fenólicos totais em diferentes extratos é feita empregando o reagente de Folin-Ciocalteu, uma mistura de ácidos fosfotúngstico e molibidico, nos quais o molibdênio e o tungstênio no estado de oxidação 6⁺, e em presença de redutores, no caso fenóis, passam ao estado de oxidação variando entre 5 e 6 (forma azul) permitindo a quantificação de substâncias redutoras⁸.

Apesar da abundante literatura sobre conteúdo fenólico em alimentos^{9,10,11,12} poucos são os trabalhos que descrevem adaptações do procedimento para extração em matrizes específicas e/ou condições críticas de preparo de amostra para a quantificação. Cabe ressaltar que o processo de extração para distintas matrizes e analitos é fundamental para a estimativa mais exata de compostos fenólicos para diferentes fins.

A otimização de metodologia de extração de um analito em especial é fundamental, visto que pequenos detalhes podem resultar em efeitos que comprometem a confiabilidade dos resultados. Para atingir esta meta com o mínimo de experimentos, planejamentos fatoriais completos são promissores e permitem otimizar metodologias considerando variáveis críticas para alguns tipos de amostras avaliando seus efeitos e possíveis interações de fatores nas respostas desejadas que vêm sendo largamente utilizados também para otimização de metodologia analítica^{13,14,15}.

A cultura popular atribui efeitos benéficos a alguns alimentos ou bebidas que tem norteado estudos

sistematizados da funcionalidade, o que, além de conferir caráter científico ao conhecimento, propicia a seguridade na alegação de funcionalidade. Entre estes está a cebola (*Allium cepa L.*), empregada pelo seu papel de conferir características organolépticas a alimentos, além do seu poder preventivo e curativo de diversas doenças crônico-degenerativas^{2,4}. Apesar do conhecimento milenar dos benefícios deste vegetal e dos diversos estudos sobre seus efeitos bioativos, algumas regiões produtoras tem dificuldade em comercializar suas safras em condições satisfatórias para consumo “in natura” ou em formulações industriais, resultando em descarte de material e desestímulo aos produtores¹⁶.

Esta situação é bem evidente na região sul do Rio Grande do Sul, onde pode ser observada a inconsistência entre a importância socioeconômica do vegetal e o pouco estímulo a sua produção sustentável. Na Universidade Federal do Rio Grande, alguns grupos de pesquisa vêm enfatizando as cebolas da região visando contribuir com o melhor aproveitamento deste recurso agropecuário local. Conhecer o potencial funcional é um aspecto importante para preservação e o uso adequado da cebola. Neste trabalho o objetivo foi empregar a técnica de planejamento experimental para otimização da extração para posterior quantificação de compostos fenólicos totais em cebolas produzidas na região sul do RS, e desta forma subsidiar estudos de características físico-químicas e funcionais deste vegetal, bem como estabelecimento de processos tecnológicos para sua valoração.

Para tal foram avaliadas diferentes variáveis na etapa de extração e seus reflexos na performance analítica e aplicabilidade às diferentes classes comerciais de cebola.

MATERIAL E MÉTODOS

■ Procedimentos experimentais gerais

Todos os solventes e reagentes utilizados durante os testes foram analiticamente puros. O reagente Folin-Ciocalteu foi adquirido da Polipur (Pró-análise Química e Diagnóstico Ltda) e a quercetina da Sigma Chemical Company (EUA). As medidas de absorção foram realizadas em espectrofotômetro modelo VARIAN CARY/100 UV-VISIBLE.

■ Amostras

As cebolas foram coletadas e classificadas pelos técnicos da EMATER no município de São José do Norte, no Rio Grande do Sul, em março de 2007. A classificação observou

o Regulamento Técnico de Qualidade da Cebola (1995) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que tem por critério o diâmetro do bulbo das cebolas.

■ Planejamento para estudo das condições de extração de compostos fenólicos (CF)

A partir de condições estudadas ^{7,9,17,18,19,20,21}, foram avaliados os efeitos das variáveis: solvente (metanol e acetato de etila), intervalo de extração (120, 150 e 180 minutos), rotação (100, 150 e 200rpm) e extração com e sem interrupções na etapa de agitação (0, 15 e 30 minutos), através de planejamento fatorial 2⁴, ou seja, quatro fatores testados em dois níveis de variação, com ponto central em tréplica para cada solvente testado, tendo-se como resposta o conteúdo de fenóis totais. Na matriz de planejamento experimental, os valores das variáveis são representados na forma codificada, sendo os fatores e os respectivos níveis apresentados na Tabela 1. A matriz do planejamento experimental foi montada conforme a Tabela 2.

Identificado o solvente que possibilitou a extração dos maiores teores de compostos fenólicos (conforme os resultados estatísticos apresentados na Tabela 3), foram estudados os efeitos do tempo de extração, rotação e tempo com e sem interrupções de agitação, utilizando planejamento fatorial completo 2³, com três variáveis em dois níveis (-1 e +1) e 3 pontos centrais (0) resultando em 11 experimentos, mostrados na Tabela 4.

Para análise estatística dos dados foi utilizado o programa Statistica 6.0, considerando o conteúdo de fenóis totais (µg de fenóis/g de cebola) como resposta das variáveis em estudo, utilizando um intervalo de confiança de 95%.

■ Determinação de compostos fenólicos nos extratos submetidos a diferentes condições

As cebolas foram secas em estufa com circulação de ar da marca QUIMIS a 60°C, até atingirem valores de umidade de 13%. Foram pesadas 10 gramas de cebola seca e adicionados 50 mL de solvente e agitados em temperatura ambiente em mesa agitadora orbital TE - 141 da marca TECNAL. Os extratos foram filtrados e clarificados com 10 mL de hidróxido de bário 0,1M e 10 mL de sulfato de zinco 5%, as soluções foram filtradas e transferidas quantitativamente para um balão volumétrico de 100mL, sendo o volume final completado com o solvente utilizado na extração.

A determinação quantitativa dos compostos fenólicos nos extratos da cebola foi realizada por espectrofotometria de UV/VIS utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, e o procedimento consistiu em tomar alíquotas de 500µL de cada extrato, agitar com 500µL de água destilada e 4,5mL de Na₂CO₃ 4% por 1 min, e colocar em banho-maria a 40°C por 15 min. As misturas foram agitadas por 30 segundos em banho ultra-som com 500µL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído 1:2 com água destilada. Após 10 min, foi medida a absorbância das soluções em comprimento de onda de 660nm. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva analítica construída com uma solução padrão de quercetina contendo 100 µg/mL a partir da qual foram preparadas diluições variando entre 2 e 16 µg/mL. Os resultados dos conteúdos fenólicos das amostras foram expressos como µg de CF totais/ g de cebola.

Como indicadores de performance do método foram determinados o limite de quantificação e a recuperação de quercetina nas condições otimizadas de

Tabela 1. Variáveis e níveis utilizados no planejamento experimental completo (24).

Fatores	-1	Níveis Ponto central	+1
Solvente	Met/acet etila	Met/acet etila	Met/acet etila
Intervalo de extração (minutos)	120	150	180
Rotação (rpm)	100	150	200
Interrupções na etapa de agitação (minutos)	0	15	30

extração. A recuperação foi testada em amostras de cebola seca previamente adicionadas de soluções metanólicas de quercetina em níveis 1,0; 1,2 e 1,5 mg/ g de cebola.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de cebola foram secas para concentrar os sólidos e facilitar o processo de extração mantendo a proporção de massa seca/solvente, e a secagem à temperatura de 60°C em camada fina que minimizou o escurecimento dos tecidos por escurecimento enzimático ou caramelização²¹.

Os trabalhos que determinam fenóis em raízes, tubérculos, cereais, porções distintas de plantas medicinais e frutos, mencionam conteúdos fenólicos totais que variam entre 40 µg CF/ g de amostra no arroz a 5500 µg CF/ g de amostra nas cascas de limão, porém para

cebolas estes valores não estão disponíveis. As referências são unânimes em informar que o principal componente fenólico das diferentes espécies de cebola é a quercetina que foi adotada como padrão para os compostos fenólicos totais em cebola^{6,7,8,9}.

As variáveis testadas foram aquelas que são as mais citadas nos relatos da literatura, para determinação dos teores de fenóis totais ou para posterior separação das diferentes famílias deles em matrizes vegetais. Na primeira etapa do estudo, o efeito das variáveis solvente de extração, tempo, rotação e tempo com e sem interrupções de agitação tem seus resultados apresentados na Tabela 2, na qual os conteúdos de compostos fenólicos totais estão expressos em µg CF/ g de cebola.

A análise estatística mostrou que o tipo de solvente utilizado na extração dos fenóis influenciou significativamente nos níveis determinados ($p = 0,015$),

Tabela 2. Conteúdo de compostos fenólicos no planejamento fatorial 24 e 6 pontos centrais.

Ensaios	Solvente	Intervalo descanso (min)	Rotação (rpm)	Tempo (min)	Fenóis (µg CF/g cebola)
1	Metanol	0(-1)	100(-1)	120(-1)	1556,6
2	Metanol	30(+1)	100(-1)	120(-1)	1767,6
3	Metanol	0(-1)	200(+1)	120(-1)	2363,6
4	Metanol	30(+1)	200(+1)	120(-1)	2372,4
5	Metanol	0(-1)	100(-1)	180(+1)	2263,2
6	Metanol	30(+1)	100(-1)	180(+1)	2131,4
7	Metanol	0(-1)	200(+1)	180(+1)	2119,6
8	Metanol	30(+1)	200(+1)	180(+1)	2238,5
9	Acet etl	0(-1)	100(-1)	120(-1)	97,1
10	Acet etl	30(+1)	100(-1)	120(-1)	63,1
11	Acet etl	0(-1)	200(+1)	120(-1)	95,1
12	Acet etl	30(+1)	200(+1)	120(-1)	85,3
13	Acet etl	0(-1)	100(-1)	180(+1)	88,9
14	Acet etl	30(+1)	100(-1)	180(+1)	82,4
15	Acet etl	0(-1)	200(+1)	180(+1)	45,9
16	Acet etl	30(+1)	200(+1)	180(+1)	49,3
17	Metanol	15(0)	150(0)	150(0)	2160,9
18	Metanol	15(0)	150(0)	150(0)	2101,5
19	Metanol	15(0)	150(0)	150(0)	2134,3
20	Acet etl	15(0)	150(0)	150(0)	81,6
21	Acet etl	15(0)	150(0)	150(0)	80,4
22	Acet etl	15(0)	150(0)	150(0)	81,8

CF= compostos fenólicos

conforme mostra a Tabela 3. O solvente que propiciou a extração de maiores teores de fenóis foi o metanol, o que é promissor considerando-se que os flavonóides podem estar neste conjunto em função da sua solubilidade. Nos extratos obtidos com acetato de etila, os valores detectados estavam próximos do limite de linearidade, o que sugeria a ocorrência de baixas concentrações de fenóis polimerizados e a necessidade de evaporar o solvente antes da quantificação dos fenóis para cumprimento da performance analítica.

As variáveis tempo de extração, rotação e tempo com e sem interrupções de agitação, foram estudadas no planejamento completo 2^3 com três pontos centrais para obtenção do ponto ótimo de extração dos compostos fenólicos. Os resultados estão na Tabela 4. O comportamento verificado permitiu construir modelo preditivo dentro da faixa ótima para extração dos fenóis em função destas variáveis.

A Tabela 5 apresenta os resultados da análise estatística dos efeitos estudados no planejamento 2^3 , que

Tabela 3. Efeitos e coeficientes para os diferentes solventes estudados.

	Efeito	Desvio padrão	Significância (p)
Média/interação	1093,66	239,5349	0,006025
(1)Solvente (L)	-2025,73	561,7592	0,015445
(2)Intervalo (L)	20,00	561,7592	0,972977
(3)Rotação (L)	164,93	561,7592	0,780870
(4)Tempo(L)	77,30	561,7592	0,895923
1L com 2L	-31,73	561,7592	0,957151
1L com 3L	-178,90	561,7592	0,763006
1Lcom 4L	-95,82	561,7592	0,871242
2L com 3L	10,32	561,7592	0,986047
2L com 4L	-24,00	561,7592	0,967576
3L com 4L	-193,07	561,7592	0,745055

p = nível de significância

Tabela 4. Conteúdo de compostos fenólicos para o planejamento fatorial 2^3 e 3 pontos centrais.

Ensaio	Intervalo descanso (min)	Rotação (rpm)	Tempo (min)	Fenóis (μg CF/g de cebola)
1	0(-1)	100(-1)	120(-1)	1556,6
2	30(+1)	100(-1)	120(-1)	1767,6
3	0(-1)	200(+1)	120(-1)	2363,6
4	30(+1)	200(+1)	120(-1)	2372,4
5	0(-1)	100(-1)	180(+1)	2263,2
6	30(+1)	100(-1)	180(+1)	2131,4
7	0(-1)	200(+1)	180(+1)	2119,6
8	30(+1)	200(+1)	180(+1)	2238,5
9	15(0)	150(0)	150(0)	2160,9
10	15(0)	150(0)	150(0)	2101,5
11	15(0)	150(0)	150(0)	2134,3

CF=compostos fenólicos

confirmaram o efeito das associações de condições de extração demonstrada pelos conteúdos obtidos em fenóis totais nos diferentes experimentos. Outros autores também mencionaram estas variações e atribuíram a formas químicas distintas de fenóis presentes na matriz^{7,9}.

A Tabela 5 mostra que entre as três variáveis estudadas, rotação, tempo de agitação e a interação da rotação com o tempo de agitação foram estatisticamente significativas no nível de confiança de 95%, para a extração dos compostos fenólicos da cebola. A rotação por minutos (rpm) apresentou efeito positivo ao passar do menor valor para o maior, assim como indicou o aumento na média desta resposta. A variável tempo de agitação teve efeito contrário, ou seja, o menor tempo resultou em maior conteúdo de compostos extraídos. A interação da variável rotação com o tempo de agitação apresentou efeito negativo diminuindo os teores médios extraídos em 362 µg CF/g de cebola. Os efeitos das demais variáveis não foram significativos neste intervalo de confiança.

Tabela 5. Efeitos e coeficientes para as variáveis obtidas pelo tratamento estatístico.

	Efeito	Desvio padrão	Significância (p)
Média/Interação	2109,964	8,97113	0,000018
(1)INTERVALO (L)	51,725	21,03917	0,133181
(2)ROTAÇÃO (L)	343,825	21,03917	0,003724
(3)TEMPO (L)	173,125	21,03917	0,014449
1L com 2L	12,125	21,03917	0,622622
1L com 3L	-58,175	21,03917	0,109689
2L com 3L	-362,075	21,03917	0,003359

p = nível de significância

Os coeficientes de regressão da Tabela 6 mostram um modelo de terceira ordem para as variáveis, o que tornou possível validá-lo em função das variáveis estudadas por meio da análise de variância, que mostrou que estes foram preditivos e significativos para os efeitos combinados do tempo de agitação, rotação e a interação da rotação com o tempo de agitação, nos níveis de compostos fenólicos extraídos.

Os comentários são reforçados pelos resultados do teste F, no qual o F calculado de 31,1 foi 7 vezes maior do que o F tabelado, 4,35 (Tabela 7), permitindo que o modelo

Tabela 6. Coeficiente de regressão para as variáveis significativas para a extração obtida pelo tratamento estatístico.

	Coef. regressão	Desvio padrão	Significância (p)
Média/interação	2109,964	8,97113	0,000018
(2) Rotação (L)	171,913	10,51958	0,003724
(3) Tempo (L)	86,563	10,51958	0,014449
2L com 3L	-181,037	10,51958	0,003359

p = nível de significância

expresso na Equação 1 fosse utilizado para gerar a superfície de resposta para o rendimento de CF (Figura 1).

$$\text{Conteúdo de fenóis } (\mu\text{g CF/g de cebola}) = 2109,9 + 171,9R + 86,6T - 181R \cdot T \quad (1)$$

Sendo: R = rotação (rpm), T = tempo (minutos)

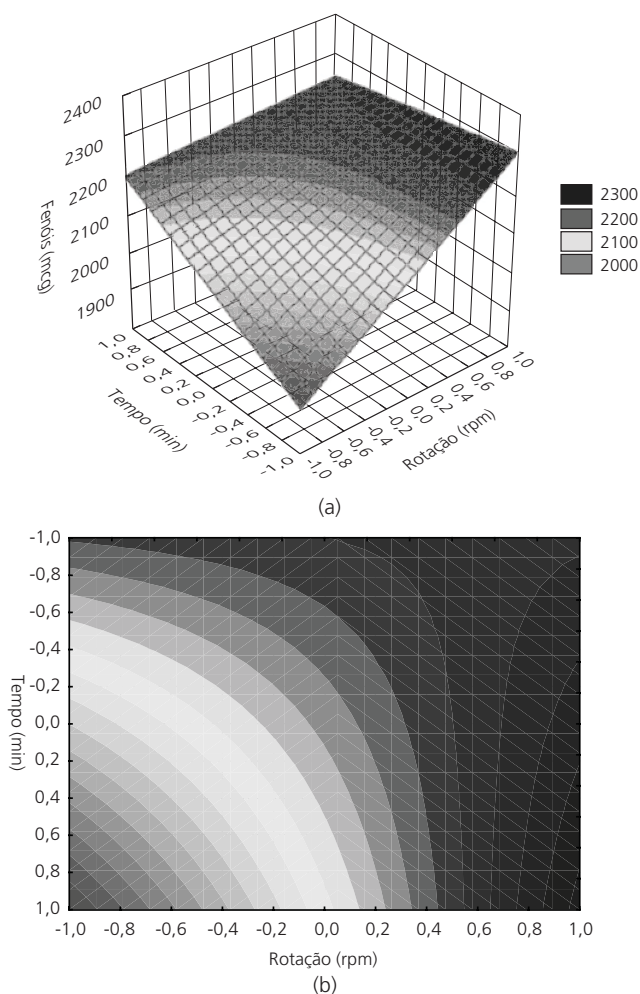


Figura 1. Superfície de resposta (a) e curva de contorno para CF (b). CF = compostos fenólicos

Tabela 7. Dados de ANOVA para planejamento experimental avaliando o efeito da rotação, tempo e interação da rotação com o tempo.

Fonte de variação	Soma quadrática	Grau Liberdade	Média quadrática	Teste F	F _{tab} (95%)	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	558572,4	3	186190,8	31,1	4,35	7,15
Resíduo	41869,8	7	5981,4			
Falta de ajuste	40099,2					
Erro puro	1770,6					
Total	600442,2	10				

A Figura 1 mostra que o rendimento da extração foi maior quando foi utilizada a rotação de aproximadamente 200 rpm e tempo de agitação de 120 minutos, sendo extraídos 2372 µg CF/ g de cebola. Este resultado sugere que o aumento no tempo de agitação pode ocasionar uma diminuição nos teores extraídos pela degradação dos compostos fenólicos pelas enzimas óxido-redutases do tecido ou reversão do equilíbrio dos compostos entre as frações sólido-líquido do sistema.

A partir desta combinação das variáveis foi avaliada a cinética do processo, Figura 2, obtida pela diminuição do tempo de extração até que este não fosse mais significativo no nível de confiança de 95%. Foi verificado que a diminuição a partir de 120 minutos não foi significativa no intervalo de confiança estabelecido, comprovando a adequacidade do tempo estabelecido para a extração dos compostos fenólicos.

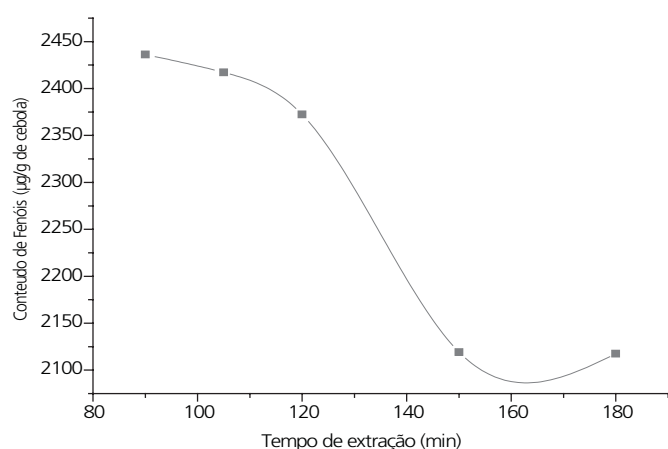


Figura 2. Cinética de rendimento de extração de fenóis por tempo.

■ Indicativos de Mérito do procedimento otimizado

O procedimento de extração otimizado foi executado para determinar o limite de quantificação e recuperação, sendo as determinações realizadas em triplicata.

A Equação da curva de calibração da quercetina para estimativa dos compostos fenólicos nas cebolas foi representada pela equação 2, na qual C representa a concentração de quercetina, A a absorbância a 660nm e o coeficiente de correlação R = 0,999 demonstrando a linearidade da relação nas concentrações da curva analítica.

$$C = 0,0352A \quad (2)$$

O limite de quantificação determinado foi de 31 µg CF e o teor médio de recuperação para o método completo usando a extração otimizada foi de 88%, variando entre 84 e 92 % da menor para a maior concentração testada. As condições de extração resultam em valores que estão fora dos valores dos pontos críticos para a confiabilidade de resultados analíticos e neste caso os teores obtidos para limites de quantificação e recuperação sugerem que o método nas condições estabelecidas é adequado para determinar compostos fenólicos em cebolas, expressando os conteúdos em µg CF/ g de cebola.

O procedimento foi testado quanto à sua aplicabilidade para quantificar CF em cebolas classificadas conforme a legislação do MAPA, que distribui em quatro classes os bulbos de tamanhos que variam entre 35 a 90 mm. Cabe salientar que nesta classificação não estão considerados outros aspectos que possam refletir a composição química ou outros aspectos indicativos da qualidade dos tecidos.

Nas cebolas analisadas, o conteúdo de compostos fenólicos variou entre 2244 e 2306 µg CF/ g de cebola. Cabe

Tabela 8. Conteúdo de fenóis totais em cebola nas diferentes classes.

Classes (diâmetro bulbo)	Umidade (%)	Conteúdo (μg CF totais/ g de cebola)
Classe 2 (maior que 35 até 50)	88,5 ^a	2265,9 ^a
Classe 3 (maior que 50 até 70)	88,4 ^a	2244,3 ^a
Classe 4 (maior que 70 até 90)	88,3 ^a	2306,4 ^c
Classe 5 (maior que 90)	88,6 ^a	2282,9 ^a

Letras iguais indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)
CF = compostos fenólicos

salientar que entre as diferentes classes o teor de umidade não variou significativamente ao nível de significância de 95%, ficando entre 88,3 e 88,6%. Considerando os totais obtidos em conteúdo fenólico nas 4 classes, mostrados na Tabela 8, a classe 4 (diâmetro do bulbo maior que 70 e menor que 90 mm) destaca-se significativamente das demais cebolas e de outros tecidos vegetais de amplo consumo como banana (310 $\mu\text{g}/\text{g}$ amostra), maçã (1000 $\mu\text{g}/\text{g}$ amostra) e batata (990 $\mu\text{g}/\text{g}$ amostra) com resultados expressos em equivalente de tirosina, determinados em amostras da região⁹.

CONCLUSÕES

O planejamento experimental realizado em duas etapas se mostrou como uma ferramenta importante para otimizar e construir o modelo preditivo dentro da faixa ótima para a extração de compostos fenólicos a partir da combinação das variáveis, tempo de extração, rotação e extração contínua e não contínua. As condições otimizadas ocorreram quando foi utilizado o tempo de extração de 120 minutos e a rotação de 200 rpm em mesa agitadora orbital. Nas diferentes classes comerciais de cebolas da região sul, a classe mais promissora como fonte de compostos fenólicos para a dieta foi a 4 com um teor médio de 2306 μg CF totais/ g de cebola.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa de estudo concedida ao primeiro autor e à EMATER-RS.

REFERÊNCIAS

1. Antolovich M; Prenzler K R; Ryan D. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *Analyst*. 2000; 125: 989-1009.
2. Jorge P A R; Neyra R M O; Almeida E; Bragnolo N. Efeito da berinjela sobre os lipídios plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. *Arq Bras Cardiol.*, 1998; 70(2): 87-91.
3. Badiale-Furlong, E; Colla E; Bortolato D S; Baish A L M; Souza-Soares L A. Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais. *Revista Veter*, 2003; 4(13): 105-14.
4. Chen Z Y; Chan P T; Zhang Z; Chung H Y. Antioxidative activity of green tea catechin extract compared with that of Rosemeay extract. *Journal Analytical Official Chemistry Society*. 1998; 75(9): 327-33.
5. Torres A M; Mau Lastovicka T; Rezaalyan R. Total phenolics and highperformance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. *J Agric Food Chem*. 1987; 35: 921-5.
6. Imeh U; Khokbar S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. *J Agric Food Chem*. 2002; 50(22): 6301-6.
7. Lima V L A G; Melo E A; Maciel M A S; Silva B S G; Lima D E S; Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vignaradiatal*L.). *Revista de Nutrição*. 2004; 17(1): 53-7.
8. Sousa C M; Rocha M H; Vieira-Jr G M; Ayres M C; Costa C L S; Araújo D S; Cavalcante L C D; Barros E D; Araújo P B; Brandão M S; Chaves M S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais, *Química Nova*. 2007; 30(2): 351- 5.
9. Oliveira M S; Badiale-Furlong E. Screening of antifungal and antimycotoxigenic activity of plant phenolic extracts. *World Mycotoxin J*. 2008; 1(2): 1-10.
10. Hsieh C L; Yen G C; Chen H Y; Antioxidant activities of phenolic acids on ultraviolet radiation-induced erythrocyte and low density lipoprotein oxidation. *J Agric Food Chem*. 2005; 53(15): 6151-5.
11. Shahidi F; Alasalvar C; Liyana-Pathirana M. Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Byproducts. *J Agric Food Chem*. 2007; 55(4): 1212-20.
12. Broinizi P R B; Andrade-Wartha E R S; Silva A M O; Novoa A J V; Torres R P; Azeredo H M C; Alves R E; Mancini-Filho J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente

- presentes em pseudo-fruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). *Ciênc Tecnol de Aliment*. 2007; 27(4): 902-8.
13. Garda-Buffon J; Badiale-Furlong E. Otimização de metodologia para derivação de desoxinivalenol através de planejamento experimental. *Química Nova*. 2008; 31(2), 270-4.
 14. Morais M M; Pinto L A A; Ortiz S C A; Crexi V T; Silva R L A; Silva J D. Estudo do processo de refino do óleo de pescado. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 2001; 60(1): 23-33.
 15. Massaro A F; Pinto L A A. Enriquecimento protéico de farelo de arroz desengordurado o com sangue bovino, utilizando a técnica de leite de jorro. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2002; 61(2): 77-84.
 16. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural – EMATER-RS – Classificação Comercial da Cebola. [acesso em 06 dez 2007]. Disponível em: <http://www.emater.tche.br>.
 17. Baptista M J; Gloria B A; Pascholati S F; Krugner T L. Produção de compostos fenólicos durante a infecção ectomicorrízica por dois isolados de *Pisolithus tinctorius* em *Eucalyptus urophylla* in vitro. *Rev Bras Bot*. 1999; 22(2): 309-15.
 18. Andrade C A; Costal C K; Boral K; Miguell M D; Kerber V A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Rev Bras Farmacologia*. 2007; 17(2): 231-5.
 19. Prenzler M S; Antolovich M; Robards K. Phenolics content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*. 2001; 73: 73-84.
 20. Velioglu Y S; Mazza G; Gao L; Oomah B D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998; 19(46): 4113-7.z
 21. Pinho B H; Machado M I; Badiale-Furlong E. Propriedades Físico-químicas das massas de pizza semi-prontas e sua relação com o desenvolvimento de bolores e leveduras. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2001; 60(1): 35-41.