

Fatôres que afetam a determinação da vitamina C na goiaba (*Psidium guajava L.*)

J. T. A. GURGEL (*) — J. SOUBIHE SOBRINHO (**)
E. MALAVOLTA (*) — J. LEME JÚNIOR (*)

INDICE

I — Introdução	400
II — Revisão da literatura	400
III — Material e método	402
IV — Fatôres que afetam a amostragem da determinação da vitamina C	403
a) Processos de extração da vitamina C	403
b) Grau de maturação do fruto	404
c) Conteúdo de vitamina C da parte externa e interna do fruto	410
d) Influência da luz solar no teor de vitamina C no fruto	411
e) Tipo de secção transversal e sua variabilidade	414
f) Perda de vitamina C devida à conservação pelo frio	417
V — Métodos de tiragem de amostras utilizados na determinação da vitamina C	420
VI — Resumo	424
VII — Conclusões	425
VIII — Summary	426
Literatura citada	428

(*) Docentes-livres e assistentes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", de Piracicaba.

(**) Secção de Citricultura e Frutas Tropicais, Instituto Agrônômico de Campinas.

I — INTRODUÇÃO

A descoberta do valor das vitaminas levou à procura de fontes baratas dessas substâncias que se prestassem à alimentação. No que se refere às vitaminas hidrossolúveis, os frutos logo se destacaram pelo teor elevado que frequentemente foi revelado pelas análises.

Como a goiaba apresenta grande riqueza em vitamina C, fomos levados a relacionar êsse assunto aos trabalhos de melhoramento de plantas frutíferas da família *Myrtaceae*, que vêm sendo conduzidos em colaboração entre a Secção de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", de Piracicaba, e a Secção de Citricultura e Frutas Tropicais do Instituto Agronômico de Campinas.

Assim, poderemos obter, futuramente, não sòmente plantas de alta produção e uniformidade, como também com elevado teor de vitamina C. Para tanto, estamos efetuando determinações do conteúdo de ácido ascórbico em diferentes variedades e tipos de goiaba existentes entre nós. Com referência a esta parte, foi solicitada a colaboração das Secções Técnicas de Química Agrícola e Tecnologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

De outro lado, ao iniciarmos os estudos sòbre a determinação do ácido ascórbico na goiaba, verificamos que havia vários fatores que poderiam afetar os métodos de tiragem de amostras que não tinham sido suficientemente esclarecidos. Em virtude disso, resolvemos proceder a um acurado estudo, e os resultados obtidos constam no presente trabalho.

II — REVISÃO DA LITERATURA

O valor da goiaba (*Psidium guajava* L.) como fonte de ácido ascórbico só foi demonstrado, em 1941, por GOLBERG e LEVY; êstes autores determinaram o ácido ascórbico, pelo método titulométrico de Tillmans, em frutos verdes, maduros firmes e maduros moles. O teor mais alto, 300 a 450 mg/100 g foi encontrado em frutos verdes e maduros firmes; de modo geral, há a seguinte ordem no teor de vitamina: maduro firme maior do que o verde e êste maior do que o mole. As determinações revelaram que há grande variação na concentração de vitamina C nas diversas partes do fruto, casca, polpa exterior e parte interna, na proporção de 12:3:1, respectivamente.

BOYES e DE VILLIERS (1942) acharam uma variação semelhante nas diversas partes da goiaba, porém, na proporção de 3:2:1, menor, portanto, do que aquêles autores. Todavia, mostram a variação de concentração no mesmo sentido, diminuindo do exterior para o interior do fruto. Os mesmos investigadores relataram também que o conteúdo de ácido ascórbico era geralmente menor nas goiabas precoces e maior nas tardias, não havendo, entretanto, muita correlação com a maturidade.

Para WADDINGTON e CIST (1943), o teor de ácido ascórbico, quando se considera o grau de maturação, é maior no fruto de vez, maduro firme e maduro mole, e menor no bem verde.

WEBBER (1944) transcreveu duas séries de análises: a primeira se refere ao teor de vitamina C no suco de goiaba extraído da casca e polpa exterior: TURRELL encontrou valores entre 164 e 971 mg/100 g nas 6 variedades que analisou; na segunda são mencionados os trabalhos de SINCLAIR e BARTHOLOMEW em 19 variedades, os quais, empregando os métodos de TILLMANS (2,6 diclorofenol indofenol) e BALLATINE (iodato de potássio) — que não diferiram estatisticamente — encontraram na casca e polpa interior mais ácido ascórbico do que na parte interna, confirmando, assim, os resultados obtidos por BOYES e DE VILLIERS, que empregaram, os mesmos métodos.

MILLER e outros (1944), citados por MUSTARD (1945), encontraram o teor de vitamina C mais alto nos frutos de vez e o mais baixo nos muito maduros.

MUSTARD (1945) também achou que há nas partes mais externas do fruto (casca e polpa) uma quantidade de vitamina C significativamente maior que na parte interna. Para a mesma investigadora, os frutos de vez e muito maduros têm mais ácido ascórbico que os bem verdes e maduros firmes.

MILLER e colaboradores (1947) encontraram teores de ácido ascórbico em ordem decrescente: casca, fruto inteiro e polpa. Estudaram também a técnica de tiragem de amostras na extração da vitamina e concluíram que a metade longitudinal ou gomo (representando 1 quarto do fruto) é melhor do que a secção meridiana. Além disso, estudaram o efeito da oxidação enzimática em 4 goiabas: um quarto de cada goiaba foi pesado e logo após feita a extração; um segundo quarto de cada amostra foi pesado, picado e deixado em exposição ao ar durante 3

horas e meia, e, em seguida, feita a extração. Concluíram que a perda de vitamina C foi relativamente grande e variável. Ainda que o tempo de duração do ensaio fôsse bem maior do que ocorre comumente na prática, tudo indica que não seria aconselhável a conservação de goiaba cortada exposta às condições do ambiente.

Vários pesquisadores no país também fizeram determinações de vitamina C em alguns frutos brasileiros, inclusive goiaba, usando diferentes métodos. As mesmas, porém, foram feitas apenas com fins comparativos, não havendo preocupações de ordem técnica. Dentre os trabalhos realizados, citaremos PAULA SOUSA (1936), ORSINE e PAULA SANTOS (1943), RIBEIRO (1945), LESLIE (1945), SOUBIHE e MALAVOLTA (1950) (comunicação pessoal). Encontraram teor de ácido ascórbico menor que 100 mg/100 g, exceto RIBEIRO e SOUBIHE e MALAVOLTA, que obtiveram 164,5 e 144,0 mg/100 g, respectivamente.

SOUBIHE e MALAVOLTA empregaram o método de TILLMANS (modificado) na determinação do conteúdo de vitamina C em frutos de diferentes "seedlings" da coleção da Estação Experimental Central do Instituto Agronomico de Campinas. Encontraram maiores quantidades de ácido ascórbico, na ordem: casca, polpa exterior e parte interior, confirmando, portanto que o teor de vitamina C decresce do exterior para o interior do fruto. Quanto ao grau de maturação, acharam que o fruto de vez e maduro firme contém mais ácido ascórbico do que o maduro mole.

Como vemos, todos os investigadores concordam em que o teor de vitamina C diminui do exterior para o interior do fruto; quanto à questão do grau de maturação, ainda não chegaram a uma conclusão definitiva, sendo os resultados muito divergentes.

Para finalizar este capítulo, devemos ainda citar a recente publicação de MOURA CAMPOS (1951), onde o autor faz uma revisão completa dos estudos sobre os vários fatores que afetam o teor de vitamina C dos alimentos; também dá uma extensa e completa tabela do conteúdo do ácido ascórbico em hortaliças, frutos, forragens, etc.

III — MATERIAL E MÉTODO

O material para este estudo proveio dos goiabais da fábrica Peixe, em Posse de Ressaca, da Fazenda São José, do sr. Luiz

Delfini, em Rio das Pedras, e da chácara Santana, do engenheiro-agrônomo José Santana, em Piracicaba.

Esses goiabais são compostos de goiabeiras nativas, exceto as da fábrica Peixe, que são provenientes de sementes de frutos selecionados.

Os frutos eram vermelhos e rosados, de forma tendendo a periforme, com polpa doce, e relativamente aromáticos.

Antes da colheita dos frutos, tivemos o cuidado de marcar as plantas, para futura identificação.

A determinação do teor de vitamina C foi feita da seguinte maneira: num liquidificador que continha uma solução de ácido oxálico a 4 por mil, como protetora contra oxidação, extraímos o ácido ascórbico, durante 2 minutos; filtramos o líquido em um balão calibrado e completamos o volume com a solução protetora; finalmente, numa parte alíquota, fizemos a determinação, de acordo com a técnica de LEME JR. e MALAVOLTA (1950).

A dosagem do ácido ascórbico foi feita no "EEL Portable, Colorimeter", — colorímetro fotoelétrico com uma única célula.

IV — FATORES QUE AFETAM A AMOSTRAGEM DA DETERMINAÇÃO DA VITAMINA C

a) *Processos de extração da vitamina C*

Para estudar a extração, foram escolhidos 10 frutos maduros firmes bem uniformes, colhidos de uma mesma árvore. Separamos-os a seguir em 2 grupos de cinco frutos; em cada fruto inteiro do primeiro grupo a extração foi feita no liquidificador durante 2 minutos. Em cada um dos cinco frutos inteiros do segundo grupo a extração foi feita triturando-se com areia pura de quartzo e empregando-se a mesma solução protetora; para evitar erros individuais que, neste caso, poderiam ser acentuados, as extrações foram feitas pela mesma pessoa.

Os frutos utilizados para a análise foram conservados em geladeira por 48 horas, razão pela qual a percentagem de vitamina que apresentaram foi bastante pequena; a este ponto voltaremos mais adiante.

Os valores obtidos para os 5 frutos foram os seguintes :

Processo utilizado mg/100 g	
Liquidificador	Trituração
47,2	39,3
49,0	35,2
43,8	37,7
49,5	35,0
45,6	34,8
$\bar{x}_1 = 47,02$	$\bar{x}_2 = 36,40$
$\sigma_1 = \pm 2,37$	$\sigma_2 = \pm 2,00$
C. V. = 5,0%	C. V. = 5,5%

Para verificarmos se as médias são diferentes, podemos fazer um teste de diferença de médias, definindo pela fórmula:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sigma^2 \text{ dif } \bar{x}} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{N_1} + \frac{\sigma_2^2}{N_2}}} = \frac{47,02 - 36,40}{\sqrt{\frac{2,37^2}{5} + \frac{2,00^2}{5}}} \quad \text{nf} = N_1 + N_2 - 2 = 8$$

Como temos apenas duas comparações, baseamo-nos unicamente no limite de 5%; o valor de t, com 8 graus de liberdade, é de 2,31. Portanto, o valor de t encontrado é altamente significante e concluímos que as médias são diferentes, dando o processo do liquidificador resultados mais altos do que os obtidos por trituração.

Podemos ainda notar que o coeficiente de variação encontrado para os dois processos foi de 5%, indicando que ambos os processos foram satisfatórios no pertinente à uniformidade da amostragem.

b) Grau de maturação do fruto

Para este experimento, classificamos os frutos em quatro graus de maturação: verde, de vez, maduro firme e maduro mole. Para a determinação da vitamina C de cada grau, tomamos 5 frutos, o que dava um total de 20 frutos por planta; utilizando 5 diferentes plantas, temos um total de 100 frutos. Os frutos foram colhidos do pomar da Cia. Peixe, em Posse de Ressaca, aliás a única plantação comercial de goiabeira no Estado.

Os resultados das determinações, por grau de maturação e por planta, se inscrevem no quadro I.

Uma simples inspeção das médias por grau de maturação do fruto nos indica que o fruto verde tem o teor mais alto; logo a seguir há uma queda para o fruto de vez; novamente o teor

da vitamina sobe para o fruto maduro firme, sem todavia atingir o valor inicial, e, finalmente cai outra vez para o fruto maduro mole; aliás, este último valor parece, à primeira vista, menor que aquele para o fruto de vez. Para melhor compreendermos a situação, vamos proceder a uma análise de variância, decompondo a variação total nas seguintes partes: variação entre plantas, variação entre graus de maturação, interação planta-graus de maturação e variação residual; os resultados desta análise acham-se no quadro II.

QUADRO II

Análise da variância do teor de vitamina C relativo aos 4 graus de maturação do total dos frutos

Fonte de variação	Graus de liberdade	Desvio Padrão	ϑ (15,46)	ϑ (2,61)
Total	99	± 16,06	—	—
Entre plantas	4	± 57,92	3,75 **	22,19 ***
Entre graus de maturação	3	± 53,82	3,48 **	20,62 **
Interação planta maturação	12	± 15,46	—	5,92 **
Resíduo	80	± 2,61	—	—

Descrição da decomposição — Quadro II — A comparação do erro entre-plantas e do erro entre-graus de maturação com o erro da interação planta-grau de maturação resultou em valores de teta, respectivamente, 3,75 e 3,48, valores estes significantes, fora do limite de 0,1% de probabilidade; também altamente significantes as comparações dos erros entre-plantas, entre-grau de maturação e interação plantas-maduração com o erro residual. O erro residual foi bem pequeno, da mesma ordem dos demais experimentos realizados, aliás uma coincidência notável. O coeficiente de variação de todo o experimento foi de 3%, valor este bem pequeno.

Por outro lado, temos que explicar as razões por que não somente os erros entre-planta e entre graus de maturação são significativamente maiores do que o erro residual, mas também a interação planta-graus de maturação, pois, aparentemente, não deveria haver tal interação; primeiramente temos que analisar a variação de cada planta individualmente, fazendo uma análise de variância, decompondo a variação total em duas componentes: variação entre graus de maturação dos frutos e variação residual. Os resultados da decomposição, bem como os testes de teta são dados no quadro III.

QUADRO III

Análise da variância ao teor da vitamina relativo ao grau de maturação por fruto

N. da planta	x por planta mg/100g	Total		Entre grau maturação		Residual		σ (R do total)
		nf	σ	nf	σ	nf	σ	
1	87,30	19	± 5,63	3	± 16,80	16	± 5,24	2,01 ***
2	69,74	19	± 9,04	3	± 22,09	16	± 2,38	0,91
3	93,08	19	± 13,60	3	± 33,73	16	± 2,50	0,96
4	90,13	19	± 10,49	3	± 25,67	16	± 2,66	1,02
5	103,45	19	± 14,78	3	± 37,42	16	± 2,68	13,96 ***

Podemos notar que, quanto ao grau de maturação, tôdas as plantas se comportaram igualmente; os testes de teta de todos os erros entre-grau de maturação com o erro residual para cada planta deram valores altamente significantes, o que nos indica que, de fato, o teor de vitamina difere nos diferentes graus de amadurecimento de cada fruto.

Desde que obtivemos cinco diferentes valores do erro residual, fizemos a comparação desses erros com o erro residual do experimento todo, cujos resultados damos na última coluna do quadro acima; podemos ver que, com exceção da planta 1, que deu um valor de teta significante, os demais tetas foram insignificantes. Disso concluímos que a planta 1 tem um grau de variação duas vezes maior que a variação residual do experimento todo, e, as demais plantas, apresentam variação residual da mesma ordem que a do experimento inteiro.

Para melhor podermos descobrir quais as outras causas que tornaram a interação tão alta, fizemos o gráfico 1, onde colocamos as médias do teor da vitamina de cada grau de maturação, e para cada planta. Assim, pudemos separar três diferentes comportamentos: os pés 2 e 5 mostram diferenças acentuadas do teor da vitamina conforme o grau de maturação; começa com valores altos para o fruto verde, depois cai para o fruto de vez, torna a subir para fruto maduro firme e cai novamente para o fruto maduro mole, parecendo que os teores da vitamina C nos frutos verde-maduro firme e nos vez-maduro mole são idênticos. Para os pés 1 e 4, as quedas de vitamina C de um grau de maturação para outro são menos acentuadas que no caso anterior; parecendo, à vista, que só os extremos são diferentes; finalmente, o pé 1 mostra uma queda contínua do teor de vitamina na ordem: verde, de vez, maduro firme e maduro mole, aparentando que cada grau de maturação é diferente, uns dos outros, máxime os extremos.

A diferença de comportamento no grau de maturação do fruto, observada entre as diversas plantas, e os vários níveis de vitamina C que cada planta tinha no fruto verde até o fruto maduro mole são fatores importantes que determinaram o alto valor da interação planta-grau de maturação encontrado no experimento.

Teste de diferença entre duas médias dos graus de maturação dos frutos, por planta. Desde que a análise de variância tenha revelado diferenças no comportamento entre as plantas e entre os graus de maturação, devemos fazer um teste de t para diferenças de médias. Assim, começaremos pela diferença entre os graus de maturação de cada planta. Em vez de aplicarmos diretamente o teste de t, vamos fazer o gráfico de diferenças das médias, largamente preconizado por Rodrigues de Carvalho (1946).

Para fazermos êste gráfico, pusemos na linha de base, numa determinada escala, as médias consideradas e, sôbre elas, colocamos um segmento de reta que corresponde ao produto.

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 \text{ (diferença de duas médias)} = \sigma R \sqrt{\frac{2}{Np}} \times t$$

Êste produto provém da fórmula do próprio teste de t; os valores que dêle constam são os seguintes: σR = êrro padrão residual; Np = número de variáveis sôbre o qual foi calculado a média. Para o valor teste de t temos que saber o grau de liberdade, que neste caso, é o grau de liberdade do êrro padrão residual.

Todavia, para o caso que estamos considerando, isto é, da variação do teor de vitamina por grau de maturação do fruto, para aplicarmos o teste de t, desde que provamos que há uma interação entre a planta e os graus de maturação usaremos êste êrro, ao invés do êrro residual, conforme mostramos acima; para os limites fiduciais de t, vamos utilizar o nível de 5%, isto porque, entre quatro médias, só podemos fazer seis comparações possíveis, e, quanto ao grau de liberdade de t, usaremos o grau de liberdade do êrro da interação. Assim, teremos $\sigma \pm \text{int.} = 15,46 \text{ mg}$ $Np = 5$ variáveis t ($nf = = 12$) $5\% = 2,18$ $\bar{x}_1 - \bar{x}_2 = 15,46 \sqrt{\frac{2}{5}} \times 2,18 = 21,23$.

Uma vez calculado o valor do produto que corresponde ao segmento de reta procurado, fizemos o gráfico 2, onde podemos tirar as seguintes conclusões:

N. da Planta	Médias iguais entre si	Médias diferentes entre si
5	Maduro firme = verde De vez = maduro mole	Maduro firme — verde diferente de vez — maduro mole
2	Verde = maduro firme maduro firme = maduro mole = de vez	Verde diferente de de vez
4	Verde = maduro firme = = de vez Maduro firme = de vez = = maduro mole	Verde diferente de maduro mole
1	Verde = maduro firme = = de vez = maduro mole	
3	De vez = maduro firme = = maduro mole	Verde diferente de de vez — maduro firme — — maduro mole
Conjunto das 5 plantas	Maduro firme = de vez De vez = maduro mole	Verde diferente do maduro firme — de vez — maduro mole Maduro firme diferente de maduro mole

Teste de diferença entre duas médias para os graus de maturação dos frutos para o conjunto das 5 plantas — A semelhança do que fizemos para o caso anterior, em lugar de calcularmos tôdas as 6 diferenças possíveis entre as médias dos quatro graus de maturação dos frutos, podemos fazer um gráfico das diferenças das médias; devemos ainda considerar que cada média aqui é baseada em 25 observações, porque são 5 determinações em 5 plantas. Como são apenas 6 diferenças de médias, podemos tomar, para valor de t, o limite de 5%; para 12 graus de liberdade, t é igual a 2,18. Assim :

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 = \sigma \text{ int} \sqrt{\frac{2}{Np}} \times t = 15,46 \sqrt{\frac{2}{25}} \times 2,18 = 9,53$$

Os resultados dêste teste são dados na parte inferior do gráfico 2.

Fica demonstrado que o fruto verde tem o teor máximo de vitamina C, estatisticamente maior que o teor para os demais graus de maturação dos frutos; em segundo lugar, vem o fruto maduro firme, que tem garantidamente mais vitamina que o fruto maduro mole; finalmente, o teor de vitamina C do fruto de vez não difere estatisticamente dos teores do fruto maduro firme e maduro mole.

Teste de diferença de médias para o teor de vitamina por planta. Para facilitar as comparações do teor de vitamina das cinco plantas entre si, usaremos o mesmo processo acima descrito, cujos resultados constam no gráfico 3. Nas comparações, continuaremos usando o mesmo erro da interação planta-grau de maturação, de $\pm 15,46$ mg/100 g com 12 graus de liberdade; para N_p , temos cinco determinações \times 4 graus de maturação, o que dá um total de 20. Para os limites de t , usaremos o nível de 5%, porque temos só 10 comparações possíveis entre as 5 médias.

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 = \sigma \text{ int. } \sqrt{\frac{2}{N_p}} \times t = 15,46 \sqrt{\frac{2}{20}} \times 2,18 = 10,12$$

Como vemos no gráfico 3, o pé 5 tem o teor máximo de vitamina C, sendo estatisticamente superior a todos os demais; os pés 1, 3 e 4 têm o mesmo teor de vitamina C e são todos superiores ao pé 2; em último lugar, com o teor de vitamina mais baixo, estatisticamente inferior a todos os demais, encontramos o pé 2.

c) *Conteúdo de vitamina C da parte externa e interna do fruto*

Para verificar a variação do teor de vitamina C nas diferentes partes da goiaba, procedemos da seguinte maneira: escolhemos 5 frutos, bem uniformes, de uma única árvore, e cortamo-los longitudinalmente ao meio, depois de retirar-lhes a casca; de cada fruto, pesamos uma certa porção de casca, polpa exterior e parte interna, que serviu para as determinações. As determinações foram feitas imediatamente, após a colheita dos frutos.

Os resultados obtidos foram os seguintes :

Partes do fruto estudadas — mg/100 g.

Casca	Polpa
195,0	126,3
200,9	120,7
195,1	133,3
208,7	125,5
197,0	127,8
$\bar{x}_1 = 199,34$	$\bar{x}_2 = 126,72$
$\sigma_1 = \pm 5,75$	$\sigma_2 = \pm 4,54$
C. V. = 2,9%	C. V. = 3,6%

A simples vista das duas médias nos indica que elas são diferentes; todavia, para sermos mais exatos, poderemos fazer um teste de diferença de médias.

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sigma^2 \text{ dif } \bar{x}} = \frac{199,34 - 126,72}{\sqrt{\frac{5,75^2}{5} + \frac{4,54^2}{5}}} = 22,14 \quad \text{nf} = N_1 + N_2 - 2 = 8$$

Sendo somente uma comparação de duas amostras, utilizamos o limite de t de 5 %, que com 8 graus de liberdade, é de 2,31; não resta a menor dúvida que o valor de t achado é altamente significativo. Assim, concluímos que a casca tem uma percentagem de vitamina muito maior que a polpa, cerca de 70%, diferença esta estatisticamente significativa. A determinação da vitamina C feita na parte interna do fruto, que inclui as sementes e os septos das lojas, acusou uma percentagem muito baixa, praticamente desprezível. Portanto, a relação que encontramos foi de 1,6: 1: 0.

d) *Influência da luz solar na concentração da vitamina C no fruto.*

Maynard, (citado por Weber, 1944), trabalhando com tomate, observou que a concentração de ácido ascórbico estava relacionada com o número de horas de iluminação recebida pela planta, por dia. Deve-se acrescentar, à extensão do período da luz do dia, a intensidade da luz, porque esta, em vários frutos e vegetais, tem grande influência na concentração da vitamina C.

QUADRO IV

Teor de ácido ascórbico dos gomos de sol e de sombra de 5 diferentes frutos.

Tipo de gomo	1	2	3	4	5	\bar{x}
Sol	90,0	99,7	108,7	100,06	93,4	87,87
	93,5	103,2	105,8	86,4	89,8	
	81,2	108,9	109,5	80,3	95,2	
Sombra	82,3	95,0	93,2	89,65	105,3	98,18
	75,1	100,4	91,9	90,3	102,1	
\bar{x} — mg/100g	84,42	101,44	101,78	\bar{x} — mg/100g	88,82	97,16
σ — mg/100g	± 6,80	± 5,11	± 8,54	σ — mg/100g	± 5,69	± 6,40
C. V.	8,1%	5,0%	8,4%	C. V.	6,4%	6,6%

13 gomos — Sol
 \bar{x} = 99,50 mg/100 g
 σ = ± 8,31 mg/100 g

12 gomos — Sombra
 \bar{x} = 89,59 mg/100 g
 σ = ± 7,24 mg/100 g

Em vista disso, achamos interessante observar se a concentração de ácido ascórbico na goiaba também está relacionada com a intensidade da luz. Assim, escolhemos uma planta do goiabal da chácara Santana e colhemos 5 frutos maduros firmes, nos quais, antes de colhidos, assinalamos a parte voltada para o sol. Cortamos, com uma faca inoxidável, 5 secções longitudinais, de modo que, para cada fruto, tínhamos "gomos" sombreados e "gomos" de áreas expostas à luz solar. A extração foi sempre feita no liquidificador.

Os resultados obtidos constam do quadro IV; podemos notar que, para os frutos 1, 2 e 3, temos 3 gomos expostos ao sol e 2 à sombra, e, para os frutos 4 e 5, temos justamente o contrário. Essa variação é devida ao lugar que o fruto ocupava na planta.

A primeira inspeção do quadro acima parece mostrar-nos que há uma diferença entre os gomos que receberam mais sol e os que chamamos sombreados; todavia, temos ainda que responder a outras perguntas, como, por exemplo, se há uniformidade entre os frutos, etc. O melhor modo de a isso responder é fazer uma análise de variância, decompondo a variação total em variação entre gomos de sol e sombra, variação entre frutos e variação residual (quadro V).

QUADRO V

Análise da variância do teor de vitamina em gomos de sol e de sombra

Fontes de variação	Graus de liberdade	Desvio Padrão	Teste de teta (3,74)
Total	24	± 9,38	—
Entre gomos de sol-sombra	1	± 24,61	6,58 **
Entre frutos	4	± 17,60	4,71 **
Residual	19	± 3,74	—

O teste de teta da variação entre gomos de sol-sombra com a variação residual é altamente significativa, indicando que há, de fato, uma diferença entre as partes do fruto que receberam sol e as sombreadas. Idênticamente, a variação entre frutos,

quando comparada com a variação residual, resultou num teste de teta significativo, mostrando que os frutos são diferentes entre si. A semelhança do que fizemos para os casos anteriores, a fim de tornar mais claro que, de fato, as médias entre os gomos ensolarados e os sombreados são diferentes entre si, vamos fazer um teste de diferença de médias, segundo a fórmula :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sigma R \sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}}} \quad \text{onde } nf = nf \sigma R = 19 \quad N_1 = 13 \quad N_2 = 12$$

$$t = \frac{99,50 - 89,59}{3,74 \sqrt{\frac{1}{13} + \frac{1}{12}}} = \frac{9,91}{3,74 \sqrt{\frac{25}{156}}} = 6,62^{***}$$

Segundo apenas uma diferença entre duas médias, usaremos o teste de t no limite de 5% de probabilidade, que corresponde a um valor de 2,09; portanto, o valor de t obtido, de 6,62, é altamente significativo, indicando-nos que a média dos gomos de sol é diferente da dos gomos de sombra. Portanto, desde que a intensidade da luz é importante, podemos dizer que, se o experimentador tomar uma secção longitudinal ou um gomo de fruto para a determinação da vitamina C, deve ser muito cuidadoso para evitar pegar justamente as partes sombreadas; deve lembrar-se, ainda, de que pode haver diferenças entre o teor de vitamina de diferentes frutos da mesma planta. O único meio de evitar este último inconveniente é tomar vários frutos da mesma planta, isto é, fazer uso de repetições.

e) Tipo de secção transversal e sua variabilidade

Escolhemos 5 frutos maduros firmes, uniformes, isentos de moléstias e pragas, de uma única árvore da chácara Santana, em Piracicaba. Com uma faca inoxidável, cortamos cada fruto em 5 secções transversais mais ou menos uniformes (fig. 1). Fizemos a extração do ácido ascórbico de cada secção, segundo o método já descrito.

Os valores obtidos para os 5 tipos de secção transversal figuram no quadro VI.

QUADRO VI

Teor de vitamina C nas várias secções transversais do fruto

Tipo de secção transversal	Pedúnculo	Sub-pedúnculo	Mediana	Sobre Coroa	Coroa
Determinações	140,3	100,3	94,1	93,9	110,4
	141,9	101,9	90,1	91,3	113,7
	147,8	107,8	97,2	94,8	115,6
	141,2	101,2	94,3	91,9	120,8
	145,3	105,3	92,3	91,9	116,9
\bar{x} — mg/100g	143,30	103,30	93,60	92,76	115,48
σ — mg/100g	$\pm 3,15$	$\pm 3,15$	$\pm 2,63$	$\pm 1,51$	$\pm 3,85$
C. V.	2,2%	3,0%	2,8%	1,6%	3,3%

Como vemos, pelas médias obtidas para cada tipo de secção transversal, existe uma variação bastante acentuada. Assim, as médias da vitamina C na região do pedúnculo e na apical são as maiores, decrescendo à medida que nos aproximamos da secção mediana. Para melhor apreciarmos as variações dessas diversas secções, vamos fazer um teste entre-dentro, cujo resultado damos no quadro VII.

QUADRO VII

Análise da variância do teor de vitamina das secções transversais do fruto

Fontes de variação	Desvio padrão	Graus de liberdade	Teste de teta
Total	± 19,38	24	—
Entre secções	± 46,76	4	15,79 ***
Residual	± 2,96	20	—

Como podemos notar, a decomposição do erro total da variação acusou valores bastante diferentes, sendo que o teste entre-dentro revelou que o erro padrão entre secções é significativamente maior do que o erro padrão residual.

Desde que a população considerada inclui amostras diferentes, para verificarmos essa situação, devemos fazer um teste de diferença de média dado pela fórmula :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sigma R \sqrt{\frac{2}{N_p}}} \quad nf = \sigma \quad R = 20$$

A fim de facilitar as comparações, organizamos o gráfico 4, que apresenta as diferenças das médias. Na linha de base colocamos, numa determinada escala, as 5 médias consideradas e, sobre elas, colocamos um segmento de reta que corresponde

ao produto $\sigma R \frac{2}{N_p} \times t$. Para calcularmos esse produto, N_p

é o número de variáveis em que as médias foram determinadas; para t , tomamos o grau de liberdade do erro padrão do resíduo, que é igual a 20; e, como temos só 5 médias, utilizaremos o limite de 5% de probabilidade, cujo valor de t é de 2,09. Portanto, o produto anterior passa a ser :

$$\sigma R \sqrt{\frac{2}{N_p}} \times t = \frac{2}{5} \times 2,09 = 0,836 \quad \text{ou} \quad \frac{2}{5} \times 2,09 = 0,836 \times (\bar{x}_1 - \bar{x}_2) = 3,95 = \bar{x}_1 - \bar{x}_2$$

Tomamos agora, na mesma escala usada para marcar as médias, o segmento da reta de 3,95, marcando em cima de cada

média a metade desse segmento; sabemos que, quando as médias ficam superpostas pelo segmento, não diferem estatisticamente entre si, e que são diferentes no caso contrário, isto é, quando os segmentos não se superpõem.

Fica patente que apenas as médias das secções transversais “sobre-coroa” e “mediana” são iguais entre si, e que, por sua vez, diferem das demais médias; também as médias das secções transversais, “subpedúnculo”, “coroa” e “pedúnculo” diferem estatisticamente entre si. É interessante notar que as regiões próximas ao pedúnculo do fruto são mais ricas em vitamina e, igualmente, a parte apical ou coroa. A explicação desse acontecimento é que, tanto as secções transversais próximas do pedúnculo como da coroa são formados de casca e polpa, não incluindo praticamente as sementes, e, consoante já vimos, são justamente estas partes do fruto as mais ricas em vitamina C. Assim, a inclusão de maior quantidade de sementes nas demais secções transversais, isto é, “sub-pedúnculo”, “mediana” e “sobre-coroa”, vem como que diluir o teor de vitamina C das partes da casca e polpa. Esta é naturalmente uma hipótese de trabalho para este interessante fenômeno biológico.

f) *Perda de vitamina C devida à conservação pelo frio*

Comumente acontece que não podemos determinar imediatamente a percentagem de vitamina C dos frutos colhidos, e, como já é conhecido que o teor de vitamina cai após a colheita, resolvemos investigar esse assunto; também seria de interesse saber até quanto tempo os frutos para consumo poderiam ser conservados sem perda muito grande da vitamina.

Para esse experimento, foram colhidos 25 frutos do tipo “maduro firme”, de uma única planta da Fazenda São José, de Rio das Pedras, e a seguir trazidos ao laboratório e conservados em geladeira, a 5°C e 80% de umidade relativa. Fêz-se 1a. determinação imediatamente após a colheita e, as seguintes, depois de 12-24-48 e 96 horas. Os resultados obtidos estão mencionados no quadro VIII.

QUADRO VIII

Queda do teor de vitamina C de frutos conservados em geladeira

N. de horas	0 horas	12 horas	24 horas	48 horas	96 horas
Determinações	140,1 145,4 149,2 142,3 144,4	114,1 105,5 109,1 112,4 111,5	82,0 84,9 85,8 84,8 80,9	47,4 48,7 47,0 50,8 45,9	38,1 30,8 29,8 33,7 35,6
\bar{x} —mg/100g	144,28	110,52	3,68	47,96	34,00
σ —mg/100g	± 3,42	± 3,34	± 2,11	± 1,88	± 3,54
C. V.	2,4%	3,0%	2,5%	3,9%	10,4%

Como vemos, houve uma queda contínua no teor de ácido ascórbico dos frutos conservados em geladeira, a partir da colheita. Assim, depois de 12 horas, o teor de vitamina caiu de 23,4%; depois de 24 horas, atingiu 22,0%; após 48 horas, baixou de 66,8% e, finalmente, decorridas 96 horas, caiu de 76,4%. O coeficiente de variação para as determinações foi bastante satisfatório, no geral de 3%, com exceção da última determinação, isto é, de 96 horas, onde chegou a 10%.

Todavia, examinando mais detalhadamente como se deu a queda do teor de vitamina C, poderíamos tentar ver se essa

queda não está correlacionada com o número de horas com que cada determinação foi efetuada. Para o cálculo do coeficiente de correlação linear tomamos os períodos de 0, 12, 24, 48 e 96 horas, respectivamente, como 0, 1, 2, 3 e 4; o valor desse coeficiente foi de 0,86 que com 3 graus de liberdade está justamente no limite de 5% de probabilidade. Uma vez, que não pudemos resolver se há ou não correlação linear entre a queda do teor de vitamina C e o número de horas de conservação, resolvemos decompor a variação entre as determinações em duas componentes: variação dependente e variação independente; os resultados da análise constam do quadro IX.

QUADRO IX

Análise da variância da queda do teor de vitamina C dos frutos conservados em geladeira

Fontes de variação	Desvio Padrão	Graus de liberdade	Teste de teta	
			(± 2,94)	(± 5950)
Total	± 41,26	24	—	—
Entre determi- ções :				
Variação de- pendente	± 173,46	1	59,00 ***	2,92
Variação in- dependente	± 59,50	3	20,24 ***	—
Resíduo	± 2,94	20	—	—

Como vemos no quadro acima, os tetas das comparações dos erros da variação dependente e independente com o erro da variação residual são altamente significantes; se houvesse correlação linear entre os valores considerados, a comparação entre a variação independente e a residual deveria ser insignificante, o que aliás não se deu. Outra prova que vem corroborar a opinião de que não há correlação linear entre os valores da queda do teor de vitamina C e o número de horas de conservação em geladeira é que o teta de comparação do erro da variação dependente com o erro da variação independente foi in-

significante, quando esperavamos que fosse significativa (última coluna do quadro IX). Em vista dessas análises estatísticas não terem esclarecido suficientemente a questão, tentamos fazer a adaptação dos dados a outras distribuições matemáticas; os resultados desses estudos, feitos em colaboração com PIMENTEL GOMES (1951), constam de outro trabalho.

Portanto, com êste experimento, fica patente o efeito prejudicial que a conservação pelo frio tem sobre o teor de vitamina C na goiaba; sobre êste ponto voltaremos em outro trabalho, não somente diminuindo o número de horas entre as determinações, como também variando o processo de conservação.

Como conclusão, podemos dizer que, para as determinações da vitamina C serem válidas, se tem que fazer a dosagem imediatamente após a colheita; igualmente, para que o aproveitamento da vitamina C seja máximo, os frutos devem ser consumidos logo após a colheita.

V — MÉTODOS DE TIRAGEM DE AMOSTRAS UTILIZADOS NA DETERMINAÇÃO DA VITAMINA C

Após têrmos estudado, no capítulo anterior, os principais fatores que afetam a exata determinação do conteúdo da vitamina C na goiaba, estudaremos agora os métodos de tiragem de amostras mais recomendados para êsse fim.

Foram utilizados 5 diferentes métodos: fruto inteiro, fruto picado em pedaços pequenos (do qual se tomou uma parte), metade transversal, secção longitudinal (gomo) e secção mediana transversal. Para êste experimento foram colhidos 25 frutos de uma única planta, do tipo maduro firme, tomando-se o cuidado de que fôsem uniformes, tanto quanto possível. Os frutos provieram da chácara Santana, de Piracicaba. A extração foi feita no liquidificador, durante dois minutos, usando-se o ácido oxálico a 4 por mil como solução protetora; a dosagem do ácido ascórbico foi feita no colorímetro de célula fotoelétrica já mencionado.

Os resultados obtidos pelos 5 processos são dados no quadro X.

QUADRO X

Teor de ácido ascórbico das amostras obtidas por vários processos

Processo utilizado	Fruto inteiro	Fruto picado	Metade transversal	Secção longitudinal (gomo)	Secção mediana transversal
Determinações	90,5	96,7	102,1	114,3	78,5
	96,8	88,0	101,8	115,6	74,4
	87,3	96,7	105,8	105,3	75,4
	87,2	93,2	104,3	108,5	75,0
	94,9	90,6	104,9	108,3	75,2
x — mg/100g	91,4	93,1	103,8	110,4	75,7
o — mg/100g	± 4,39	± 3,80	± 1,75	± 4,38	± 1,60
C. V	4,8%	4,1%	1,7%	4,0%	2,1%

A simples inspeção do quadro acima nos mostra que em relação ao valor do desvio padrão, os processos de extração da vitamina C podem ser classificados em 2 grupos: a) fruto inteiro, fruto picado e secção longitudinal; b) metade transversal e secção mediana transversal. Para melhor comprovarmos esse agrupamento, vamos fazer um teste de homogeneidade entre os erros dos dois grupos. Para isso, multiplicamos as variâncias dos três processos do grupo a por 4, dividimos por 12 graus de liberdade e extraímos a raiz quadrada, obtendo $\pm 4,20$ mg/100 g para o erro padrão desse grupo; o mesmo processo repetimos para o grupo b, só que aqui o grau de liberdade

é 8 e achamos para o erro padrão o valor de $\pm 1,68$ mg/100 g. Finalmente fazendo o teta entre esses dois desvios padrões, achamos o valor de 2,50 que é significante.

Embora tenhamos provado que os processos de extração da vitamina C podem ser classificados em dois grupos diferentes, todavia podemos fazer uma análise de variância dos 5 processos tomados em conjunto (quadro XI).

QUADRO XI

Análise de variância do teor de vitamina C de amostras obtidas por vários processos

Fontes de variação	Desvio padrão	nf	Teste de teta
Total	$\pm 12,49$	24	—
Entre processos	$\pm 29,62$	4	8,66 ***
Residual	$\pm 3,42$	20	—

O quociente teta obtido de 8,66 é altamente significante, o que indica que as amostras não formam uma população uniforme. Para melhor avaliarmos as diferenças entre as amostras, faremos um teste de diferença de médias, dado pela fórmula :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sigma R \sqrt{\frac{2}{Np}}} \quad \text{onde } nf = nf \quad \sigma R = 20 \quad Np = 5$$

Do mesmo modo que já fizemos em casos anteriores, poderíamos usar, nessa comparação, o erro padrão residual obtido da análise de variância; todavia, se examinarmos os erros padrões residuais obtidos em três experimentos descritos nos capítulos anteriores, tais como na influência da luz solar no teor de vitamina C do fruto, tipo de secção transversal e sua variabilidade, perda de vitamina C devida à conservação pelo frio — veremos que eles são muito semelhantes entre si. Devido a isso, seria mais exato utilizarmos o erro padrão balanceado dos 3 experimentos acima obtidos do que esse erro padrão; os resultados dessa reunião são dados no quadro XII.

QUADRO XII

Erro padrão balanceado obtido de quatro experimentos

Experimento	nf	σR	Desvio quadrado	$\vartheta(3,28)$
Influência da luz solar no teor de vitamina C no fruto	19	$\pm 3,74$	266,00	1,14
Tipo de secção transversal e sua variabilidade	20	$\pm 2,96$	175,26	0,90
Perda de vitamina C devida à conservação pelo frio	20	$\pm 2,94$	173,42	0,90
Métodos de amostragem utilizados na determinação da vitamina C	20	$\pm 3,42$	234,06	1,04
	79	3,28	848,74	—

$$R \text{ balanceado} = \pm \sqrt{\frac{848,74}{79}} = \pm \sqrt{10,74} = \pm 3,28 \text{ mg/100 g}$$

Como já fizemos em experimentos anteriores, poderemos, em lugar de calcular o teste de t para cada diferença de duas médias, fazer um gráfico no qual colocaremos as médias e os segmentos de reta que correspondem à diferença de duas médias; sendo apenas 5 médias, utilizaremos t no limite de 5 %. O grau de liberdade é, neste caso, $N_1 + N_2 - 2 = 8$; o valor de t será de 2,31.

$$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 = \sigma R \text{ bal.} \sqrt{\frac{2}{N_p}} \times t = 3,28 \sqrt{\frac{2}{5}} \times 2,31 = 4,78$$

Podemos facilmente ver, no gráfico 5, que as duas médias que são estatisticamente iguais, são aquelas do processo do “fruto inteiro” e do “fruto picado”; as médias dos demais processos, isto é, da “secção mediana transversal”, da “metade transversal” e da “secção longitudinal” são diferentes entre si e diferentes ainda das médias do “fruto inteiro” e do “fruto picado”.

Dos outros 3 processos utilizados, o da secção mediana transversal dá um resultado estatisticamente inferior ao achado pelos processos do fruto inteiro e picado; de outro lado, o processo da metade transversal e da secção longitudinal (gomos) dão resultados estatisticamente superiores aos encontrados pelos processos do fruto inteiro e picado. Ainda mais, o processo dos gomos dá o teor máximo de vitamina. Com os conhecimentos que temos dos fatores que afetam a determinação da vitamina C, podemos dizer que, no processo da metade transversal, tomando a metade inferior ou mesmo superior, estamos introduzindo um fator de erro, pois vimos, no capítulo das "secções transversais" e sua variabilidade, que justamente a metade inferior tem mais vitamina que as demais. Aqui também se inclui o processo da "secção mediana transversal", pois conforme provamos, a secção mediana é justamente a que tem menor teor em vitamina, porque tem relativamente menos casca que as demais e grande quantidade de sementes. Finalmente, no processo "secção longitudinal ou gomos", poderemos alterar os resultados, tomando justamente os gomos que apanharam mais sol, pois, no geral, por terem melhor côr, involuntariamente os escolhemos, sem notarmos essa preferência.

Concluimos, pois, que os únicos processos que podemos recomendar são os de fruto inteiro e fruto picado, que dão resultados idênticos e não tendenciosos; a escolha de um ou outro processo dependerá do modo pelo qual praticarmos a extração da vitamina; se fôr o manual, isto é, o da trituração — o melhor será tomarmos uma parte do fruto picado, e, se fôr o mecânico, isto é, — do liquidificador — o melhor será usarmos o fruto inteiro.

VI — RESUMO

1) — Primeiramente foi feita a revisão da literatura, onde mostramos que todos os autores concordam que o teor de vitamina C decresce do exterior para o interior do fruto; quanto à questão do grau de maturação, não há uma perfeita concordância entre eles. Para alguns, é o fruto verde que tem mais vitamina C; para outros, é o maduro firme, e, ainda, para outro grupo, é o maduro mole.

2) — Em nossos experimentos, para extrairmos a vitamina do fruto, usamos o liquidificador durante dois minutos e utilizarmos o ácido oxálico a 4 por mil como proteção; o extrato assim obtido era filtrado para balão calibrado, completando-se o volume com o líquido protetor. Do filtrado era pipetada uma parte alíquota conveniente e, nesta, fazíamos a determinação

da vitamina C no colorímetro de célula fotoelétrica, da marca "EEL portable colorimeter".

3) — Dos fatores que afetam a tiragem de amostras na determinação da vitamina C, mostramos que o processo de trituração dá valores mais baixos do que o com liquidificador. Para verificar qual o tipo de amadurecimento do fruto que apresentava maior riqueza em vitamina C, escolhemos frutos em diversos estágios e de diversas plantas do goiabal da Fábrica Peixe, em Posse de Ressaca, e verificamos a seguinte ordem decrescente: frutos verdes, maduros firmes, de vez e maduros moles. Provamos também que, de fato, a casca é a parte mais rica em vitamina C e, depois, a polpa; a parte interna, que compreende a semente e os septos das lojas, tem um teor de vitamina pequeníssimo, praticamente desprezível. Provamos que a intensidade da luz solar tem grande influência no teor estatisticamente maior do que nas partes sombreadas. Dividindo o fruto em 5 secções transversais e determinando a vitamina C em cada parte, notamos que as secções próximas ao pedúnculo e ao ápice do fruto são mais ricas que a secção mediana, havendo como que um decréscimo do teor da vitamina dos pólos para a região equatorial do fruto. Em frutos conservados em geladeira, notamos que há uma perda contínua e bastante acentuada da vitamina; fazendo as determinações a partir de 12-24-48 e 96 horas após a colheita do fruto, verificamos que essa perda foi, respectivamente, de 23,4% — 42,0% — 66,8% e 76,4%.

4) — Dos 5 métodos de tiragem de amostras usados na determinação da vitamina C, os do fruto inteiro e do fruto picado dão idênticos resultados; os da metade transversal e dos gomos dão um teor de vitamina C mais alto do que os precedentes; o da secção transversal mediana se coloca em último lugar.

VII — CONCLUSÕES

1) — Dos dois processos utilizados para a extração da vitamina C, o da trituração manual e o do liquidificador, o último deve ser preferido, pois dá resultados mais reais.

2) — Quanto ao grau de maturação do fruto, a ordem decrescente de riqueza em vitamina C é a seguinte: verde, maduro firme, de vez e maduro mole, sendo êstes dois últimos estatisticamente iguais.

3) — As partes do fruto mais expostas à luz solar apresentam teor mais alto em vitamina C do que as sombreadas, donde concluímos que a intensidade da luz foi o fator responsável por essa diferença.

4) — A riqueza em vitamina, nas diversas partes do fruto, decresce da periferia para o centro; assim, a casca tem maior riqueza do que a polpa, e esta muito mais que a parte interna, que, praticamente, quase não tem vitamina C.

5) — As secções transversais próximas ao pedunculo e ao ápice do fruto são proporcionalmente mais ricas em vitamina C que as medianas.

6) — Conservando-se os frutos em geladeira, há uma perda considerável de vitamina. Em períodos de 12-24-48 e 96 horas após a colheita do fruto, a perda de vitamina foi, respectivamente, de 23,4% — 42,0% — 66,8% e 76,4% sobre o teor inicial.

7) — Dos métodos de tiragem de amostras utilizados para a determinação da vitamina, os do fruto inteiro e do fruto picado dão resultados idênticos. O processo da secção transversal mediana dá um resultado mais baixo que o anterior, e os processos da metade transversal e dos gomos dão um teor de vitamina mais alto que os de fruto inteiro e fruto picado.

8) — Para aquêles que usam o processo de trituração manual do fruto, a fim de diminuir o trabalho sem perda de exatidão, o melhor processo é picar muito bem o fruto e tomar uma amostra representativa; para os que se utilizam do liquidificador, o melhor processo é usar o fruto todo.

9) — As variedades nacionais por nós determinadas dão um teor de vitamina C em média de 100 mg/100 g. O rápido exame de variedades e tipos nativos mostrou que existe uma certa variabilidade entre êles quanto ao teor de vitamina C; em vista disso, recomenda-se um levantamento sistemático, selecionando-se, desta forma, os tipos mais desejáveis.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. F. G. Brieger e ao Dr. Silvio Moreira as valiosas sugestões recebidas durante o desenvolvimento do trabalho; ao Prof. José de Melo Moraes, as facilidades oferecidas pelo seu laboratório. Pelo material gentilmente pôsto a nossa disposição, somos gratos à Cia. Peixe, em Posse de Ressaca; ao nosso Colega Dr. Santana, de Piracicaba, e ao Sr. Luiz Delfini, de Rio das Pedras.

VIII — SUMMARY AND CONCLUSIONS

In the present paper the authors deal with the content of ascorbic acid in guavas (*Psidium guajava* L.) and the methods of sampling used.

Ascorbic acid was determined directly in the photoelectric colorimeter (EEL), after extraction with a 4 per cent solution of oxalic acid. Guavas from various parts of State of S. Paulo were used and the general mean found was around 100 mgm of ascorbic acid per 100 gm fresh weight of the material used for extraction.

It was found that there is great variation in the ascorbic acid content according to the condition of the fruit:

Condition	Ascorbic acid content in mgm/100 gm	Mean
Green and hard	93,36 — 119,54	102,43
Small green	57,34 — 92,30	83,40
Firm ripe	71,28 — 115,98	90,32
Overripe	63,22 — 85,98	77,36

Of the different parts of the fruit, the skin has the highest content; the pulp between the skin and the parts containing the seeds, the "inner pulp" contains little and finally the central parts, formed by the pulp between seeds, the "inter pulp" a negligible amount. The proportion of ascorbic acid found in the skin, inner pulp and inter pulp may be as high as 1.6 : 1 : 0. Furthermore, the section near the peduncle and the sepals are richer than equatorial crosssections.

It was proved that the amount and intensity of sun-light is at least one important factant factor determining differences in the ascorbic acid content of the fruit, which is higher in the parts which have received more light.

A sharp decrease was found in the vitamin C content of ripe fruit stored in a home refrigerator. The periods of the preservation were 12-24-48-96 hours and the decrease of the ascorbic acid content in per cent was 23.4 — 42.0 — 66.8 — 76.4 of the initial content of 144.28 mgm/100 gm.

The following five different methods of sampling in the determination of the amount of vitamin C were tested, with extraction in a Waring blender: 1) whole fruit; 2) sample taken from fruits cut into many small pieces; 3) half of a fruit divided by a crosssection at equal distance from both ends; 4) half of fruit divided lengthwise; 5) a transversal slice of about 1 cm. It was found that the two first methods gave the most reliable results.

LITERATURA CITADA

- 1936 — Paulo Sousa, Geraldo H. — Apanhados sôbre estudos relativos à vitamina "C" executados e em elaboração no Instituto de Higiene de São Paulo. *Revista Brasileira de Química* 1 (5): 193-201.
- 1941 — Golberg, Leon e Leopold LEvy — Vitamin C content of fresh, canned and dried guavas — *Nature* 148 (n. 3749): pg. 286.
- 1943 — Waddington, Guy and Franklin M. Cist. The vitamin content of Psidium guajava. — *Fla. State Hort. Soc. Proc.* 55: 110-112.
- 1943 — Orsini D. e O. Paula Santos — Determinação da vitamina C em alguns frutos brasileiros pelo colorímetro foto-elétrico. *Resenha Clinica-Científica*, ano 12, n. 12, 461.
- 1944 — Webber, H. J. — The vitamin C content of guavas. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci* 45: 87-94.
- 1944 — Miller, Carey D., et al — Vitamin values of Haiwiiian grown fruits and vegetables. *Hawaii Agri. Exp. Sta. Progress Notes* 36, revised.
- 1945 — Mustard, Margareth J. — Ascorbic acid content of some Florida Grown guavas. *Bul. Agr. Exp. Sta. Gainesville, Florida.* 414.
- 1945 — Ribeiro O. Vitamina C em vegetais — *Revista da Sociedade Brasileira de Química.* 14 (3): 191-196.
- 1945 — Leslie, R. E. — A goiaba e seus subprodutos como fonte de ácido ascórbico. *Brasil — SAPS* 1 (7): 32-35.
- 1946 — Rodrigues de Carvalho, M. J. — *Em A Estatística na experimentação agrícola.* 174 pgs. Livraria Sá da Costa, Lisboa. Portugal.
- 1947 — Carey D. Miller, Lucille Louis, Kisako Yanazawa — University of Hawaii Agricultural Experiment Station. *Tec-nical Bul. n. 6:* 1-56.
- 1950 — Leme Júnir e E. Malavolta — Determinação fotométrica do ácido ascórbico. *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, 7: 115-129.
- 1951 — Pimentel Gomes, F., E. Malavolta, J. T. A. Gurgel, J. Soubihe Sobr., J. Leme Jr. — A adaptação da lei de Mitscherlich aos dados sôbre a perda de vitamina C de goiabas conservadas em geladeira. *O Hospital* (em impressão).
- 1951 — Moura Campos, F. A. de — A vitamina C em alguns dos seus aspectos fisiológicos. *O Hospital*, 39: (1): 5-36.

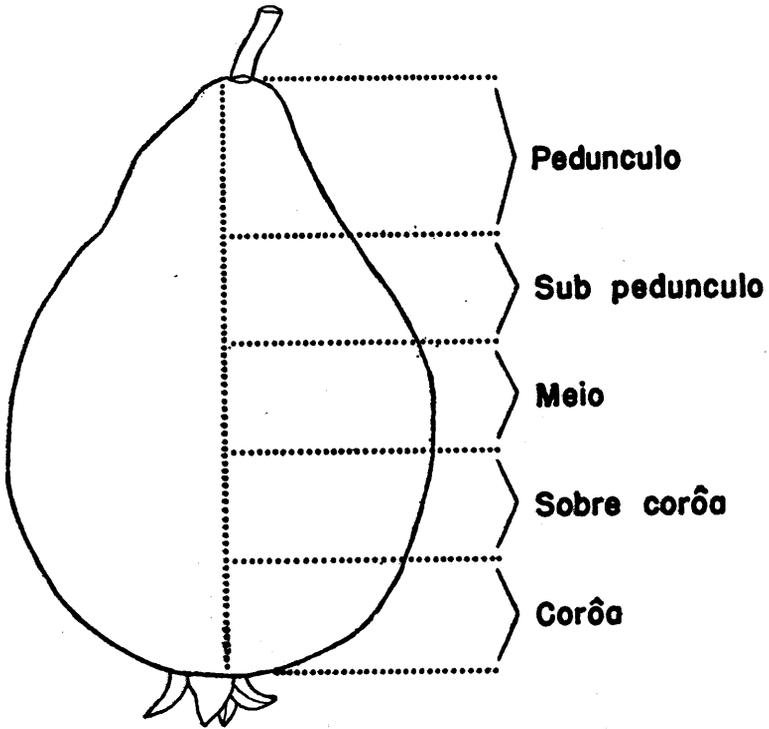


Figura 1

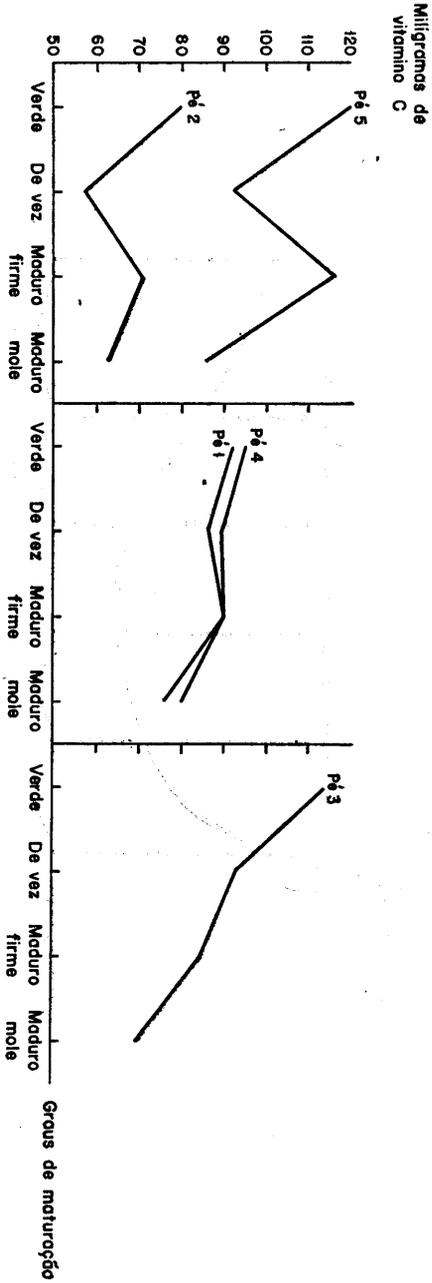


GRÁFICO 1 — Teor de vitamina C de cada planta relativo aos 4 graus de maturação

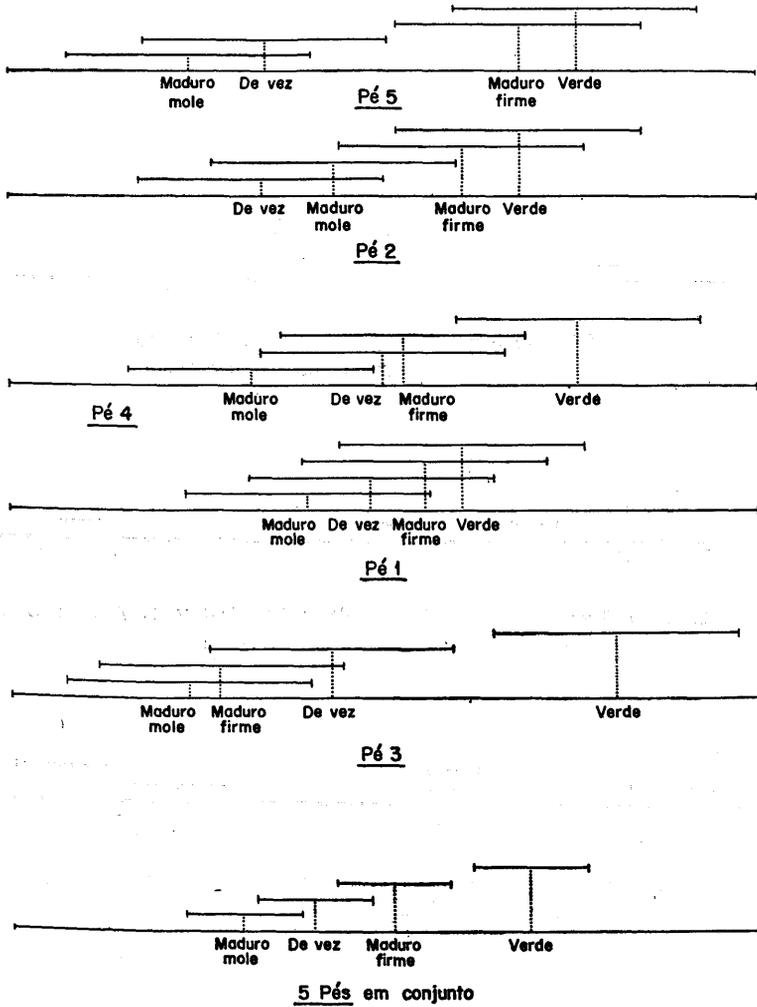


GRÁFICO 2 — Diferença de duas médias para os graus de maturação dos frutos por planta e para o conjunto das 5 plantas

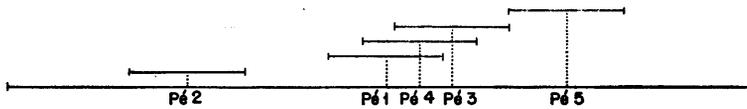


GRÁFICO 3 — Diferença de duas médias para o teor de vitamina por planta

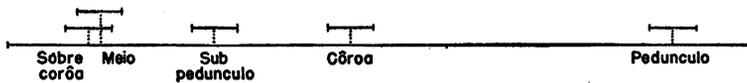


GRÁFICO 4 — Teste da diferença de médias do teor de vitamina C das secções transversais do fruto



GRÁFICO 5 — Diferença de médias do teor de vitamina C de amostras de goiaba obtidas por diferentes processos

QUADRO I

Teor de vitamina C relativo ao grau de maturação do fruto

Grau de maturação	Pé 1	Pé 2	Pé 3	Pé 4	Pé 5	% por grau de maturação
Verde	95,1	78,5	116,1	104,8	118,4	102,43
	93,7	79,2	117,1	108,0	118,0	
	90,2	80,8	116,2	104,4	123,4	
	97,8	82,8	111,1	102,4	120,9	
	90,0	78,4	110,7	105,8	117,0	
\bar{x} — mg/100 g	93,36	79,94	114,24	105,08	119,54	
De vez	87,3	58,0	90,3	88,0	95,4	83,40
	85,3	55,6	96,4	86,8	91,4	
	88,7	60,7	94,4	89,8	92,3	
	80,0	56,5	94,6	87,0	91,0	
	86,9	55,9	90,0	91,4	91,4	
\bar{x} — mg/100 g	85,64	57,34	93,14	88,60	92,30	
Maduro firme	89,3	66,2	86,8	92,6	116,9	90,32
	90,3	72,8	85,9	91,3	118,3	
	90,8	73,9	84,9	84,8	112,8	
	92,3	70,9	83,9	87,7	111,9	
	87,5	72,6	81,5	92,2	120,0	
\bar{x} — mg/100 g	90,04	71,28	84,60	89,72	115,98	
Maduro mole	79,2	61,3	81,5	79,9	86,5	77,36
	82,8	68,6	80,3	78,7	85,7	
	79,1	62,5	81,7	75,8	83,1	
	79,6	62,3	80,9	72,5	84,7	
	80,0	61,4	77,2	78,7	89,9	
\bar{x} — mg/100 g	80,14	63,22	80,32	77,12	85,98	
\bar{x} — geral	87,30	69,74	93,08	90,13	103,45	88,38