

FATÔRES QUE AFETAM O TEOR DE VITAMINA C, EM FRUTOS DE LARANJA-BAÍA E DE ALGUMAS MIRTÁCEAS*

W. Brune
D. O. Silva
F. R. Gomes
M. S. Campos

I. INTRODUÇÃO

Uma técnica desenvolvida há pouco por BRUNE *et alii* (1), assim como o estudo de alguns fatores que afetam o teor de vitamina C, em mirtáceas, despertaram interesse a respeito da observação de várias condições que definem a concentração desta vitamina em material natural.

Com este propósito foram idealizados e conduzidos experimentos, que, referentes ao teor em vitamina C, visam determinar:

- a) a diferença entre suco e bagaço
- b) diferença entre plantas
- c) efeito da temperatura de armazenagem
- d) efeito do tempo de armazenagem
- e) efeito da composição de soluções-tampão
- f) efeito de ácido oxálico e ácido cítrico, em soluções-tampão
- g) efeito do estado de madureza.

* Respectivamente, Prof. Catedrático de Bioquímica, Prof. Assistente de Bioquímica, Prof. Catedrático de Estatística Experimental e Prof. Assistente de Genética da Escola Superior de Agricultura da UREMIG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

De preferência, os experimentos foram conduzidos com frutos de mirtáceas, porém, em virtude da pouca resistência destes contra agentes de intemperismo, especialmente podrião e murchamento, alguns dos ensaios foram efetuados com laranja-baía.

O preparo do material natural, a técnica e a medição obedeceram ao critério estabelecido anteriormente por BRUNE et alii (1).

2. 1. Experimentos com Laranja-Baía

Para as análises, as laranjas foram descascadas, cortadas e espremidas à mão. Deste modo, foram obtidas duas porções para o estudo: suco e bagaço. Não foi considerada a casca como material de análises. As laranjas provinham de quatro plantas de um pomar da Escola Superior de Agricultura - Viçosa - Minas Gerais. Todos os quatro pés estavam localizados próximos um ao outro, dentro de um pomar maior, e sem que se percebessem diferenças, quanto ao desenvolvimento, entre os pés. Todos os frutos estavam maduros e sãos. O material foi repartido em dois lotes, dos quais um foi conservado em gavetas (temperatura $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$). O outro lote foi guardado em geladeira (temperatura $7,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$). Ambos os lotes foram abrigados contra a luz e acondicionados à umidade do ambiente (umidade relativa: $68,6 \pm 4,8\%$). De quando em quando foi tirado o material para análise, escolhido ao acaso; entretanto, o material consideravelmente atacado por fungo (comumente Penicillium) foi excluído.

2. 2. Experimentos Modelos com Soluções- Tampão

Soluções de ácido ascórbico (vitamina C quimicamente pura) de concentração conhecida foram tratadas com diversos tampões, sempre de pH 3,0. De tempo em tempo foi testado o teor de ácido ascórbico. As soluções tampão eram constituídas e enumeradas, conforme a seguinte relação:

Tampão nº 1: segundo Kolthoff citado por HAWK et alii (5, p. 35 a 37)

Componentes: bórax e ácido succínico

Nº 2: segundo Sörensen citado por HAWK et alii (5, p. 35 a 37)
ácido cítrico, cloreto de sódio e ácido clorídrico

- N° 3: segundo McIlvaine citado por HAWK et alii (5, p. 35 a 37) fosfato bissódico e ácido cítrico
 N° 4: segundo Sörensen citado por HAWK et alii (5, p. 35 a 37) glicocola, cloreto de sódio e ácido clorídrico
 N° 5: segundo Clark e Lubs citados por D'ANS e LAX (4, p. 1592 e 1593) biftalato de potássio e ácido clorídrico.

Depois de preparados os tampões foram calibrados com seus próprios componentes.

Cada solução-tampão continha ainda, obrigatoriamente, uma gôta de clorofórmio, por frasco, para efeito de conservação, e, eventualmente, ácido oxálico (0,4%) ou ácido cítrico (0,4%).

2. 3. Experimentos com Frutos de Mirtáceas

Aproveitando o material disponível na época, foram determinados os teores em vitamina C de pitanga (Eugenia uniflora L.), uvaia (E. Uvalha Camb.) e pitomba (E. luschnathiana Klatzsch ex Berg.).

Com pitanga foi conduzido um experimento em dissecadores, os quais tinham água na sua parte inferior; na parte superior encontravam-se os frutos e, também, em alguns ensaios, uma placa de Petri com clorofórmio.

No preparo das amostras o material foi agrupado conforme o estado de madureza, distinguindo-se arbitrariamente entre "verde", "de vez" e "maduro". Os frutos de cada pé foram analisados em separado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os resultados, salvo os especialmente indicados, são expressos em mg de vitamina, por 100 g de material (mg%).

3. 1. Teor de Vitamina em Laranja

Os resultados de um total de 864 análises foram agrupados conforme

- a procedência dos frutos (4 "plantas")
- a parte do fruto (duas "partes do fruto")
- a temperatura de armazenamento dos frutos (duas

„temperaturas“).

d) o tempo de armazenamento dos frutos (18 intervalos em „dias“)

De cada agrupamento foram feitas três análises.

A Análise estatística rendeu o quadro 1.

QUADRO 1 - Análise de Variância dos Teores em Vitamina C de Laranja-Baía

Causas da Variação	G. L.	S. Q.	Q. M.	F.
Plantas	3	24.562	8.187	42,28**
Partes do Fruto	1	16.117	16.117	84,62**
Temperaturas	1	7.102	7.102	37,29**
Dias	17	19.913	1.171	6,15**
Partes x Temperaturas	1	751	751	3,94**
Partes x Dias	17	7.384	434	2,28**
Temperaturas x Dias	17	8.266	486	2,55*
Erro	230	43.808	190	58,60**
Análises Químicas	576	1.855	3	
Total	863	129.778		

Em virtude das significâncias observadas tornou-se praticável apurar o sentido das variações.

Para isto, foram calculados os teores em função do tempo do armazenamento.

Os percursos foram avaliados estatisticamente como expressões da função: $c = mt + b$ onde „c“ representa o teor em vitamina C, „t“ o tempc em dias e „m“ e „b“ os parâmetros dos percursos.

O quadro 2 e as figuras 1, 2 e 3 informam sobre os resultados.

Os resultados do quadro 2 provam para todas as observações que a conservação por prazo longo de observação (46 dias) não modifica drasticamente o teor em vitamina; os percursos mostram um nível notadamente estável, com ligeira tendência para aumentar.

Os frutos conservados em temperatura ambiente têm mais vitamina que os retidos em geladeira.

O bagaço apresenta 14% mais de vitamina C que o suco.

QUADRO 2 - Teor de Vitamina C em Função do Tempo.

Os valores expressam a concentração ("c", em mg%) de vitamina em relação ao tempo ("t", em dias) depois da colheita.

Material: laranja-baía.

Critério	Agrupamento	Função
Armazenamento	a frio	$c = -0.032t + 60,1$
	a quente	$c = +0.158t + 61,6$
Partes do Fruto	Suco	$c = -0.032t + 57,2$
	Bagaço	$c = +0.093t + 64,5$
Plantas	nº 1	$c = +0.195t + 48,8$
	nº 2	$c = +0.088t + 64,9$
	nº 3	$c = +0.100t + 61,7$
	nº 4	$c = -0.111t + 67,5$

Entre as laranjeiras se distinguiu uma - planta nº 1 - com teor visivelmente inferior às demais, muito embora tal observação não pareça ser uma função do solo ou do micro-clima.

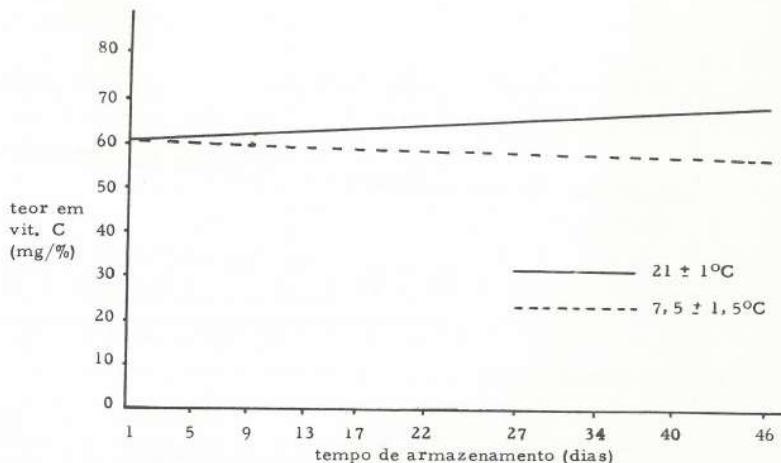


FIGURA 1 - Efeito do Tempo e das Temperaturas de Armazenagem de Laranja-Baía Sobre o Teor em Vitamina C.

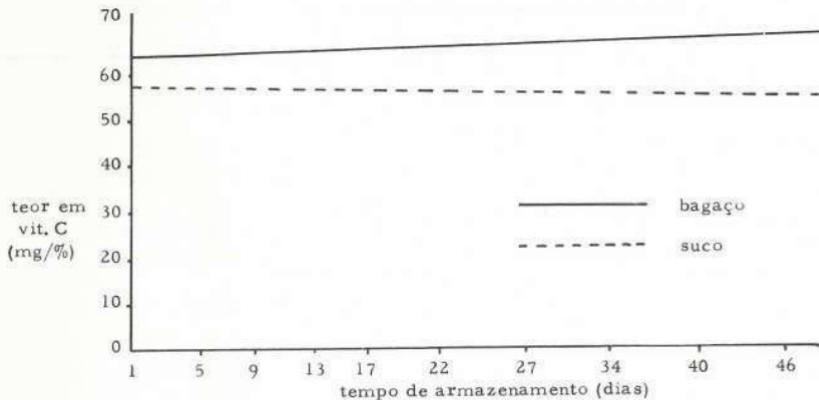


FIGURA 2 - Teor em Vitamina C do Bagaço e Suco de Laranja-Baía, em Função do Tempo e Armazenamento.

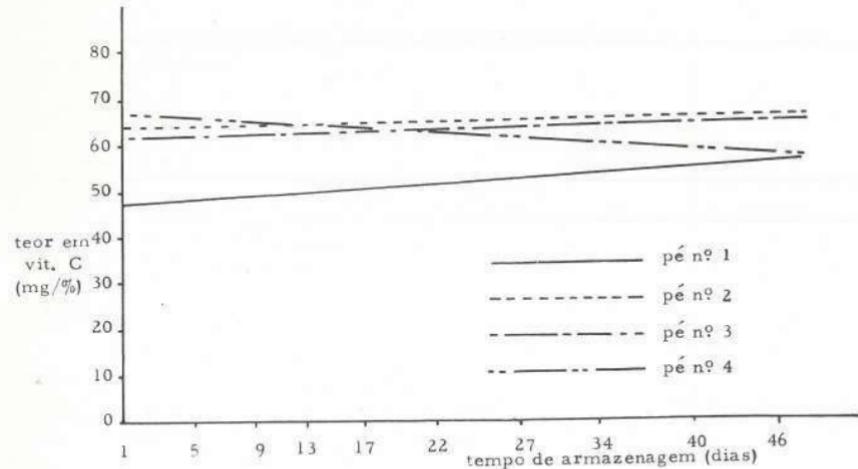


FIGURA 3 - Teor de Vitamina C em Laranja-Baía, Conforme a Planta.

3. 2. Efeito de Soluções-Tampão, Citrato e Oxalato

Em outra ocasião BRUNE et alii (2) averiguaram a importância do valor pH do meio, visto terem admitido que a capacidade conservadora bem maior do ácido oxálico, em comparação com cítrico é função do valor pH. Para apurar o efeito dos constituintes do meio e do valor pH, escolheram-se cinco soluções-tampão de composição química diferente porém, todas de valor pH 3,0.

Em consequência foram estabelecidas três séries de observações a saber:

- a) soluções-tampão sem aditivos,
- b) soluções-tampão com citrato,
- c) soluções-tampão com oxalato.

As soluções-tampão foram as soluções nº 1 até nº 5, conforme já especificadas em 2. 2.

Os resultados se resumem no quadro 3 e na figura 4, nos quais o teor de vitamina C é comparado com o teor que tinham no início do experimento.

QUADRO 3 - Efeito de Soluções-Tampão, na Conservação do Teor de Ácido Ascórbico. Os Valores Representam Médias Obtidas por Experimentos com Cinco Soluções-Tampão.
Idade das soluções, em dias
Teores de Vitamina em % de seu valor inicial

Idade das soluções	1	2	5	7	9	17	21	30	43	58	73
Tampão simples	81,4	69,5	40,8	26,0	15,7	0,7					
Tampão c/citrato	86,9	77,3	44,3	31,6	19,6	2,8	0,4				
Tampão c/oxalato	98,6	101,8	98,6	94,0	95,9	82,4	84,1	74,2	69,1	27,8	20,2

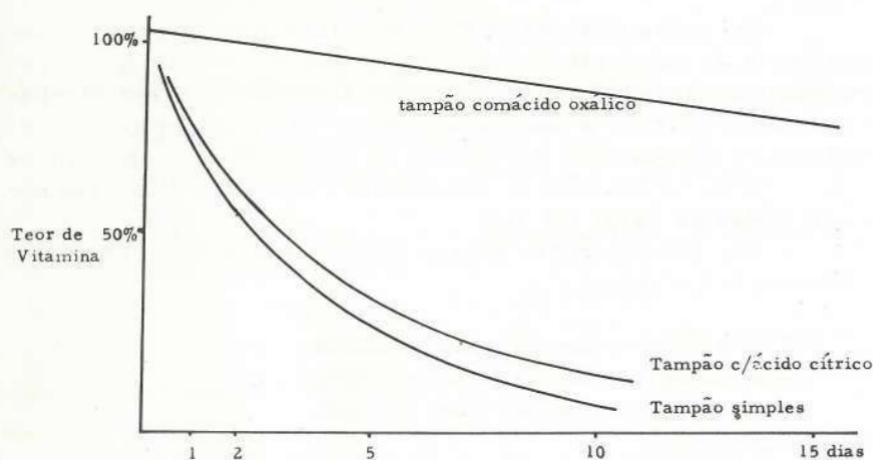


FIGURA 4 - Conservação de Vitamina C em Soluções-Tampão de pH 3,0.

Conforme BRUNE *et alii* (2) perceberam em outra ocasião o decréscimo no teor em vitamina adapta-se à função logarítmica do teor.

Neste sentido vale a fórmula:

$$pc = kt$$

onde "pc" é o logaritmo negativo da concentração "c", expressa em porcentos do teor inicial de vitamina. Ainda, "t" marca o tempo em dias e "k" o parâmetro da função supra.

O percurso definido deste modo permite estimar o tempo "TD₅₀" da destruição de metade do teor em vitamina, conforme se vê no quadro 4.

Concluiu-se em face dos resultados, que outros constituintes a não ser o oxalato, pouco efeito apresentam. O oxalato destaca-se no seu efeito conservador notadamente, em comparação com ácido cítrico, ácido succínico ou biftalato. O poder conservador do oxalato poderia ser atribuído a seu caráter redutor, mas conforme BRUNE *et alii* (3), outros redutores experimentados em solução tampão de pH 3 também accusaram resultados nítidos: ora aumento aparente, talvez pela formação de reductonas, ora queda brusca dentro de intervalo de um dia. Foram os seguintes os redutores assim experimentados:

Com aumento aparente: bissulfito de sódio e sulfeto de sódio.

Com redução drástica: sulfeto ferroso, hipossulfito de sódio e quinhidrona.

QUADRO 4 - Conservação do Teor em Vitamina C em Soluções
- Tampão de pH 3,0. Valores de Tempo de "Meia Destruíção" (TD_{50}) em dias

Composição	Tampão sem ingrediente	Tampão c/ Citrato	Tampão c/ Oxalato
Bórax, succinato	3,1	3,9	31,0
Citrato, cloreto	2,5	2,6	52,2
Fosfato, citrato	2,9	3,3	37,3
Glicocola, Cloreto	2,5	4,1	56,0
Biftalato, Cloreto	3,6	3,7	63,0

3. 3. Teor de Vitamina C, em Frutos de Mirtáceas

3. 3. 1. Efeito de Clorofórmio no Armazenamento e no Teor de Vitamina em Pitanga

Por causa da notada susceptibilidade dos frutos de algumas espécies, à murchça e podridão, os lotes ensaiados foram colocados em meio saturado de umidade, que eventualmente continha clorofórmio. Os experimentos efetivados forneceram os resultados do quadro 5.

O estado de madureza apresenta, conforme BRUNE et alii(2) já puderam verificar em outra ocasião, um aspecto variado. Todas as tendências se manifestam. Também o material aqui apresentado confirma esta observação.

QUADRO 5 - Teor (mg%) em Vitamina C de Pitanga, em Meio Saturado de Umidade

Estado de Madureza	meio sem clorofórmio	meio com clorofórmio
Frutos "de vez"		
Teor inicial	48, 3	48, 3
Teor depois de 2 dias	43, 7*	-
Teor depois de 4 dias	31, 7	0 **
Frutos "maduros"		
Teor inicial	41, 7	39, 1
Teor depois de 1 dia	- ***	30, 1
Teor depois de 2 dias		13, 5
Teor depois de 3 dias		0 *

* O material durante este intervalo amadureceu.

** Material sem sinais de amadurecimento.

*** O material durante este intervalo apodreceu.

3. 3. 2. Diferença Entre Frutos de Vários Pés

Os quadros 6 e 7 mostram os teores de vitamina C em cada uma das plantas estudadas.

QUADRO 6 - Teor de Vitamina C (mg%) em Várias Plantas de uma só Variedade

Material	Estado de Madureza		
	Verde	de Vez	Maduro
Pitanga	57, 9	50, 3	76, 0
	37, 4	26, 6	17, 1
	46, 3	48, 9	39, 6
	30, 3	19, 0	8, 5
Uvaia	202	165	158
	181	137	94

QUADRO 7 - Teor em Vitamina de Frutos Maduro. Os Dados Representam os Valores, Cada Vez, de uma Planta

Material	Planta Nº	Teor
Pitomba	1	8,1 ± 0,2 mg%
	2	13,1 ± 0,3
Pitanga	1	41,7 ± 6,0
	2	20,4 ± 0,4
	3	23,2 ± 2,6
Uvaia	1	158 ± 4
	2	126 ± 3

Percebe-se variações notáveis de uma planta para outra. Nesta altura vale lembrar que, conforme SOUBIHE et alii (6), a cabeludinha (Myrciaria glomerata Berg), uma das espécies mais ricas em vitamina C também apresenta variações semelhantes, conforme exposto no quadro 8.

QUADRO 8 - Teor em Vitamina C em Plantas de Cabeludinha, Myrciaria glomerata (Berg), Conforme SOUBIHE et alii (6)

Planta Nº	Estado de Madureza		
	Verde	de Vez	Maduro
1	857	894	1190
2	2716	2391	2317

O fenômeno, do sentido da variação, continua em observação. A esta altura é impossível apontar os fatores que determinam estas variações entre pés da mesma espécie, entre épocas de colheita ou entre efeitos de microclima.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

4. 1. Experimentos com Laranja-Baía

Em frutos de laranja-baía foram avaliados os teores de

vitamina C, conforme vários critérios. Os resultados, depois da análise estatística, permitem várias conclusões quanto ao teor em vitamina C, a saber:

- a) Há diferenças entre plantas, mesmo que estas aparentemente não revelem desuniformidade causada por microclima, estado de desenvolvimento e variedade.
- b) Em material descascado, o suco é mais pobre que o bagaço.
- c) Laranjas armazenadas a 21 °C apresentaram teor mais elevado de vitamina C do que aquelas armazenadas a 7,5 °C.
- d) O teor de vitamina C em frutos sãos é pouco afetado pelo armazenamento.

4. 2. Experimentos Modelos com Soluções-Tampão

Em experimento modelo, com ácido ascórbico, percebeu-se, quanto à conservação do teor em vitamina, que:

- a) as soluções tampão de pH 3,0 têm pouco poder;
- b) o ácido cítrico tem apenas ligeiro efeito favorável;
- c) o ácido oxálico tem ação notável, aumentando o "tempo de meia destruição", entre 10 a 22 vezes, conforme a composição da solução-tampão.

4. 3. Experimentos com Frutos de Mirtáceas

Em frutos de mirtáceas notou-se que os estados de madureza, aqui chamados empiricamente "verde", "de vez" e "maduro" acusam muitas vezes variações repentinas, sem que se evidenciasse, no entanto, qualquer tendência generalizável.

Há variações marcantes entre frutos de várias plantas, sem que se pudesse atribuí-las a efeitos de microclima, solo ou posição da planta.

5. SUMMARY

This paper focuses on some factors affecting the amounts of vitamin C. The results after being checked by statistical methods, led to these conclusions:

5. 1. Orange Fruits (Laranja-Baía)

- a) There are differences in fruits according to the trees, though these did not show any sign of variation due to microclimate, shape, healthiness or type.
- b) The juice yielded less vitamin C, than macerated flesh.
- c) Room temperature (21°C) conserves vitamin C better than a temperature of $7,5^{\circ}\text{C}$.
- d) Healthy fruits are scarcely affected by storage.

5. 2. Model experiments with Ascorbic Acid:

- a) Buffer solutions of pH 3,0 have little capacity of stabilizing vitamin C.
- b) Citric acid protects vitamin C very poorly.
- c) Oxalic acid has a remarkably strong storing effect in retaining vitamin C.

Thus the "time of half destruction" of solutions containing oxalic acid, is 10 to 22 times longer than that of buffer solutions without oxalic acid.

5. 3. Fruits of Myrtaceae

Ripening, empirically graded by "green", "half-ripened", and "ripe" shows variations in all characteristics. No general trend could be observed.

A similar result was observed on fruits of various trees within a species. The remarkable differences could not be accounted for by microclimate, soil or place.

6. LITERATURA CITADA

1. BRUNE, W., BATISTA, C. M., SILVA, D. O., FORTES, J. M. e PINHEIRO, R. V. B. Sobre o Teor de Vitamina C em Mirtáceas I, Rev. Ceres, Viçosa, 13(74): 123-133. 1966.
2. BRUNE, W., SILVA, D. O. e MATTOS, J. R. Sobre o Teor de Vitamina C em Mirtáceas II. Rev. Ceres, Viçosa, 13(75) - 182-193. 1966.
3. BRUNE, Walter, e SILVA, Daison O., Dados inéditos. 1967.

4. D'ANS, Jean e LAX, Ellen. Taschenbuch für Chemiker und Physiker - 2^a edição. Berlin, Springer Verlag. 1949. 1896 p.
5. HAWK, Philip B., OSER, Bernard L., SUMMERSON, William H. Practical Physiological Chemistry. 13^a edição. New York, McGraw-Hill Book Company Inc., 1954. 1439 p.
6. SOUBIHE Sobrinho, J., PELEGREINO, D., GURGEL, J. T. A., LEME Júnior, J. e MALAVOLTA, E. Vitamina C em "Cabeludinha" (Myrciaria glomerata Berg). Bragantia, Campinas, (14(19): 193-201. 1955.