

## Caracterização físico-química de progênes de pimentas (*Capsicum frutescens* L.)

Braga, Thayane Rabelo<sup>1</sup>; Rita de Cássia Alves Pereira<sup>1</sup>; Márcia Régia Souza da Silveira<sup>1</sup>; Leirson Rodrigues da Silva<sup>1,2</sup>; Milena Maria Tomaz de Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós- Colheita/Plantas Medicinais, Rua: Dra Sara Mesquita, 2270 – Planalto do Pici, CEP: 60511-110 Fortaleza, Ceará, Brasil;  
<sup>2</sup>leirsonrodrigues@yahoo.com.br

Braga, Thayane Rabelo; Rita de Cássia Alves Pereira; Márcia Régia Souza da Silveira; Leirson Rodrigues da Silva; Milena Maria Tomaz de Oliveira (2013). Caracterização físico-química de progênes de pimentas (*Capsicum frutescens* L.) . Rev. Fac. Agron. Vol 112 (1): 6-10.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de frutos de pimentas (*Capsicum frutescens* L.), oriundos de diferentes progênes, por meio da caracterização físico-química. Foram colhidos frutos de onze progênes de pimentas cultivadas no Município de São Benedito, CE e avaliados quanto: sólidos solúveis, açúcares solúveis totais, pH, acidez titulável, SS/AT, vitamina C e carotenoides totais. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com onze tratamentos e três repetições. Os valores médios para os frutos em geral apresentaram acima de 9 °Brix para sólidos solúveis e alto teor de açúcares (1,27 %). Os frutos apresentaram pH de 5,6, acidez e vitamina C superior a 0,3 % e 17,74 mg 100g<sup>-1</sup>, respectivamente. A média geral de carotenóides totais foi de 21,97 mg 100g<sup>-1</sup> e de SS/AT foi 31,07. Houve uma variação entre as progênes, para todas as características físico-químicas avaliadas.

**Palavras-chave.** Qualidade, sólidos solúveis, carotenoides, SS/AT, pós-colheita.

Braga, Thayane Rabelo; Rita de Cássia Alves Pereira; Márcia Régia Souza da Silveira; Leirson Rodrigues da Silva; Milena Maria Tomaz de Oliveira (2013). Physical-chemistry characterization of chili peppers (*Capsicum frutescens* L.) Rev. Fac. Agron. Vol 112 (1): 6-10.

The aim of this work was to evaluate the composition and quality of fruits pepper fruit (*Capsicum frutescens* L.), from different progenies. The fruits used in the experiment were harvested from twenty plants of the chili peppers cultivated in the town São Benedito, CE. The following parameters were evaluated: soluble solids (SS), total soluble sugars, pH, titratable acidity (AT), SS/AT ratio, vitamin C and total carotenoids. The experiment was carried out in a completely randomized design with eleven treatments and three repetitions. The mean values were 9 °Brix for soluble solids were over and 1,27 % for sugar. Fruit pH was close to 5,6, acidity and vitamin C were 0,3 % and 17,74 mg 100g<sup>-1</sup>, respectively. Total carotenoids were 21,95 mg 100g<sup>-1</sup> and SS/AT of 31. The progenies evaluated showed significant differences in their chemical composition.

**Key words:** Quality, soluble solids, carotenoids, ratio SS/AT, postharvest.

---

Recibido: 11/08/2012

Aceptado: 14/03/2013

Disponibile on line: 18/06/2013

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

## INTRODUÇÃO

Sendo uma das especiarias mais consumidas no mundo, há mais de 500 anos, a pimenta malagueta está presente na mesa de diversos povos (Filgueira, 2000). Além de serem consumidas in natura, as pimentas abastecem a agroindústria e podem ser processadas e utilizadas em várias linhas de produtos, ocupando lugar de destaque entre as espécies condimentares mais utilizadas, superada apenas pelo alho e cebola (Araújo, 2005).

As pimentas pertencem à família *Solanaceae* e apresentam mais de 150 variedades, sendo todas estas derivadas de cinco espécies cultivadas *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens* e *Capsicum pubescens* (Bontempo, 2007). As pimentas (*Capsicum* spp.) compõem uma importante parte do mercado de hortaliças frescas do Brasil, e também do segmento de condimentos, temperos e conservas, a nível mundial (Dutra et al., 2010).

Dentre todas estas cultivares, a pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) é uma das mais utilizadas na culinária e na medicina popular brasileira. Os frutos são pequenos e vermelhos quando maduros e possuem aroma e sabor forte, com característica picante (Bontempo, 2007).

A crescente procura pelo mercado interno e externo pelas pimentas provocou a expansão da área cultivada em vários estados brasileiros, principalmente em iniciativas de agricultura familiar. O cultivo é feito em praticamente todas as regiões, com destaque para Bahia, Ceará, Minas Gerais, Goiás, São Paulo e Rio Grande do Sul (Filgueira, 2000). No Estado do Ceará, particularmente, a pimenta malagueta conhecida mundialmente como Tabasco tem sido cultivada e vem ganhado espaço no mercado interno e externo (Crisóstomo et al., 2008).

As características físico-químicas relacionadas ao sabor, odor, textura e valor nutritivo, constituem atributos de qualidade à comercialização e utilização da polpa na elaboração de produtos industrializados (Oliveira et al., 1999).

Com relação a sua composição química, apresentam uma série de substâncias com propriedades bioativas. Entre os principais componentes destacam-se os capsaicinóides, carotenóides e vitamina C, sendo que estes níveis de compostos podem variar de acordo com o genótipo (Topuz & Ozdemir, 2007).

Apesar de sua reconhecida importância econômica e social, a cultura da pimenta é pouco estudada no Brasil, em todas suas fases do sistema de produção. A busca por melhor qualidade, preços e custos têm exigido dos produtores maior eficiência técnica e econômica na condução dos sistemas de produção (Agência Estado, 2004).

O presente trabalho teve como objetivo efetuar a caracterização físico-química dos frutos de onze progênies de pimentas da cultivar Tabasco Macllhenny (TM), cultivadas no município de São Benedito, CE.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas avaliações físico-químicas de frutos de onze genótipos de pimenta malagueta cultivadas no município de São Benedito, CE, obtidos da cultivar Tabasco Macllhenny (TM) feita pela Embrapa Agroindústria Tropical, por meio de uma seleção recorrente fenotípica estratificada a partir de lavouras comerciais. Segundo classificação de Köppen, o clima de São Benedito é do tipo Am, caracterizado como tropical subquente úmido, com precipitação pluviométrica média de 1.827 mm, temperaturas mínima e máxima de 15 e 30 °C, respectivamente.

Após a colheita, os frutos foram imediatamente transferidos para o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza-CE. Os frutos (casca + polpa) foram processados em homogeneizador tipo "Turax", onde as amostras foram colocadas em potes escuros e posteriormente armazenadas em freezer, e a partir destas, amostras, procederam-se as análises. A determinação do teor de ácido ascórbico (vitamina C) foi obtida por titulometria com solução de DFI (2,6 dicloro-fenol-indofenol 0,02 %) até coloração rósea claro permanente. Em seguida, pesaram-se 1 g de polpa, diluída em 50 mL de ácido oxálico 0,5 % modificado por Strohecker & Henning (1967). Os resultados foram expressos em mg 100 g<sup>-1</sup> de polpa.

Os teores de sólidos solúveis (SS) foram determinados, utilizando-se refratômetro digital, de acordo com a metodologia da (Aoac, 2002). Os resultados foram expressos em °Brix. A acidez titulável foi determinada através da diluição de 1 g de polpa para 50 ml de água destilada titulando com solução de NaOH (0,1 N). Os resultados foram expressos em percentagem de ácido cítrico (Ial, 1985).

O pH foi medido diretamente na polpa, logo após o processamento, utilizando potenciômetro (Mettler, modelo DL 12), aferido com tampões de pH 4 e 7, (Aoac, 2002). Determinou-se também a relação entre os sólidos solúveis e a acidez titulável (SS/AT).

Os açúcares solúveis totais foram determinados pelo método de antrona segundo metodologia descrita por Yemn & Willis (1954). Utilizou-se 1 g de polpa, diluída em água destilada em balão volumétrico de 50 mL, em seguida foi filtrada. Retirou-se uma alíquota de 0,025 mL do conteúdo do balão em tubos de ensaio para reação com antrona. Os tubos de ensaio contendo a amostra foram colocados em banho de gelo e após receberem o reativo, foram agitados e colocados em banho-maria a 100 °C por 8 minutos e imediatamente devolvidos ao banho de gelo. Em seguida, efetuou-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda a 620 nm e o resultado expresso em %.

Em recipiente de aço inox, foram colocados 0,5 g de polpa, 6 mL de álcool isopropílico e 2 mL de hexano, seguido de agitação por 2 min. O conteúdo foi transferido para funil de separação de 125 mL de cor âmbar, onde se completou o volume com água. Deixou-se em repouso por 30 minutos, seguindo-se a lavagem do material. Repetiu-se esta operação por mais duas vezes, filtrou-se o conteúdo com algodão pulverizado com sulfato de sódio anidro para um balão volumétrico de 10 mL envolto com alumínio, onde foram adicionados 2 mL de acetona e completado o volume

com hexano. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 450 nm e os resultados expressos em  $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  de polpa, calculados através da fórmula:  $(A \times 100)/(250 \times L \times W)$ , onde: A = absorvância; L = comprimento de onda em nm e W = quantidade da amostra original no volume final da diluição. Os carotenoides totais foram determinados pelo método de Higby (1962).

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, onde os tratamentos foram onze progênies, compostas de três repetições constituídas da polpa das amostras. Para a análise estatística, utilizou-se o programa computacional SISVAR 3.01. Realizou-se a ANAVA e adotou-se o teste de Tukey a 5 % de probabilidade para comparação de médias entre as progênies.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ácido ascórbico (vitamina C) apresentou diferença estatística significativa entre as progênies, com coeficiente de variação de 12,91 % (Tabela 1). Obteve-se uma média de  $17,74 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  de ácido ascórbico, destacando-se a progênie 2, que apresentou o valor máximo de  $26,51 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ , diferindo estatisticamente das demais. O valor mínimo de ácido ascórbico (vitamina C) foi observado na progênie 7 equivalente a  $12,81 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ .

Neste trabalho, os resultados encontrados para ácido ascórbico (vitamina C), foram inferiores aos observados por Segatto (2007), que em frutos de acessos de pimenteira oriundos de Viçosa-MG, detectaram teores médios de vitamina C em torno de  $150 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ . Crisóstomo et al., (2008), estudando a caracterização da polpa de pimenta da cultivar Tabasco obtida no município de Paraipaba-CE, obteve valores médios de vitamina C em torno de  $54,70 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ , mostrando que o ambiente interfere nos resultados qualitativos, até no mesmo material vegetal.

A disponibilidade de frutos ricos em vitamina C é importante no tocante à prevenção e manifestação de doenças, tornando o mesmo como um dos componentes nutricionais de maior importância, sendo utilizado como índice de qualidade dos alimentos (Chitarra & Chitarra, 2005).

O conteúdo de vitamina C em frutas e vegetais pode ser influenciado por diversos fatores como diferenças genotípicas, condições climáticas, práticas culturais, maturidade, métodos de colheita e procedimentos de manuseio pós-colheita (Lee & Kader, 2000).

Os teores de sólidos solúveis apresentaram diferença significativa entre as progênies (Tabela 1), apresentando valor médio de 9,38 °Brix, sendo o mínimo de 8,76 °Brix referente à progênie 7 e máximo de 10,38 °Brix para a progênie 3.

**TABELA 1.** Sólidos solúveis (° Brix), pH, acidez titulável (% de ácido cítrico), SS/AT, açúcares solúveis totais (%), ácido ascórbico (vitamina C) ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  de polpa) e carotenoides totais ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$  de polpa) de diferentes progênies (P) de pimenta, Fortaleza-CE, 2011. Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de significância de  $P < 0,05$ .

Progênies	SS	pH	AT	SS/AT	AST	AA	CT
P1	9,28 ab	6,02 ab	0,22 e	41,62 a	1,33 a	15,63 bc	14,69 cde
P2	8,81 b	6,09 a	0,23 e	38,64 ab	1,00 a	26,51 a	8,23 e
P3	10,38 a	5,18 d	0,48 a	21,34 d	1,00 a	17,47 bc	29,90 ab
P4	9,01 b	5,98 ab	0,30 cde	29,54 abcd	1,66 a	20,19 ab	10,70 de
P5	8,78 b	5,75 abc	0,32 bcde	27,46 bcd	1,00 a	17,86 bc	17,40 cd
P6	10,31 a	5,24 d	0,41 ab	24,79 cd	1,66 a	15,77 bc	34,24 a
P7	8,76 b	5,90 ab	0,25 de	34,27 abcd	1,00 a	12,81 c	35,97 a
P8	8,85 b	5,58 bcd	0,26 cde	34,09 abcd	1,00 a	16,77 bc	29,86 ab
P9	9,68 ab	5,18 d	0,35 bcd	27,41 bcd	1,33 a	14,37 bc	28,34 ab
P10	9,91 ab	5,42 cd	0,36 bc	27,57 bcd	1,33 a	19,71 b	22,43 bc
P11	9,40 ab	5,62 abcd	0,28 cde	35,01 abc	1,66 a	18,06 bc	9,92 de
Médias	9,38	5,63	0,31	31,07	1,27	17,74	21,97
CV%	4,54	2,82	10,75	14,83	31,78	12,91	14,07

Os resultados para sólidos solúveis encontrados no estudo foram inferiores aos observados por Segatto (2007), que encontrou teor de 10,38 °Brix em frutos de acessos de pimenteira oriundos de Viçosa-MG.

Crisóstomo et al., (2008), estudando a caracterização da polpa de pimenta da cultivar Tabasco obtida no Ceará, obteve valores médios de sólidos solúveis em torno de 23,01 °Brix.

O teor de sólidos solúveis totais é um índice de qualidade, sendo sua concentração e composição componente indispensável ao sabor e flavor do fruto. Outros parâmetros como pH e acidez titulável da polpa da fruta também são utilizados para indicar a qualidade dos frutos e refletem o estágio de maturação dos mesmos (Santana et al., 2004).

Em relação à acidez titulável, observa-se na Tabela 1, que houve diferença estatística significativa entre as progênes, apresentando grande variação que oscilou entre o mínimo de 0,22 e máximo de 0,48 %.

Os resultados para acidez titulável encontrados no estudo, foram inferiores aos observados por Crisóstomo et al., (2008), com teores médios de 0,48 % em frutos da pimenteira cultivar Tabasco cultivadas em outros municípios do Estado do Ceará. Valverde (2011), verificou que a pimenta malagueta in natura apresentou baixa acidez, com valor médio de 0,03 %, apresentando assim valores inferiores a do referido trabalho.

Oliveira et al., (1999), ressaltaram que a acidez é um importante parâmetro na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício, refletindo processos de decomposição do alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, comparados com o presente trabalho.

Para a relação SS/AT, houve uma grande variação entre as progênes. A progênie 1 apresentou o maior valor de 41,62 e a progênie 3 obteve o menor índice (21,34) (Tabela 1).

Os resultados para a relação SS/AT encontrados no estudo, foram inferiores aos observados por Crisóstomo et al., (2008), que encontraram valores médios de 47,93 em frutos da pimenteira cultivar Tabasco cultivadas em outros municípios do Estado do Ceará.

A quantificação da relação entre o teor de sólidos solúveis totais e a acidez titulável está relacionada com o balanço entre açúcares e ácidos presentes na fruta, sendo importante indicativo do sabor. Ao se estabelecer essa relação, deve-se ter cuidado pelo fato de que algumas frutas, contendo baixos teores de ácidos e sólidos solúveis, apresentam elevadas relações SS/AT, o que pode conduzir a interpretações erradas a respeito da qualidade comestível (Kluge et al., 2002).

Para a variável pH, pode-se verificar, uma pequena variação entre as progênes, oscilando entre 5,18 a 6,09 (Tabela 1).

Os resultados para pH encontrados no estudo, foram superiores aos observados por Crisóstomo et al., (2008), que encontraram valores de 4,75 em frutos da pimenteira cultivar Tabasco cultivadas em outros municípios do Estado do Ceará.

Valverde (2011), verificou que a pimenta malagueta in natura apresentou pH levemente ácido, com valor médio de 5,48, apresentando assim valores semelhantes a do referido trabalho. A medida do pH é um parâmetro importante para a determinação de uma possível e rápida deterioração do produto, devido à

presença e ao crescimento de microrganismos nocivos à saúde.

Os teores médios de carotenoides totais apresentaram diferença estatística significativa. A média geral encontrada foi de 21,97 mg 100g<sup>-1</sup>, ocorrendo uma grande variação entre as progênes, sendo o valor mínimo detectado na progênie 2 (8,23 mg 100g<sup>-1</sup>) e o valor máximo na progênie 7 (35,97 mg 100g<sup>-1</sup>) (Tabela 1).

Os resultados para carotenoides totais encontrados no estudo, foram inferiores aos observados por Crisóstomo et al., (2008), que encontraram valores de 207,57 mg 100g<sup>-1</sup> em frutos da pimenteira cultivar Tabasco cultivadas em outros municípios do Estado do Ceará.

A distribuição dos carotenoides em frutos é extremamente complexa e sujeita à consideráveis variações (Gross, 1987). Alguns dados reportados, afirmam que os carotenoides são geralmente mais concentrados na película do que na polpa de alguns frutos.

Com relação aos açúcares solúveis totais, a média foi de 1,27 % entre as progênes, ocorrendo uma pequena variação, apresentando teor mínimo de 1,00 e máximo de 1,66 %. As progênes 6, 4 e 11 foram as que apresentaram maiores teores de açúcares solúveis totais (1,66%), não diferindo significativamente das demais progênes (Tabela 1).

Esses resultados demonstraram que, quando comparados com outras frutas, a pimenta é um fruto rico em açúcares simples (glicose, frutose e sacarose). Os resultados obtidos das progênes em estudo foram inferiores aos encontrados por Crisóstomo et al., (2008), cujo teor médio de açúcares solúveis totais foi 3,26 % para polpa de pimenta, cultivados em outros municípios do Estado do Ceará.

Segundo Kluge et al., (2002), os açúcares constituem a maior parte dos sólidos solúveis encontrados em frutas. Este fato pode ser observado em pimenta, pois apresenta percentual médio de açúcares solúveis totais (1,27 %) relativamente alto quando comparado com o valor médio de sólidos solúveis (9,38 °Brix). Portanto, o açúcar solúvel total representa a maioria de sólidos solúveis totais em pimenta. No entanto, esse elevado teor de sólidos solúveis obtidos, pode ser também devido à presença de outros compostos presentes em concentrações elevadas em pimentas, tais como: pectinas, fenólicos, vitaminas, sais, ácidos, aminoácidos e algumas proteínas.

## CONCLUSÃO

Os frutos das progênes de pimenteira cultivados no município de São Benedito apresentaram teor médio de sólidos solúveis de 9,38 °Brix, acidez titulável de 0,31 %, pH de 5,63, relação SS/AT de 31,07, carotenoides totais de 21,97 mg 100 g<sup>-1</sup>, açúcares solúveis totais de 1,27 % e teores de ácido ascórbico (vitamina C), com valor médio de 17,74 mg 100 g<sup>-1</sup> de polpa, fator este de grande importância para a indústria.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agência Estado.** 2004. Mercado de pimentas tem boas oportunidades de ganhos. Disponível em: sebraesc.com.br. Acesso em: 15/02/2005.
- AOAC.** 2002. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 17th ed. Washington: AOAC, 1115p.
- Araújo, N.C.** 2005. Formulário de Resposta Técnica Padrão (SBRT). CETEC – Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. Disponível em <<http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt475.pdf> > Acesso em 18/07/2006.
- Bontempo, M.** 2007. Pimenta e seus benefícios à saúde – Marcio Bontempo. São Paulo: Alaúde Editorial.
- Chitarra, A.B. & M. Chitarra.** 2005. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio, Lavras: UFLA, 2ª edição, 2005, 785p.
- Crisóstomo, J.R., R.F. Furtado, P.D. Barreto & F.R. Miranda.** 2008. Cultivo de Pimenta Tabasco no Ceará. In: MELO, M. A. R. (Ed.). Pesquisa e Desenvolvimento para o Agronegócio Pimenta no Ceará. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. p. 1-36.
- Dutra, L.A. Branco, I.G. Madrona, G.S. Haminuik, W.I.** 2010. Avaliação sensorial e Influência do tratamento térmico no teor de ácido ascórbico de sorvete de pimenta. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 04, n. 02: p. 243-251.
- Filgueira, A.R.** 2000. Novo Manual de Olericultura – Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 402 p.
- Gross, J.** 1987. Pigments in fruits. London: Academic Press, 303p.
- Higby, K.A.** 1962. Simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene-fortified orange juice. Journal of Food Science, Chicago, v. 27, p.42-49.
- Ial.** 1985. Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3. ed. São Paulo, v.1, 533p.
- Kluge, R.A. Nachtigal, J.C. Fachinello, J.C. Bilhalva, A.B.** 2002. Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado. Campinas: Rural, 214p.
- Lee, S.K. Kader, A.A.** 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biology and Technology, 20, 207-220.
- Oliveira, A.L. Brunini, M.A. Salandani, C; A.R. Bazzo, F.R.** 1999. Caracterização tecnológica de jaboticabas “Sabará” provenientes de diferentes regiões de cultivo. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal. v. 25, n. 3, p. 397–400.
- Santana, L; R.R. Matsuura, F; C.A.U. Cardoso, R.L.** 2004. Genótipos melhorados de mamão (*Carica papaya* L.): avaliação sensorial e físico-química dos frutos. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 24: 217-222.
- Segatto, F.B.** 2007. Avaliação da qualidade de pimenta ornamental (*Capsicum annuum* L.) cultivada em vaso. Tese (Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Viçosa (UFV).
- Strohecker, R. Henning, H.M.** 1967. Analisis de vitaminas: métodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo, 1967.
- Topuz, A. Ozdemir, F.** 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. Journal of Food Composition and Analysis, v. 20, n. 7, p.596–602.
- Valverde, M.V.** 2011. Composição bromatológica da pimenta malagueta in natura e processada em conserva. 54f. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos- Engenharia de Processos de Alimentos), UESB, Itapetinga-BA.
- Yemn, E.W. Willis, A.J.** 1954. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. The Biochemical Journal, London, v. 57, p. 508-514.