

CLARIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO SUCO DE CAJU¹

MEN DE SÁ M. SOUZA FILHO², GERALDO ARRAES MAIA³, LUCIANO FLÁVIO F. DE HOLANDA⁴,
HUMBERTO FERREIRA ORIA⁵, GERARDO SÉRGIO F. DE OLIVEIRA
e RAIMUNDO WILANE DE FIGUEIREDO⁶

RESUMO - No presente trabalho foram empregados como matéria-prima clones de cajueiro (*Anacardium occidentale*, L.) anão, desenvolvidos pela Estação do Litoral da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Ceará (EPACE), localizada em Pacajus, CE. Realizou-se a clarificação do suco de caju empregando-se como agente clarificante enzima pectinolítica e gelatina. O estudo de estabilidade do produto foi realizado através de determinações químicas e físico-químicas em intervalos de 30 dias, durante 120 dias de armazenagem. Realizou-se análise sensorial do produto após o processamento e com 120 dias de armazenagem. O produto apresentou boa estabilidade com relação às determinações químicas e físico-químicas, além de ausência total de turvação durante todo o período de armazenagem.

Termos para indexação: clones de cajueiro-anão, suco clarificado, processamento, estabilidade.

ENZYMATIC CLARIFICATION OF CASHEW JUICE

ABSTRACT - Clones of dwarf cashew developed by the Litoral Experiment Station of the Ceará State Agricultural Research Institution (EPACE), in Pacajus, CE, Brazil, was used in this work. For clarification of the cashew juice, gelatin and a pectinolytic enzyme were used as the clarifying agent. The stability study of the product was done by chemical and physico-chemical determinations at intervals of 30 days during a storage period of 120 days. Sensorial analysis of the product was made just after clarification process and 120 days storage time. The resulting product showed a good stability in regard to the chemical and physico-chemical determinations as well as the total absence of dimness through the storage period.

Index terms: dwarf-cashew clones, clarified juice, processing, stability.

INTRODUÇÃO

Estudos relacionados com a estabilidade do suco integral de caju durante a armazenagem foram realizados por Marvaldi Garcia (1966), Holanda et al. (1972) e Telles (1974). Holanda et al. (1972) mostraram, em escala industrial, que o suco integral apresentava boa esta-

bilidade de suas características químicas e físico-químicas durante quatro meses de armazenagem.

Augustin (1982), na obtenção do xarope de suco de caju, empregou diversos agentes clarificantes, como: gelatina e hidróxido de cálcio, gelatina, pectina, e hidróxido de cálcio e polivinil pirrolidone (PVP). Os resultados mostraram ser o (PVP), na concentração de 0,12 a 0,14%, o melhor reagente para a remoção da adstringência causada pelos taninos.

Segundo Aitken (1975), Becze (1965) e Blouin & Barthe (1963), citados por Guimarães (1985), as enzimas pectinolíticas são amplamente utilizadas no processamento de frutas, principalmente na clarificação e produção de vinhos para melhorar a aparência,

¹ Aceito para publicação em 28 de janeiro de 1991.

² Eng. - Quím., M.Sc., Técnico do Núcleo de Tecnologia Industrial do Estado do Ceará (NUTEC), CEP 60000 Fortaleza, CE.

³ Eng. - Agr., Ph.D., Prof., UFC, Caixa Postal 3038, CEP 60000 Fortaleza, CE.

⁴ Químico-Industrial, Prof., UFC.

⁵ Farmacêutico, M.Sc., Prof., UFC.

⁶ Eng. - Agr., M.Sc., Prof., UFC.

além de resultar aumento de rendimento.

Marshall (1947), citado por Guimarães (1985), considera o método enzimático de clarificação de sucos como o mais eficiente.

De acordo com Fennema (1982), a formação de turvação ou de sedimentos, e a deterioração oxidativa da cerveja, vinhos e muitos sucos de frutas, são problemas conhecidos há muito tempo, intervindo neste fenômeno as substâncias fenólicas naturais. O mesmo autor comenta que as proteínas e as substâncias pécnicas participam, juntamente com os polifenóis, na formação dos colóides que originam a turvação. Por sua própria natureza, as pectinas são substâncias coloidais, o que faz com que suas soluções sejam viscosas, permitindo ou facilitando naturalmente que outros compostos ou materiais também fiquem em suspensão (Park & Papini 1968).

Park & Papine (1968) afirmam que o turvamento dos sucos de frutas dificilmente é removido por filtração, porque esses sucos contêm bastante material mantido em suspensão pela ação coloidal da pectina da fruta original. Ao contrário, o suco de frutas, previamente tratado por enzimas pécnicas, é facilmente clarificado por filtração, sendo que a adição dessas enzimas não altera a cor nem o gosto do suco final.

Na elaboração de suco de maçã concentrado, é necessária e indispensável a adição de enzimas pectinolíticas para remover toda a pectina; caso contrário, haverá a formação de gel, o que depreciará esse produto.

De acordo com Neubeck (1959), o tratamento comercial do suco de maçã geralmente inclui um tratamento com gelatina para clarificação. A gelatina reage com o tanino presente no suco, formando um complexo gelatina-tanino, que irá depositar-se na forma de um precipitado.

Pollard et al. (1958), em suas citações, fazem referência à capacidade de compostos fenólicos dos frutos de inibirem atividade das enzimas pectinolíticas. A reação dos compostos fenólicos com a gelatina, segundo Neubeck (1959), previne a atividade deles, e por-

tanto pode aumentar a resposta das enzimas pécnicas.

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do processamento e estabilidade do suco de caju clarificado com a combinação de gelatina e enzima pectinolítica.

MATERIAL E MÉTODOS

A matéria-prima utilizada neste trabalho constou de diferentes clones de caju (CP-06, CP-1001, CP-76), desenvolvidos e melhorados na estação de pesquisa do litoral da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará (EPACE), localizada no município de Pacajus, CE.

Os cajus recebidos na Fábrica-Escola do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará foram pesados, lavados com água clorada (5 ppm), descastanhados e selecionados. Após a seleção, os pedúnculos foram desintegrados, e o suco, extraído. No suco extraído, fez-se a clarificação e despectinização com gelatina comercial (Marca Royal) e enzima pectinolítica (complexo enzimático Biopectinase-x, da Biocon do Brasil Ind. Ltda), empregando concentrações pré-determinadas, na condição de 45°C/60 min.

Foram tomadas 15 provetas de 100 ml, adicionando, a cada uma, 100 ml de suco. A seguir, adicionaram-se a cada proveta dosagens crescentes da solução de gelatina a 1%. Operou-se a floculação do suco e filtrou-se o conteúdo de cada proveta para um Erlenmeyer de 250 ml. A partir dos filtrados de cada Erlenmeyer, tomaram-se duas alíquotas de 5 ml e adicionaram-se a tubos de ensaios marcados (tubos A e B). Aos tubos A, adicionaram-se 5 a 10 gotas de solução de gelatina 1%, e aos tubos B, 5 a 10 gotas de solução de tanino 1%, observando-se que:

- quando no tubo que continha gelatina (tubo A) havia formação de turvação, o suco estava pouco clarificado (não havia suficiente gelatina);

- quando no tubo que continha tanino (tubo B) havia formação de turvação, o suco estava clarificado em excesso (continha gelatina acima do necessário);

- quando não havia turvação nos tubos A e B, o suco estava clarificado ao máximo (eliminou-se a maior parte do tanino possível com gelatina). Após a clarificação do suco, procedeu-se à inativação enzimática, aquecendo-se o suco a 90°C/5 min, seguindo-se a filtração em filtros de feltro, para a ob-

tenção do suco clarificado, que foi pré-aquecido a 70°C/3 min, realizando-se, então, o enchimento a quente em garrafas de vidro de 200 ml, e o fechamento com cápsulas metálicas revestidas internamente com plástico. Seguindo-se ao fechamento, realizou-se o aquecimento a 95°C/90 min, para obtenção da cor adequada para este tipo de produto, sendo então resfriado por imersão em água até a temperatura ambiente (28°C) e estocado nesta temperatura por um período de quatro meses. O fluxograma da Fig. 1 mostra a seqüência do processamento do suco clarificado de caju.

Antes do processamento, estabeleceu-se a dosagem de enzima e de gelatina a ser empregada no processo de clarificação, segundo Andersen (1982/1983). Determinou-se a atividade de pectinesterase no suco com e sem adição da enzima, segundo o método descrito por Kramer & Twigg (1973).

Seguindo-se ao processamento, acompanhou-se a estabilidade do produto por um período de 120 dias,

realizando-se a intervalos de 30 dias as determinações químicas e físico-químicas de: sólidos solúveis (^oBrix) em refratômetro marca AUS-JENA; pH em potenciômetro PROCYON modelo pH N-4; Acidez total, açúcares não-redutores, açúcares redutores, de acordo com técnica descrita por Instituto Adolfo Lutz (1976); açúcares totais, pela soma dos redutores e não-redutores; Vitamina C segundo método colorimétrico de Pearson (1976); Taninos segundo método colorimétrico de Folin-Denis - Association of Official Analytical Chemists (1975), e Pigmentos solúveis em água (P.S.A.) segundo técnica descrita por Maia et al. (1978).

Na análise estatística dos resultados da estabilidade do suco clarificado, empregou-se a análise de variância conforme Pimentel-Gomes (1973), levando em consideração o tempo de armazenagem.

A análise sensorial do produto foi realizada após o processamento e com 120 dias de armazenagem, empregando a escala hedônica estruturada de sete pontos segundo Chaves (1980) e o teste de Wilcoxon das ordens assinaladas segundo Campos (1979). Empregou-se, na análise sensorial, uma equipe de dez provadores treinados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Tabelas 1, 2 e 3, observam-se respectivamente, os dados referentes às dosagens de gelatina, enzima pectinolítica e determinação da atividade de pectinesterase no processo de clarificação do suco de caju.

Os resultados das determinações químicas e físico-químicas na estabilidade do suco clarificado são apresentados na Tabela 4.

Para os sólidos solúveis (^oBrix), observou-se um aumento nos primeiros 30 dias de armazenagem, apresentando-se, a seguir, bastante estável até os 120 dias de armazenagem. Através do estudo da análise de variância, verificou-se que os valores dos sólidos solúveis no suco clarificado não diferem estatisticamente aos níveis de 1% e 5% de significância, ao longo dos 120 dias de armazenagem.

Os valores obtidos para o pH do suco clarificado durante os 120 dias de armazenagem mostraram boa estabilidade, sendo as pequenas variações encontradas provavelmente por diferenças na homogeneização do produto. Os

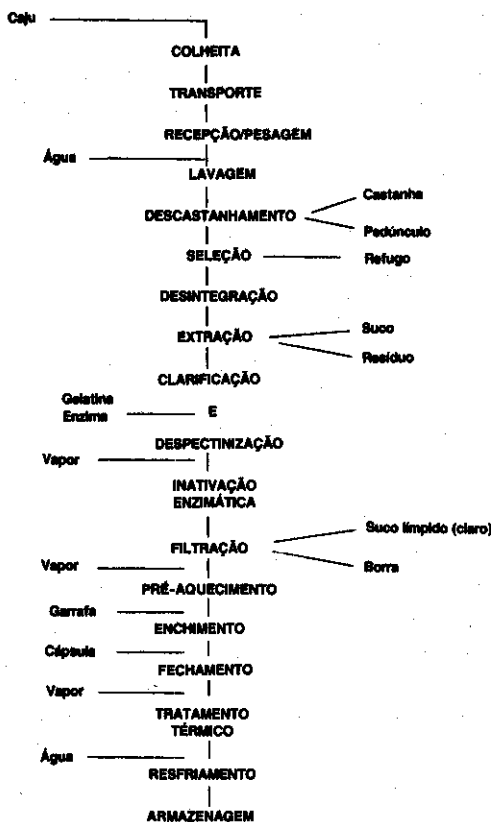


FIG. 1. Fluxograma das operações seguidas para obtenção do suco clarificado de caju (*Anacardium occidentale*, L.).

TABELA 1. Dosagens de gelatinas ensaiadas na clarificação do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.).

Proveta nº	Dosagem de gelatina			Form. turvação*			
	sol gel 1% = (g/hl) = (ppm)			Tubo A	Tubo B		
1	0,5	=	5	=	50	+	--
2	1,0	=	10	=	100	+	--
3	1,5	=	15	=	150	+	--
4	2,0	=	20	=	200	+	--
5	2,5	=	25	=	250	+	--
6	3,0	=	30	=	300	+	--
7	4,0	=	40	=	400	+	--
8	5,0	=	50	=	500	+	--
9	6,0	=	60	=	600	+	--
10**	7,0	=	70	=	700	--	--
11	8,0	=	80	=	800	--	+
12	9,0	=	90	=	900	--	+
13	10,0	=	100	=	1000	--	+
14	11,0	=	110	=	1100	--	+
15	12,0	=	120	=	1200	--	+

* Os sinais + e - indicam a formação, ou não, respectivamente, de turvação nos tubos de ensaio.

** Dosagem de gelatina usada para obtenção do suco clarificado de caju.

TABELA 2. Determinação da presença ou ausência de pectina no suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) após o tratamento com enzima Biopectinase-X no processo de clarificação.

Dosagem de enzima (mg/litro de suco)	*Pectina (teste de álcool)
0	+
30	+
60	+
90	+
120**	--
150	--
180	--
200	--

* O sinal + e - indicam presença e ausência de pectina no suco respectivamente.

** Dosagem escolhida para o processo de clarificação do suco.

TABELA 3. Atividade da Pectinesterase na clarificação do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) com enzima Biopectinase - x.

Dosagem de enzima (mg/litro de suco)	(PEu x 10 ⁴)/ (g. sólidos solúveis)
0	0,55
120	0,70

resultados da análise de variância mostraram não haver diferenças significativas aos níveis de 1% e 5% para os valores de pH do suco clarificado durante os 120 dias de armazenagem.

Com relação à acidez titulável total, esta apresentou uma relativa estabilidade durante os 120 dias de armazenagem, com exceção do valor encontrado aos 60 dias, que, provavelmente, deveu-se a problemas na amostragem. A análise de variância dos dados obtidos aos níveis 1% e 5% não apresentam variações estatisticamente significativas ao longo do período de 120 dias de armazenagem.

Os açúcares redutores apresentaram valores máximos e mínimos de (9,62%) e (8,74%), obtidos, respectivamente, aos 120 dias e 90 dias após o processamento.

Para os resultados dos açúcares não-redutores, observou-se valor máximo de 0,78% e mínimo de 0,48%, respectivamente, verificado aos 120 dias e no período inicial do processamento. Através da análise de variância, verificou-se que os valores dos açúcares não-redutores no suco clarificado não apresentaram variações estatisticamente significantes, aos níveis de 1% e 5% ao longo do período de armazenagem.

Com relação ao teor de açúcares totais, observou-se um comportamento semelhante ao dos açúcares não-redutores. Pelo resultado da análise de variância, verificou-se não haver diferença significativa aos níveis de 1% e 5%, durante o período de armazenagem.

Para o teor de taninos, determinaram-se valores de (138,60 mg/100 ml) e (100,00 mg/100 ml) como máximo e mínimo, respec-

TABELA 4. Estudo da estabilidade das determinações químicas e físico-químicas do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) clarificado* com enzima pectinolítica + gelatina por um período de 120 dias de armazenagem.

Determinações**	Tempo de armazenagem (dias)				
	Zero	30	60	90	120
Sólidos solúveis (°Brix)	10,40	11,20	11,00	11,00	11,10
pH	4,25	4,35	4,40	4,30	4,40
Acidez total (%)	0,29	0,30	0,25	0,28	0,30
Açúcares redutores (%)	9,56	9,01	8,99	8,74	9,62
Açúcares não redutores (%)	0,48	0,59	0,76	0,54	0,78
Açúcares totais (%)	10,04	9,60	9,75	9,28	10,40
Taninos (mg/100 ml)	110,00	138,60	122,00	123,50	100,00
Vitamina C (mg/100 ml)	136,00	130,00	132,00	128,00	112,50
P.S.A.*** (420 nm)	81,00	80,00	80,50	82,00	81,50

* 700 ppm de gelatina + 120 mg de enzima biopectinase - x/litro de suco.

** Média de três determinações.

*** Pigmentos solúveis em água.

tivamente, observados aos 30 e 120 dias após o processamento. Verificou-se uma redução no teor de taninos de 50,45%, quando relacionado com o teor apresentado pelo suco integral (222,00 mg/100 ml), logo após o processamento.

Uma redução no teor de taninos apresenta aspectos benéficos quando se levam em conta as afirmações de autores como Reddy & Gonzalez (1985) e Mondragon & Gonzalez (1977) citado por Rodrigues (1986).

Mondragon & Gonzalez (1977) comentam que, em virtude de sua estrutura polifenólica, o tanino é capaz de interagir com proteínas, formando complexos que tendem a ser mais fortes com o aumento do peso molecular do polifenol. O complexo se forma a partir dos grupos -OH do polifenol e dos grupos =CO das ligações peptídicas das proteínas.

Reddy & Gonzalez (1985) comentam que entre os efeitos deletérios dos vários tipos de taninos estão: diminuição da ingestão dos alimentos, formação de taninos complexos com proteínas, carboidratos e outros polímeros em alimentos, e também íons metálicos, como Fe, em condições adequadas de pH, inibição de

enzimas digestivas e aumento de excreções de proteínas endógenas.

Os resultados da análise de variância indicaram, aos níveis de 1% e 5% de significância, não haver diferenças significativas para os taninos ao longo do período de armazenagem.

Com relação ao teor de ácido ascórbico, observou-se um valor máximo de (136,00 mg/100 ml) e mínimo de (112,50 mg/100 ml) respectivamente no período zero e 120 dias após o processamento. Verificou-se um decréscimo de 17,28% no teor de ácido ascórbico ao longo dos 120 dias de armazenagem, e uma perda de 23,60% em relação ao valor estabelecido no suco integral (178,00 mg/100 ml) logo após o processamento, certamente devido a etapas do processamento, como: clarificação, filtração, tratamento térmico, oxidação que ocorre durante a armazenagem, etc.

Sastry et al. (1963), citados por Telles (1974), estudando o efeito do armazenamento sobre o teor de ácido ascórbico no suco de caju clarificado e pasteurizado, observaram, no fim de um período de 32 semanas, uma perda

entre 49 e 66% a 37°C e de 29 a 53% à temperatura ambiente.

Examinando os resultados da análise de variância verificou-se não haver diferenças significativas aos níveis de 1% e 5% para o ácido ascórbico durante os 120 dias de armazenagem.

Quanto aos pigmentos solúveis em água, verificou-se que durante o armazenagem o suco clarificado apresentou boa estabilidade. A análise de variância indicou, ao nível de 1% e 5%, não haver diferenças significativas durante o período de armazenagem.

A Tabela 5 apresenta os valores atribuídos pelos dez provadores ao suco clarificado de caju, com relação aos aspectos de cor e sabor, quando recém-processados e após 120 dias de armazenagem. Verificou-se que houve um acréscimo na média dos valores atribuídos pelos provadores no suco clarificado recém-processado e após 120 dias de armazenagem, obtendo-se, respectivamente, valores de 4,4 e 5,5, que correspondem, na escala hedônica, a "indiferente" e "gostei ligeiramente".

Com relação aos valores percentuais, verifica-se, na Tabela 6, que houve um acréscimo

TABELA 5. Valores atribuídos por dez provadores para o suco clarificado (cajuína) de caju (*Anacardium occidentale*, L.) recém-processado e após 120 dias de armazenagem.

Provador	Valores atribuídos	
	Recém-processado	120 dias após o processamento
P ₁	1	5
P ₂	5	6
P ₃	5	7
P ₄	5	6
P ₅	5	5
P ₆	5	4
P ₇	3	6
P ₈	3	6
P ₉	6	6
P ₁₀	6	4

de 20% para 50% no valor atribuído, 6,0, que corresponde, na escala hedônica, a "gostei moderadamente", e um decréscimo de 50% para 20% do valor 5,0, que corresponde a "gostei ligeiramente" na escala hedônica após os 120 dias de armazenagem.

Para detectar a preferência, ou não, do suco clarificado com o tempo de armazenagem, empregou-se o teste de Wilcoxon das ordens assinaladas onde o valor calculado foi de $w = 44,5$, concluindo que não existe preferência significativa ao nível de 5% para o suco clarificado de caju quanto ao tempo de processamento.

TABELA 6. Resultados percentuais da análise sensorial do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) clarificado como enzima + gelatina, recém-processado e após 120 dias de processamento.

Valores atribuídos*	Recém-processado		120 dias de armazenagem	
	Nº provadores**	%	Nº provadores**	%
7	-	-	1	10
6	2	20	5	50
5	5	50	2	20
4	-	-	2	20
3	2	20	-	-
2	-	-	-	-
1	1	10	-	-

* Valores atribuídos ao suco clarificado de acordo com a escala hedônica utilizada.

** Equipe constituída de dez provadores treinados.

CONCLUSÕES

1. O suco clarificado apresentou boa estabilidade durante os 120 dias de armazenagem com relação às determinações químicas e físico-químicas.

2. De acordo com os resultados da análise de variância dos sólidos solúveis (°Brix), pH, acidez titulável total, açúcares não-redutores, açúcares totais, ácido ascórbico, taninos e pigmentos solúveis em água, os mesmos não apresentaram diferenças significativas aos ní-

veis de 1% e 5% durante os 120 dias de armazenagem.

3. O suco de caju clarificado com enzima pectinólítica e gelatina não apresentou a formação de sedimentos e turvação, associados à interação de substâncias pécnicas e proteínas com os polifenóis, levando à formação de colóides.

4. Pela aplicação do teste de Wilcoxon das ordens assinaladas, ao nível de 5%, concluiu-se não existir preferência significativa pelo suco de caju clarificado quanto ao tempo de processamento.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, P.E. La clarificación de los zumos de fruta. **Rive**, n.47/49, dic. 1982/feb. 1983. Separata.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (Washington, EUA). **Official methods of analysis**. 20. ed. Washington, 1975. 1094p.
- AUGUSTIN, A. Studies on the clarification of cashew apple for the preparation of cashew syrup. **Indian Journal of Nutrition and Dietetics**. v.19, p.169-172, 1982.
- CAMPOS, H. **Estatística Experimental não paramétrica**. 3. ed. Piracicaba, SP: [s.n.], 1979. 343p.
- CHAVES, J.B.P. **Avaliação sensorial de alimentos**. Métodos de análises. Viçosa: UFV, 1980. 69p.
- FENNEMA, O.R. **Introducción a la ciencia de los alimentos**. Barcelona: Editorial Reverter S.A., 1982. v.2, p.565-567.
- GUIMARÃES, A.C.L. **Utilização de enzimas pectolíticas no processamento de suco de maracujá integral**, Fortaleza, CE: Universidade Federal do Ceará, 1985. 100p. Tese de Mestrado.
- HOLANDA, L.F.F.; MOURAFÉ, J.A.; MARTINS, C.B.; MAIA, G.A. Resultados preliminares sobre a estabilidade do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.). **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, CE, v.2, n.1, p.45-47, 1972.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1976. v.1, 371p.
- KRAMER, A.; TWIGG, B.A. **Quality control for the food industry**, 3. ed. [S.I.]: The AVI Publishing Company, INC., 1973. v.2, p.254-255.
- MAIA, G.A.; OLIVEIRA, G.S.F.; TELLES, P.R.S. **Aproveitamento industrial da banana; estudo de métodos de processamento e estabilidade da banana passa**. Fortaleza: Núcleo de Tecnologia Industrial, 1978. 28p.
- MARVALDI GARCIA, E.J. **Industrialización del Meruy, Caracas**. Venezuela: Universidad Central de Venezuela, 1966.
- NEUBECK, C.E. Pectic enzymes in fruit juice technology. **Journal of the Association Official Agricultural Chemists**, v.42, n.2, p.374-388, 1959.
- PARK, Y.K.; PAPINE, R.S. Produção de enzimas industriais e sua aplicação no processamento de alimento. **Boletim do Centro Tropical de Pesquisa e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.16, p.55-80, 1968.
- PEARSON, D. **Técnicas de laboratório para el análisis de alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1976. 331p.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 5. ed. Piracicaba, SP: Esc. Sup. Agric. Luiz de Queiroz, 1973. 430p.
- POLLARD, A.; KIESER, M.G.; SISSONS, D.J. Inactivation of pectic enzymes by fruit phenolics. **Chemistry and Industry**, v.30, p.952, 1958.
- REDDY, N.R.; GONZALEZ, D.I. Dry bean tannin: A review of nutritional implications. **Journal of American Official Chemistry Society**, v.62, n.3, p.541-549, 1985.
- RODRIGUES, M.A.C. **Formulação de produtos alimentícios à base de misturas de feijão caupi (*Vigna unguiculata*, (L.) Walp) e sorgo granífero (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1986. 109p. Tese de Mestrado.
- TELLER, P.R.S. **Estudo do processamento do suco de caju**. Campinas: Fac. de Engenharia de Alimentos e Agrícola - UNICAMP, 1974. Tese de Mestrado.