Processamento e avaliação físico-química do fermentado de caju + umbu-cajá

Processing and physico-chemical fermented cashew + umbu-caja

Clotildes Alvino Leite, Mércia Melo de Almeida, Manoel Ferreira Alves e Maria José Silveira da Silva

RESUMO - O Brasil é um dos maiores produtores de frutos de origem tropical, destacando-se o caju e umbu-cajá pelo sabor e aroma exóticos. Uma forma de agregar valor aos frutos e contribuir para o desenvolvimento sustentável da região Nordeste é utilizar os excedentes desses frutos como matéria-prima para produção de bebida fermentada. Desta forma, este trabalho teve como objetivo principal utilizar as polpas de caju e umbu-cajá na elaboração da bebida fermentada, visando à valorização destes frutos. A fermentação alcoólica foi conduzida em biorreator, em sistema de batelada, a temperatura de 25°C ± 2°C. Foi realizado o estudo da cinética da fermentação alcoólica na elaboração da bebida fermentada utilizando a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Na bebida fermentada avaliou-se o teor de açúcares solúveis totais, pH, teor alcoólico, alcoóis superiores, acetaldeído, acetato de etila e metanol. De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que a bebida fermentada apresentou uma concentração de etanol (10,7°GL) dentro das especificações exigidas pela legislação brasileira acerca de bebidas. A concentração de metanol foi de 57,50 mg/L. O teor residual de açúcares solúveis totais de 0,33 g/L classificou a bebida como fermentado do tipo seco.

Palavras-chave: Anacardium occidentale L., Spondias spp, açúcares totais, fermentação alcoólica, vinho.

ABSTRACT - Brazil is a major producer of fruits of tropical origin, especially cashews and umbu-caja by exotic flavor and aroma. One way to add value to the fruits and contribute to sustainable development in the Northeast is to use the surplus of these fruits as raw material for production of fermented beverage. Thus, this work aimed to use the pulp and cashew umbu-caja in preparing the brew aimed at increasing these fruits. The fermentation was conducted in a bioreactor in batch system, the temperature of 25 ° C \pm 2 ° C. We carried out a study of the kinetics of alcoholic fermentation in the preparation of fermented beverage using the yeast Saccharomyces cerevisiae. In brew evaluated the content of total soluble sugars, pH, alcohol content, higher alcohols, acetaldehyde, ethyl acetate and methanol. According to the results, it was concluded that the fermented beverage had a concentration of ethanol (10.7 ° GL) within the specifications required by the Brazilian legislation concerning drinks. The methanol concentration was 57.50 mg / L. The residual soluble sugars of 0.33 g / L rated the drink as fermented dry type.

Keywords: Anacardium occidentale L., Spondias spp, total sugars, fermentation, wine

INTRODUÇÃO

A produção mundial da maioria dos frutos tropicais de importância econômica encontra-se quase que totalmente distribuída nas zonas tropicais e subtropicais dos países menos desenvolvidos. Nessas regiões, os frutos se apresentam como importante componente da dieta, contribuindo principalmente como fontes de vitaminas e

outros nutrientes (SANCHO *et al.*, 2007). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma produção que supera os 41 milhões de toneladas, perdendo apenas para China e Índia (ANUÁRIO, 2008).

O caju é uma fruta tropical, cuja produção no Brasil, está concentrada no Nordeste, sendo de grande importância social e econômica para a região. A

Recebido em 12 12 2012 aceito em 30 03 2013

 $Graduada\ em\ Engenharia\ de\ Alimentos\ da\ UFCG,\ CCTA-Pombal-PB\ e-mail: \underline{cloalvino@gmail.com}$

Profa. D. Sc. da UFCG, CCTA – UATA - Pombal – PB e-mail: mercia01@gmail.com Prof. D. Sc. da UFPB, CT – DEQ – João Pessoa – PB e-mail: manfalves@yahoo.com.br Aluna de graduação em Engenharia de Alimentos da UFCG, CCTA – Pombal – PB

agroindústria do caju no Nordeste produz cerca de 220 toneladas de castanha e 2 milhões de toneladas de pseudofruto, a parte carnosa e suculenta do caju, por ano. Apesar da potencialidade do pseudofruto como matéria-prima para diversos produtos, cerca de 90% da sua produção é descartada todos os anos, em função da sua alta perecibilidade e pelo fato do principal negócio do caju ser a comercialização da amêndoa. Entretanto, por ser rica em vitamina C e compostos fenólicos, substâncias com alto potencial antioxidante, tem despertado o interesse de diferentes grupos de pesquisa (CIANCI *et al.*, 2005).

A umbu-cajazeira (*Spondias* spp) pertence à família Anacardiaceae e ao gênero Spondia considerado um híbrido natural entre o umbuzeiro e a cajazeira e tem origem desconhecida, apresentando características de planta xerófita encontrada em plantios desorganizados disseminado em estados do Nordeste. Na Paraíba, esta espécie se encontra distribuída do litoral ao sertão, sendo que, na região do Brejo, são encontrados os exemplares mais exuberantes (LOPES, 1997).

De acordo com a literatura, os frutos do caju e umbu-cajá apresentam quantidades apreciáveis de açúcares solúveis, os quais podem ser utilizados em processos biotecnológicos (fermentação alcoólica), fazendo com que estas culturas sejam mais valorizadas.

A legislação brasileira estabelece que o fermentado de fruta é uma bebida com graduação alcoólica de quatro a quatorze por cento em volume, a vinte graus Celsius, obtida da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura (BRASIL, 1997).

Os vinhos ou fermentados de frutas são divididos em três classes no que se refere à quantidade de açúcares residuais. A primeira classe apresenta os vinhos do tipo seco, com até 5 g/L de açúcares totais, a segunda entre 5,1 e 20 g/L são do tipo meio seco e a terceira e última é a classe dos vinhos suaves ou doces com mais de 20,1 g/L (ALMEIDA, 2007).

Diante do exposto, percebe-se que esses frutos possuem grande potencial de aproveitamento na elaboração de bioprodutos, como por exemplo, a bebida fermentada, utilizando frutos abundantes na região Nordeste do Brasil. Sendo assim, este trabalho teve como meta utilizar o caju e o umbu-cajá na elaboração de bebida fermentada, buscando obter um produto de maior valor agregado.

MATERIAL E MÉTODOS Matéria-prima

Os frutos de caju e umbu-cajá foram adquiridos em feira livre da cidade de Patos e selecionados de acordo com o estado de maturação, escolhendo-se os frutos sadios e maduros. Os frutos foram imersos em água clorada na concentração de 20 ppm durante 15 minutos, e,

em seguida, foi feita uma nova lavagem em água corrente visando eliminar os resíduos de cloro remanescente da lavagem anterior. A separação da polpa da parte fibrosa (resíduo) foi através de uma filtragem em tecido de algodão limpo, a mesma foi armazenada para ser utilizada na produção da bebida fermentada.

Etapas da produção de bebida fermentada de caju + umbu-cajá

Clarificação e filtração da polpa

Inicialmente, a polpa foi retirada do freezer e descongelada em temperatura ambiente, para fazer a clarificação da mesma. A etapa de clarificação consiste na remoção da pectina que é um polissacarídeo encontrado em níveis mais elevados em frutos de origem tropical. Sua presença no mosto pode ocasionar o surgimento de uma substância tóxica, o metanol que se ingerida pode causar danos à saúde. A clarificação foi realizada com solução de gelatina a 10% (comercial, incolor e inodora, Royal), numa proporção de 10 mL/litro de suco, adicionando-a ao e homogeneizando. 10 minutos, suco Após aproximadamente, observou-se uma floculação da gelatina com a pectina.

Em seguida foi feita a filtragem através de tecidos de algodão previamente limpos, obtendo-se um mosto clarificado e com um aspecto límpido.

Sulfitação e inóculo

A sulfitação foi realizada com a finalidade de fazer a desinfecção do meio, prevenindo a ocorrência de situações indesejáveis durante a fermentação, como a proliferação de microrganismos. O metabissulfito de potássio, foi adicionado ao mosto numa concentração de 3 gramas para cada 10 litros de suco clarificado.

Chaptalização (Correção do açúcar)

A chaptalização é a etapa do processo em que se adiciona a sacarose (C₆H₁₂O₁₁), açúcar comercial (que é o substrato limitante para a levedura) ao mosto, para se obter um produto com a graduação alcoólica dentro das especificações exigidas pela legislação brasileira (BRASIL, 1997). Geralmente, a chaptalização é feita quando o fruto não tem quantidades suficientes de açúcares ou quando se deseja uma bebida com graduação alcoólica elevada (fermentados secos). Foram adicionados 210 gramas de sacarose para cada litro de suco. Esta quantidade foi dividida em duas partes, onde a primeira adição foi de 30 g/L, a segunda adição (180 g/L) só foi feita após ter sido consumida, aproximadamente, toda a sacarose primeiramente adicionada. Esta divisão é feita

para evitar a inibição do microrganismo pelo o substrato (SILVA, 2004).

Microrganismo utilizado

O microrganismo utilizado no processo fermentativo foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico comercial, marca Fleischmann, 70% de umidade); esse é utilizado por ser mais acessível e de fácil manipulação. Foram adicionadas 20 gramas do inóculo para cada litro de mosto.

Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica foi conduzida em biorreatores de polietileno em sistema de batelada simples com capacidade de 7,5 litros. O volume de mosto a fermentar foi de 6,6 litros e os experimentos foram realizados em duplicata.

Durante a primeira fase da fermentação alcoólica realizou-se a cada 2 horas o controle das seguintes variáveis: concentração de açúcares solúveis totais (AST); sólidos solúveis totais (SST), temperatura; pH; teor alcoólico e concentração celular, até que o °Brix do mosto ficasse constante.

Posteriormente, adicionaram-se os 180 g/L restantes de sacarose (segunda chaptalização) iniciando a segunda etapa da fermentação alcoólica, fazendo-se novamente o controle de todas as variáveis observadas na primeira etapa até que o valor do °Brix ficasse constante.

Decantação e trasfega

Finalizada a fermentação, o vinho foi levado à geladeira por 7 dias para facilitar a decantação da levedura. Após 7 dias foi feita à primeira trasfega do vinho (transferir a bebida para outro recipiente), depois de 30 dias, foi feita a segunda trasfega até que se elimine a maior quantidade de levedura possível.

A trasfega consiste na remoção das partículas sólidas em suspensão, que, caso não sejam removidas, podem dar origem a produtos de odor desagradável, como

 H_2S (ácido sulfídrico) ou mercaptana, os quais depreciam o vinho (AQUARONE; ZACANARO JÚNIOR, 1983).

Engarrafamento e pasteurização

O engarrafamento foi realizado em garrafas tipo PET, as quais foram bem vedadas com fita plástica adesiva, evitando-se vazamento e entrada de oxigênio.

O processo de pasteurização visa à eliminação de microrganismos indesejáveis, inclusive resíduos remanescentes do fermento, por choque térmico. A pasteurização ocorreu durante 30 minutos, com água previamente aquecida a uma temperatura de 65°C. O choque térmico foi realizado, com o resfriamento das garrafas em água corrente.

Análises físico-químicas da bebida fermentada

Foram realizadas análises de açúcares solúveis totais (AST) pelo método de Antrona, (TREVELYAN; HARRISON, 1952), sólidos solúveis totais (SST), pH seguindo as metodologias descritas em BRASIL (2005) e teor alcoólico (concentração de etanol) utilizando-se o ebuliômetro.

Análises cromatográficas da bebida fermentada

A bebida fermentada foi analisada para determinar a concentração de alcoóis superiores e voláteis e confrontá-los com a literatura. As análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade de álcool da GIASA S. A. localizada em João Pessoa/PB.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo cinético da produção do fermentado de caju + umbu-cajá

O comportamento cinético das concentrações de açúcares totais (substrato), concentração celular (biomassa) e produto (etanol) em função do tempo podem ser observados na Figura 1, e apresentam as principais variáveis do processo fermentativo.

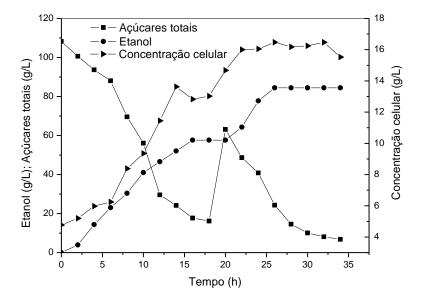


Figura 1 - Cinética do processo de fermentação alcoólica na produção de fermentado de caju + umbu-cajá (Valores médios)

Analisando a Figura 1 verifica-se que durante o processo de fermentação houve redução na concentração de açúcares totais até as 16 horas de fermentação em decorrência do consumo do substrato pelo microrganismo, até atingir níveis próximos de 16 g/L. Após o período de 16 horas adicionou-se a segunda chaptalização o que ocasionou um aumento na concentração de AST de 16,2 g/L para 63,1 g/L. A chaptalização é uma prática realizada em duas etapas visando minimizar a inibição do microrganismo pelo substrato, e já verificada nas pesquisas de Corazza, Rodrigues & Nozaki (2001), Torres Neto *et al.* (2006) e Almeida (2007).

Com o tempo de fermentação, a concentração de AST começou novamente a decrescer, devido ao consumo deste substrato na produção de etanol, e após 25 horas de fermentação a concentração de etanol já atingiu 84,47 g/L que corresponde a 10,7% em volume. Valores semelhantes foram encontrados por Torres Neto *et al.* (2006), Dias, Schwan & Lima (2003) e Almeida (2007) quando produziram fermentados de caju, cajá e mandacaru, obtendo valores de 11,5, 12 e 10,4 °GL, respectivamente.

Observando ainda a Figura 1 observa-se que durante as 6 horas de fermentação a concentração celular lentamente, verificando-se um aumento aumentou exponencial nas primeiras 14 horas de fermentação, indicando que não houve fase de adaptação dos microrganismos ao meio. Na segunda fase fermentação, observou-se uma nova fase exponencial, entre 17 e 26 horas de fermentação, em que ocorre um rápido crescimento celular, seguido da fase estacionária no qual o número de microrganismos permanece praticamente inalterado.

Caracterização físico-química da bebida fermentada do fruto do caju + umbu-cajá

A composição físico-química da bebida fermentada do fruto do caju + umbu-cajá pode ser observada na Tabela1.

Tabela 1 - Resultados das análises físico-químicas da bebida fermentada

Parâmetros analisados	Média ± desvio padrão
Açúcares solúveis totais (g/L)	0.33 ± 0.07
Sólidos solúveis (°Brix)	$5,90 \pm 0,11$
Etanol (g/L); °GL (%v/v)	$84,47;10,7\pm0,04$
pH	$4,0\pm0,07$

O teor residual de açúcares solúveis totais de 0,33 g/L classifica a bebida como fermentado do tipo seco, pois de acordo com Rizzon, Zanuz, & Manfredini (1994) os fermentados com até 5 g/L de açúcares totais são classificados como tipo seco.

A legislação brasileira acerca de bebidas estabelece uma graduação alcoólica de 4°GL a 14°GL para fermentados de frutas (BRASIL, 1997). Com relação ao teor alcoólico do vinho de caju + umbu-cajá produzido, verificou-se que o mesmo está dentro da especificação, ou seja, o vinho obtido apresentou uma graduação alcoólica de 10,7°GL, sendo bem próximo aos teores alcoólicos obtidos por outros pesquisadores para outros fermentados de frutas, p. ex., abacaxi das cultivares Pérola e Smooth cayenne (11,2 e 10,9°GL) (ARAUJO et al., 2009), acerola (11°GL) (SANTOS et al., 2005), laranja (10,6°GL) (CORAZZA; RODRIGUES; NOZAKI, 2001), caju (11,5°GL) (TORRES NETO et al., 2006), cajá (12°GL) (DIAS; SCHWAN; LIMA, 2003) e mandacaru (10,4°GL) (ALMEIDA, 2007).

A bebida fermentada de caju + umbu-cajá apresentou valor de pH (4,0) superior à bebida fermentada do caju obtida por Torres Neto *et al.* (2006) e a bebida fermentada de cajá (DIAS; SCHWAN; LIMA, 2003) que foi de 3,5 e 3,3, respectivamente. O pH 4,0 confere a bebida uma maior resistência às infecções bacterianas (AQUARONE *et al.*, 2001).

O teor de SST de 5,9 °Brix observado no fermentado de caju + umbu-cajá foi abaixo dos valores reportados para o fermentado de laranja (CORAZZA; RODRIGUES; NOZAKI, 2001) que foi de 8 °Brix e próximo ao valor observado por Almeida (2007) de 5,5°Brix ao estudar a fermentação alcoólica do mandacaru.

Na Tabela 2 estão os valores dos compostos voláteis, metanol e alcoóis superiores do fermentado do fruto do caju + umbu-cajá.

Tabela 2 - Resultados da análise cromatográfica da bebida fermentada expressos em mg/L de álcool anidro

Parâmetros analisados	Média ± desvio padrão
Acetaldeído (etanal)	$434,95 \pm 26,23$
Acetato de etila	$88,15 \pm 2,47$
Metanol	$57,50 \pm 4,53$
N-propanol	$77,65 \pm 6,72$
Iso-butanol	$452,30 \pm 31,69$
N-butanol	10.6 ± 0.85
Iso amílico	$1259,2 \pm 41,01$
Alcoóis superiores	$1794,75 \pm 87,33$

A concentração de acetaldeído (etanal), 434,95 mg/L foi inferior ao valor encontrado no fermentado de caju, que apresentou concentração de 690 mg/L (TORRES NETO *et al.* 2006). O acetaldeído é um produto da oxidação do etanol (SALTON; DAUDT; RIZZON, 2000), e também pode ser formado quando o produto for submetido à aeração (arejado ou oxidado) ou a doses elevadas de sulfitação do mosto antes da fermentação alcoólica (TORRES NETO *et al.* 2006).

Na bebida foi observada uma concentração de 88,15 mg/L de acetato de etila, que contribuem para o aroma do produto (GARRUTI, 2001). De acordo com Rizzon, Zanuz e Manfredini (1994), teores elevados de acetato de etila proporcionam gosto acético nos vinhos, prejudicial a sua qualidade. Este teor foi superior ao encontrado no fermentado de caju (46 mg/L) (TORRES NETO *et al.*, 2006) e inferior ao valor encontrado no fermentado de cajá de 250 mg/L (DIAS; SCHWAN; LIMA, 2003).

O metanol é um dos constituintes analisados mais importante, pois sua produção elevada é indesejável. Como se pode observar na Tabela 4.2, o valor do metanol no fermentado de caju + umbu-cajá (57,50 mg/L de álcool anidro) foi inferior ao máximo permitido que é de 500 mg/100 ml de álcool anidro (TORRES NETO *et al.*, 2006), demonstrando que a retirada da pectina do mosto no processo de clarificação foi eficiente.

A concentração de alcoóis superiores foi de 1794 mg/L, sendo este valor inferior a concentração máxima estabelecida pela legislação brasileira que é 4500 mg/L de álcool anidro, assim, o fermentado não ultrapassou o limite máximo permitido e foi inferior ao descrito por Torres Neto *et al.* (2006) (2114 mg/L) encontrado no fermentado de caju e superior ao valor encontrado por Dias, Schwan e Lima (2003) no fermentado de cajá (715 mg/L).

CONCLUSÕES

Os frutos de caju e umbu-cajá utilizados na produção do fermentado de caju + umbu-cajá apresentaram características adequadas para o processamento industrial, reduzindo as perdas póscolheita destes frutos.

A levedura comercial (Saccharomyces cerevisiae) utilizada como inóculo no processo fermentativo foi eficiente na conversão da sacarose em etanol.

A bebida fermentada de caju + umbu-cajá apresentou uma concentração de etanol (10,7°GL) dentro das especificações exigidas pela legislação brasileira, assim como a concentração metanol (57,50 mg/L de álcool anidro).

O teor residual de açúcares solúveis totais de 0,33 g/L classificou a bebida como fermentado do tipo seco

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Mércia Melo de. **Estudo da bioconversão do mandacaru** (*Cereus jamacaru* **P. DC.**) para produção de bioprodutos. Campina Grande: UFCG/CCT, 2007. 145 p. Tese de Doutorado.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008. Editora Gazeta, 2008. 136 p.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2001.

AQUARONE, E.; ZACANARO JÚNIOR, O. Vinagres. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. (coords): Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. São Paulo, v.5, 1983.

ARAUJO, K. G. L.; SABAA-SRUR, A. U. O.; RODRIGUES, F. S.; MAGALHÃES, L. R. T.; CANTO, M. W. Utilização de abacaxi (*Ananas comosus* L.) cv. Pérola e Smooth cayenne para a produção de vinhos: estudo da composição química e aceitabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, mar. 2009. Disponível em http://www.scielo.br/scielo>. acessos em 11 jul. 2011.

BRASIL, Decreto nº 2314, 4 set. 1997, Diário Oficial da União, Brasilia, 05 de set., 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos Físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). IV edição.

CIANCI, F. C.; SILVA, L. F. M.; CABRAL, L. M. C.; MATTA, V. M. Clarificação e concentração de suco de caju por processos com membranas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 25(3): 579-583, jul.-set. 2005. Disponível em http://www.scielo.br > acessos em 09 set. 2011.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, ago. 2001. Disponível em http://www.scielo.br > acessos em 09 set. 2011.

DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; LIMA, L. C. O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, dez. 2003. Disponível em http://www.scielo.br. acessos em 09 set. 2011.

- GARRUTI, D. S. Compostos voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju. Campinas: UNICAMP/FEA, 2001. 218 f. Tese de Doutorado.
- LOPES, W. F. **Propagação assexuada de cajá** (*Spondias mombin* L.) e cajá-umbu (*Spondias spp*) através de estacas. Areia, 1997. 47 p. (Relatório final PIBIC CNPq).
- RIZZON, L. A.; ZANUZ, M. C.; MANFREDINI, S.; Como Elaborar Vinho de Qualidade na Pequena Propriedade, 3. ed., Embrapa: Bento Gonçalves, 1994. 36 p.
- SANCHO, S. O.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W.; RODRIGUES, S.; SOUSA, P. H. M. Alterações químicas e físico-químicas no processamento de suco de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas SP, v. 27, n. 4, p. 878-882, out.-dez. 2007.
- SANTOS, S. C.; ALMEIDA, S. S.; TOLEDO, A. L.; SANTANA, J. C. C.; SOUZA, R. R. Elaboração e Análise Sensorial do Fermentado de Acerola (*Malpighia Punicifolia* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, 5° SIPAL, p. 47-50, mar. 2005.

- SALTON, M. A.; DAUDT, C. E.; RIZZON, L. A. Influência do dióxido de enxofre e cultivares de videira na formação de alguns compostos voláteis e na qualidade sensorial do destilado de vinho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 302-308, 2000.
- SILVA, M. E. Estudos cinéticos da fermentação alcoólica da produção de vinho e da fermentação acética de produção de vinagre de vinho de caju. Campina Grande: UFCG/CCT/DEQ, 2004. 123 p. Dissertação de Mestrado.
- TORRES NETO, A. B.; SILVA, M. E.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F. L. H. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, jun. 2006. Disponível em http://www.scielo.br>. acessos em 09 set. 2011.
- TREVELYAN, W. E.; HARRISON, T. S. Dosagem de glicídeos totais pelo método de antrona. **Journal of Biochemistry**, v. 50, p. 292, 1952.