



Bragantia

ISSN: 0006-8705

editor@iac.sp.gov.br

Instituto Agronômico de Campinas

Brasil

Tosoni da Eira Aguiar, Adriano; Fazuoli, Luiz Carlos; Garcia Salva, Terezinha de Jesus; Favarin, José Laércio

Diversidade química de cafeeiros na espécie *coffea canephora*

Bragantia, vol. 64, núm. 4, 2005, pp. 577-582

Instituto Agronômico de Campinas

Campinas, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90864407>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal  
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

## Nota

# DIVERSIDADE QUÍMICA DE CAFEEIROS NA ESPÉCIE *COFFEA CANEPHORA* <sup>(1)</sup>

ADRIANO TOSONI DA EIRA AGUIAR <sup>(1)</sup>; LUIZ CARLOS FAZUOLI <sup>(2,3)</sup>;  
TEREZINHA DE JESUS GARCIA SALVA <sup>(2)</sup>; JOSÉ LAÉRCIO FAVARIN <sup>(4)</sup>

## RESUMO

Este trabalho teve por objetivo caracterizar seis variedades de *C. canephora* do Banco de Germoplasma de Café do Instituto Agronômico, em Campinas. Para tanto, considerou-se a caracterização química de quarenta e sete exemplares analisando-se as variáveis sólidos solúveis, lipídios, trigonelina, ácidos clorogênicos e cafeína nas sementes. Observou-se a existência de grande variação entre e dentro dos diferentes materiais analisados, com valores extremos de 24,53% a 30,68% para sólidos solúveis; 6,61% a 12,27% para lipídios; 0,73% a 1,59% para trigonelina; 3,30% a 6,30% para ácidos clorogênicos e 1,94% a 3,29% para cafeína, indicando a possibilidade de seleção de plantas de interesse para o melhoramento dessa espécie.

**Palavras-chave:** cafeína, componentes químicos, café robusta, diversidade genética, trigonelina.

## ABSTRACT

### CHEMICAL DIVERSITY IN COFFEE PLANTS OF *COFFEA CANEPHORA*

The objective of this work was to characterize six *C. canephora* varieties from the Coffee Germoplasma Collection of Instituto Agronômico, in Campinas, Brazil. For this a chemical characterization of forty seven examples was performed. Soluble solids, lipids, trigonelline, chlorogenic acids and caffeine contents were evaluated on seeds. The results demonstrated the occurrence of great variation among and within the analyzed materials, with values ranging from 24,53% to 30,68% for soluble solids; 6,61% to 12,27% for lipids; 0,73% to 1,59% for trigonelline; 3,30% to 6,30% for chlorogenic acids and 1,94% to 3,29% for caffeine. These results indicate the possibility of selection of superior plants for the improvement of the specie.

**Key words:** caffeine, chemical components, robust coffee, chemical diversity, trigonelline.

<sup>(1)</sup> Recebido para publicação em 31 de março e aceito em 8 de agosto de 2005.

<sup>(2)</sup> Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio do Café “Alcides Carvalho”, Instituto Agronômico (IAC), Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas (SP). E-mail: aguiar@iac.sp.gov.br; tsalva@iac.sp.gov.br; fazuoli@iac.sp.gov.br

<sup>(3)</sup> Com bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq.

<sup>(4)</sup> Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP, Caixa Postal 9, 13418-900 Piracicaba (SP) E-mail: jlfavari@esalq.usp.br

## Introdução

A espécie *C. canephora* é diplóide, com  $2n=22$  cromossomos (CARVALHO et al., 1991) e se multiplica por fecundação cruzada, principalmente pela ação do vento e insetos. Originária de uma região quente, úmida e de baixa altitude, pode ser encontrada em regiões com até 1.300 m de altitude. Geograficamente, possui amplo local de origem, abrangendo a faixa ocidental, centro-tropical e subtropical do continente africano, especificamente da Guiné à República Democrática do Congo, na costa oeste do continente. Foi introduzida no Brasil por volta do ano de 1920, no Estado do Espírito Santo, com as primeiras sementes sendo plantadas no município de Cachoeiro do Itapemirim.

Suas variedades possuem grande variabilidade em relação às diferentes características agronômicas, morfológicas e tecnológicas, que se devem à própria origem da espécie.

Dentre os diferentes critérios utilizados para estudar a diversidade genética de cafeeiros, destaca-se a utilização de variáveis morfológicas, agronômicas, tecnológicas, isoenzimáticas, citológicas, moleculares, bem como sua região de origem e diversidade.

Este trabalho teve por objetivo caracterizar as diferentes variedades pertencentes a *C. canephora* presentes no Banco de Germoplasma de Café do Instituto Agronômico, em Campinas, mediante a utilização de variáveis químicas de sementes.

## Material e Métodos

Foram utilizadas sementes de 47 plantas pertencentes a seis variedades de *C. canephora* mantidas no Banco de Germoplasma de Café do Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio do Café 'Alcides Carvalho', do Instituto Agronômico - IAC/APTA (Tabela 1), no Centro Experimental de Campinas (antiga Fazenda Santa Elisa), em Campinas (SP). Empregaram-se as seguintes variedades botânicas: Robusta, Bukobensis, Laurentii, Guarini e Kouilou 66, além de uma cultivar de *C. canephora*, denominada Apoatã.

Frutos de cada planta foram colhidos individualmente no estádio de maturação cereja, em 2002. A seguir foram descascados, e as sementes lavadas após fermentação e secas ao sol até a umidade de aproximadamente 11%. Após o beneficiamento, as sementes de café verde foram moídas em moinho da marca Foss-Tecator refrigerado com água, peneiradas em peneira de 0,5 mm (ABNT 35, Tyler 32) e acondicionadas em sacos plásticos até o momento das análises.

**Sólidos solúveis:** A determinação foi feita em 10 g de café verde segundo método nº 15.034 da AOAC (1997).

**Lipídios totais:** A determinação foi feita em 5 g de café verde e constou de extração em cerca de 100 ml de éter de petróleo, seguida de sobrefluxo durante 16 horas em aparato "Butt". A pesagem do material sólido foi feita após secagem durante uma noite em temperatura ambiente e durante 30 minutos em estufa a 105 °C. A concentração de lipídios foi calculada pela diferença entre a massa de café inicial e a desengordurada seca durante 45 minutos em estufa a 105 °C (MAZZAFERA et al., 1998).

**Trigonelina, ácidos clorogênicos e cafeína:** A trigonelina, os ácidos clorogênicos e a cafeína foram extraídos em metanol 70% a 60 °C e quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com adaptação feita em método de CASAL et al. (2000). A eluição foi isocrática com fase móvel composta por metanol: ácido acético: água (30:0,3:69,7; v:v:v), vazão de 1 ml/minuto a 22 °C. A concentração dos compostos foi determinada pela relação entre as áreas dos picos de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico da amostra e a dos respectivos padrões de concentrações conhecidas.

O delineamento adotado para este experimento foi o de blocos ao acaso, sendo os tratamentos arranjados de modo hierárquico. Os resultados foram submetidos à análise da variância pelo programa estatístico MINITAB. Por essa análise foram obtidos os coeficientes e as amplitudes de variação, diferença entre o maior e o menor valor amostral expressa como porcentagem em relação à média da variável em questão. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

**Sólidos solúveis** - De acordo com os resultados (Tabela 1), as variedades poderiam ser divididas em dois grupos: (i) Apoatã, Bukobensis, Laurentii, Guarini e Kouilou 66 e (ii) Robusta. Com relação aos teores de sólidos solúveis obtidos nas variedades Apoatã, Bukobensis, Laurentii, Guarini e Kouilou 66 (grupo i), constatou-se variação de 27,59% a 28,65%. Os maiores valores de sólidos solúveis para cada uma das variedades deste grupo foram: 30,68% para Apoatã; 26,91% para Robusta; 29,71% para Bukobensis; 30,28% para Laurentii; 30,66% para Guarini e 30,28% para Kouilou 66. As amplitudes de variação entre as diferentes variedades ficaram entre 9,3% e 19,8%, respectivamente para Robusta/Bukobensis e Apoatã.

**Tabela 1.** Composição química de sementes das seis variedades de *C. canephora* analisadas

Variedades	Coleção	Número de introdução das plantas*	Sólidos solúveis*	Lipídios*	Triglicerina*	Acidos clorogênicos	Cafeína*
						g / 100 g	
Apoatâ	1	3597-1	27,46	9,80	1,25	5,90	2,49
	2	3597-2	25,40	8,79	1,00	5,06	2,28
	3	3597-3	28,34	8,13	1,04	5,58	2,46
	4	3597-4	25,22	10,49	1,13	5,99	2,30
	5	3597-5	30,68	9,00	1,59	5,12	2,55
	6	3597-6	26,19	8,73	1,33	5,68	2,22
	7	3597-7	27,95	8,55	1,10	6,08	2,50
	8	3597-8	26,43	9,31	1,02	5,31	2,36
	9	3597-9	27,46	10,36	0,94	4,89	2,10
	10	3597-10	28,37	9,18	1,14	5,50	2,69
	11	3597-11	30,56	9,57	0,81	5,66	1,97
	12	3597-12	27,07	10,41	0,89	4,95	2,26
		Média**	27,59 a	9,36 b	1,10 a	5,48 a	2,35 bc
Robusta	5	1564	26,91	10,82	1,01	5,27	2,15
	10	801	25,12	12,27	1,01	5,49	2,00
	12	784	24,53	9,64	0,97	5,68	2,22
			Média**	25,52 b	10,91 a	0,99 a	5,48 a
Bukobensis	1	451	27,19	8,76	1,09	5,89	3,14
	2	-	27,09	10,58	1,27	5,39	2,97
	3	-	28,55	10,19	1,01	5,49	2,85
	5	-	29,71	8,20	0,87	5,37	2,60
			Média**	28,13 a	9,44 b	1,06 a	5,53 a
Laurentii	2	-	28,58	9,80	1,31	5,95	2,57
	3	-	26,63	8,87	1,08	5,79	2,22
	4	-	29,12	8,13	1,03	5,07	3,11
	7	1549	28,87	7,61	0,83	6,04	3,26
	10	786	30,28	9,17	0,93	4,96	2,56
	11	238	26,95	10,98	0,95	5,03	2,53
	13	-	29,72	8,92	1,14	5,87	2,48
			Média**	28,59 a	9,07 b	1,04 a	5,53 a
Guarini	3	782	26,94	9,45	0,97	5,15	2,63
	4	1500	30,66	8,63	0,94	5,51	3,29
	7	979	29,43	8,89	0,89	5,20	2,61
	9	756	27,95	8,18	1,09	5,35	3,08
	12	783	28,11	10,22	1,20	6,30	2,58
	13	-	30,46	8,80	1,33	5,47	3,01
	14	1598	27,03	9,59	1,15	5,57	2,77
	15	-	28,63	10,40	0,93	5,86	3,15
			Média**	28,65 a	9,27 b	1,06 a	5,55 a
			Média**	27,36	7,75	1,28	5,70
Kouilou 66	1	66-1	27,05	7,29	1,17	4,64	2,62
	2	66-2	28,63	6,89	1,10	5,23	3,04
	3	66-3	28,06	7,36	1,13	5,33	2,81
	4	66-4	26,72	6,79	0,88	3,91	2,13
	5	66-5	27,09	6,80	0,78	4,58	2,17
	6	66-6	27,17	7,30	1,04	4,63	2,07
	7	66-7	28,28	6,61	1,14	4,69	2,82
	8	66-8	29,59	8,53	0,73	5,48	2,54
	9	66-9	30,28	8,83	0,96	3,96	2,23
	10	66-10	26,02	7,12	0,74	3,30	1,94
	11	66-11	30,14	7,32	1,05	4,97	2,54
	13	66-13	28,00	6,70	0,76	4,46	2,12
	14	66-14	-	-	-	-	-
			Média**	28,03 a	7,33 c	0,98 a	4,68 b
C.V. %			2,49	3,39	3,96	2,75	2,55

\* Média de duas repetições.

\*\* Médias seguidas por letras diferentes diferem a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

C.V.% = coeficiente de variação.

- = não identificada.

Pelos teores de sólidos solúveis verificados nas plantas da variedade Robusta (grupo ii) contatou-se a menor concentração com 25,52%. Esse valor está de acordo com os resultados obtidos por VENEZIANO e FAZUOLI (2000), os quais estudaram progêneres das mesmas plantas e detectaram teores médios entre 27,9% e 29,4%.

Observa-se pelos resultados que existe a possibilidade de seleção de cafeeiros com altos teores para essa variável, uma vez que desse componente depende o rendimento na indústria do café solúvel além de influenciar o sabor e o corpo da bebida.

**Lipídios** - É conhecido que os lipídios possuem um efeito benéfico na qualidade da bebida do café (aroma e sabor), pois durante a torração, concentram-se nas áreas externas, protegendo o grão de eventuais perdas do componente durante este processo (PIMENTA, 2004). Deve-se salientar também que parte deles são perdidos durante o processo de moagem, explicando porque os cafés que apresentam maiores teores possuem melhor qualidade de bebida.

De acordo com os resultados (Tabela 1), as variedades analisadas poderiam ser divididas em três grupos: (i) Robusta ; (ii) Apoatã, Guarini, Laurentii e Bukobensis e (iii) Kouilou 66.

Os maiores valores de lipídios para cada uma das seis variedades de *C. canephora* foram: 10,49% para Apoatã; 12,27% para Robusta; 10,58% para Bukobensis; 10,98% para Laurentii; 10,40% para Guarini e 8,83% para Kouilou 66. Na variedade Robusta (grupo i), observou-se o maior teor de lipídios, com média de 10,91%, e amplitude de variação de 24,1%.

No que se refere ao teor de lipídios do grupo (ii), composto por Apoatã, Bukobensis, Laurentii e Guarini, ocorreram porcentagens médias entre 9,07% e 9,44%. O menor valor e o maior foram observados, respectivamente, nas variedades Laurentii e Bukobensis.

O teor médio de lipídios verificado na variedade Kouilou 66, grupo (iii), 7,33% e amplitude de variação de 30,3% corrobora com os resultados obtidos por MAZZAFERA et al., (1998) (8,08%). Observa-se que essa variedade ficou caracterizada por possuir o menor valor para a característica.

De acordo com a magnitude de variação encontrada, tanto dentro (amplitude de variação) como entre as variedades, sugere-se que cafeeiros com boas características morfológicas e agronômicas concomitantemente com maior concentração desse composto sejam utilizadas no programa de melhoramento da espécie.

**Trigonelina** - A importância da trigonelina do café está relacionada ao aspecto nutricional, pois durante a torração parte dela transforma-se em ácido nicotínico (vitamina do complexo B), a qual aumenta em até dez vezes sua concentração. De acordo com VIANI e HORMAN (1975), dos inúmeros produtos formados por ela durante a torração, cerca de nove deles são notados no aroma do café. O teor de trigonelina em sementes de cafeeiros varia sensivelmente entre as diferentes espécies do gênero *Coffea*. No entanto, entre as variedades de *C. canephora* avaliadas, as diferenças na concentração desse alcalóide são bastante reduzidas, sugerindo não ser bom parâmetro de discriminação entre variedades dessa espécie.

Observa-se pelos resultados que as variedades não diferiram entre si, a 5% de probabilidade. O menor valor foi quantificado na variedade Kouilou 66, com média de 0,98%, e amplitude de variação de 56,1%. Em posição intermediária, estão as variedades Bukobensis, Guarini, Laurentii e Robusta, que se caracterizaram pelos valores médios entre 0,99% e 1,06%. Em estudo realizado por MAZZAFERA (1990), o autor encontrou valor bastante elevado para Guarini, com média de 3,08%, bem superior ao observado neste estudo. Por outro lado, a variedade Apoatã ficou caracterizada pelo maior valor para esse alcalóide, com média de 1,10% e também a maior amplitude de variação - 70,9%. Em estudo realizado por AGUIAR et al., (2001), foram verificados teores médios de 0,67%.

**Ácidos clorogênicos** - Segundo AMORIM e SILVA (1968), os compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos exercem uma ação protetora, antioxidante dos aldeídos. Assim, em virtude de qualquer condição adversa aos grãos, como colheita inadequada ou processamento, as polifenoloxidases agem sobre os polifenóis diminuindo sua ação e facilitando a oxidação, interferindo no sabor e aroma do café após a torração.

De acordo com os resultados (Tabela 1), as variedades poderiam ser divididas em dois grupos: (i) Apoatã, Robusta, Bukobensis, Laurentii e Guarini e (ii) Kouilou 66. Os maiores valores de ácido clorogênico para cada uma das variedades de *C. canephora* são: 5,99% para Apoatã; 5,68% para Robusta; 5,89% para Bukobensis; 6,04% para Laurentii; 6,30% para Guarini e 5,70% para Kouilou 66.

Nas variedades Apoatã, Robusta, Bukobensis, Laurentii e Guarini, observaram-se os maiores valores para a característica, com valores médios de 5,48% a 5,55%, respectivamente, para as variedades Apoatã, Robusta e Guarini. As amplitudes de variação observadas entre as variedades variaram de 7,5% a

51,3%, respectivamente para Robusta e Kouilou 66. Em investigação sobre a composição química de cafeeiros da variedade Robusta, ANTHONY et al., (1993) verificaram teores superiores ao do presente estudo, com valores médios de (7,39% a 8,67%).

No que se refere à variedade Kouilou 66 (grupo ii), contatou-se menor valor para a característica, com média de 4,68%, diferindo estatisticamente das variedades do grupo (i).

**Cafeína** - A cafeína é um dos principais componentes das sementes do cafeeiro, sendo sua concentração no endosperma extremamente variável entre variedades das espécies estudadas. Espécies do gênero *Coffea* nativas de Madagascar têm em sua grande maioria, sementes desprovidas de cafeína (ANTHONY et al., 1993). Em *C. arabica*, valores bastante reduzidos, próximos de 0,6%, são contatados na variedade Laurina (CARVALHO et al., 1965), assim como teores de 0,076%, em plantas silvestres provenientes da Etiópia (SILVAROLLA et al., 2004). *C. canephora* por sua vez possui teores bem mais elevados, sendo conhecidos casos de clones com cerca de 3,5% de cafeína nas sementes.

De acordo com os resultados do presente estudo, as variedades analisadas poderiam ser divididas em três grupos: (i) Bukobensis, Guarini e Laurentii (ii) Kouilou 66 e Apoatã e (iii) Robusta.

Nas variedades Laurentii, Bukobensis/ Guarini observaram-se os maiores teores para esse alcalóide, com médias de 2,68% e 2,89% respectivamente. Esses dados estão de acordo com os resultados da literatura, cujos diferentes autores citam valores de 1,77% a 2,87% para Bukobensis, 0,93% a 2,36% para Guarini e 0,81% a 2,56% para Laurentii (MAZZAFERA e MAGALHÃES, 1991; CARVALHO e SONDAHL, 1983). Observa-se que na variedade Bukobensis ocorreu a menor variação entre essas variedades com amplitude de 18,7%, podendo estar relacionada ao menor número de genótipos analisados.

No que se refere às variedades Apoatã e Kouilou 66, grupo intermediário, denominado grupo (ii), ocorreram valores médios de 2,35% e 2,42% e amplitude de variação de 30,6% e 45,5% respectivamente. AGUIAR et al., (2001), estudando diferentes características químicas em cafeeiros, contataram teores médios de 1,79% para Apoatã.

A variedade Kouilou vem sendo objeto de estudo por diferentes pesquisadores, destacando-se os trabalhos de ANTHONY et al., (1993), MAZZAFERA e MAGALHÃES, (1991), e CARVALHO e SONDAHL, (1983). Entre os diferentes estudos, os teores variaram de 1,41% a 3,26%, estando de acordo com a variação observada neste estudo (1,94% a 3,04%). Como

observado, os menores valores foram quantificados na variedade Robusta, grupo (iii), com média de 2,12% e amplitude de variação de 10,4%.

## Conclusões

1. Variações significativas foram observadas entre cafeeiros de uma mesma variedade, bem como entre as variedades de *C. canephora* para as variáveis sólidos solúveis, lipídios, ácido clorogênico e cafeína.
2. Nas variedades de *C. canephora* não houve diferenças relacionadas ao teor de trigonelina.
3. A variabilidade observada permite a seleção de plantas de interesse para o melhoramento da espécie *C. canephora*.

## Referências

- AGUIAR, A. T. E.; MALUF, M. P.; BRAGAGNOLO, N.; FAZUOLI, L. C.; GUERREIRO FILHO, O. Características químicas de sementes de cultivares de café selecionadas pelo IAC. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3, Londrina, 2001. *Anais...* Londrina, 2001. p.73-75.
- AMORIM, H. V.; SILVA, O. M. Relationship between the polyphenoloxidase activity of coffee beans and the quality of the beverage. *Nature*, London, 219, p.381-382, 1968.
- ANTHONY, F.; CLIFFORD, M. N.; NOIROT, M. Biochemical diversity in the genus *Coffea* L.: chlorogenic acids, caffeine and mozambioside contents. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Netherlands, v.40, p.61-70, 1993.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. Washington: AOAC, 1997. 726p.
- CARVALHO, A.; MEDINA FILHO, H. P.; FAZUOLI, L. C.; GUERREIRO FILHO, O.; LIMA, M. M. Aspectos genéticos do cafeeiro. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.14, n.1, p.135-183, 1991.
- CARVALHO, A.; SONDAHL, M. R. Teor de cafeína em seleções de café. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Poços de Caldas, 11, 1983. *Anais...* Campinas: Setor de Programação Visual e gráfica/IBC/GERCA, 1983. p.111-113.
- CARVALHO, A., TANGO, J. S., MÔNACO, L. C. Genetic control of caffeine content in coffee. *Nature*, London, v.205, p.314, 1965.
- CASAL, S.; OLIVEIRA, B.; FERREIRA, M. A. HPLC/diode-array applied to the thermal degradation of trigonelline, nicotinic acid and caffeine in coffee. *Food Chemistry*, London, v.68, n.4, p.481-485, 2000.

- MAZZAFERA, P. Trigonelina em espécies de café. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 18, Espírito Santo do Pinhal, 1990. *Anais...* Campinas: Seção Gráfica do IBC, 1990. p.54-55.
- MAZZAFERA, P.; MAGALHÃES, A. C. N. Cafeína em folhas e sementes de espécies de *Coffea* e *Paracoffea*. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.14, p.157-160, 1991.
- MAZZAFERA, P.; SOAVE, D.; ZULLO, M. A. T.; GUERREIRO FILHO, O. Oil content of green beans from some *Coffee* species. *Bragantia*, Campinas, v.57, n.1, p.45-48, 1998.
- PIMENTA, C. J. **Qualidade do café**. Lavras: Editora UFLA, 2004. 304p.
- SILVAROLLA, M. B., MAZZAFERA, P.; FAZUOLI, L. C. A naturally decaffeinated arabica coffee. *Nature*, London, v.429, p.826, 2004.
- VENEZIANO, W.; FAZUOLI, L. C. Avaliação de cultivares de cafeeiros robusta (*Coffea canephora*) em Rondônia. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, Poços de Caldas, 2000. *Anais...* Brasília: Embrapa Café/ Minasplan, 2000. p.459-461.
- VIANI, R.; HORMAN, I. Determination of trigonelline in *Coffee*. In: ASSOCIATION SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE du CAFÉ, 5, Hamburg, 1975. *Anais*. Paris:Asic, 1975. p.273-275.