

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LEITES FERMENTADOS PROBIÓTICOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ

Daiane Corti^{1*}, Angelica Regina Gabiatti¹, Deisy Alessandra Drunkler¹, Fabiana de Oliveira Martins².

*daicorti@gmail.com

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira (UTFPR-MD);

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais - Campus Rio Pomba (IFSEMG-RP).

Resumo: Entende-se por leites fermentados, os produtos obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. Incluem-se entre os tipos de leites fermentados o iogurte, o leite acidófilo, o Kefir, o Kumys e a coalhada. Foram coletadas amostras de quatro marcas de leites fermentados probiótico sabor morango, comercializadas na região oeste do Paraná, em triplicata, totalizando 12 amostras, e estas submetidas às análises físico-químicas a fim de avaliar se estavam de acordo com os parâmetros especificados na legislação vigente, que contempla, apenas, teor de gordura, acidez e proteína. As demais análises foram comparadas com os valores descritos na literatura por outros autores que avaliaram leites fermentados. Observou-se que as amostras não estavam em conformidade com os padrões estabelecidos na legislação para os teores de acidez e proteína láctea, sendo que a amostra B também não estava de acordo quanto ao teor de gordura. Pode-se concluir que os leites fermentados probióticos, sabor morango, não atenderam ao padrão de identidade e qualidade preconizado pela legislação vigente.

Palavras-chave: Produtos lácteos, funcionais, microrganismos, composição.

Physical-chemical evaluation of probiotic fermented milk sold in West Region of Paraná: Understood for fermented milk, products made by coagulation and lowering the pH of milk by lactic fermentation of crops through the action of specific microorganisms. Included among the types of fermented milks yoghurt, acidophilus milk, kefir, kumys and curds. Were collected four brands of probiotic fermented milk strawberry flavored, commercialized the west region of Paraná, in triplicate, totaling 12 samples, and those subjected to physical and chemical analyzes in order to evaluate whether they were in accordance with the parameters of the legislation, which presents only, fat, protein and acidity. The remaining analyzes were compared with the values found in the literature by other authors for fermented milks. It was observed that the samples were in disagreement with the current legislation for the titratable acidity and protein, and the sample B is also not comply in fat content. It can be concluded that the probiotic fermented milk, strawberry flavor, do not meet the standard of quality and identity recommended by legislation current.

Keywords: Dairy products; functional; microorganisms; composition.

1 Introdução

Em todo o mundo os consumidores demonstram maior interesse em alimentos com características que promovam saúde, à medida que adquirem mais consciência das relações entre alimentação e saúde. Entre os alimentos funcionais, os produtos que contêm probióticos apresentam tendências promissoras em todo o mundo. Os probióticos, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium spp.*, são bactérias normais da

microbiota intestinal dos humanos que exercem diversos efeitos benéficos sobre a saúde quando ingeridos diariamente numa determinada concentração, como inibição de bactérias patógenas, redução do risco de câncer de cólon, melhoria do sistema imunológico, diminuição dos níveis de colesterol sérico, entre outros (SACHDEVA; NAGPAL, 2009; BAJAJ *et al.*, 2008; FUKUDA *et al.*, 2008; SANDERS, 2008; SARKAR, 2008; UYENO *et al.*, 2008; DONKOR *et al.*, 2006; TAMIME *et al.*, 2005; SAARELA *et al.*, 2002).

Certas estirpes aprovadas de *Lactobacillus acidophilus* e bifidobactérias são as bactérias mais amplamente utilizadas na fabricação de leites fermentados probióticos. É bem documentado que bactérias probióticas crescem lentamente no leite já que são desprovidas de enzimas proteolíticas e contribuem pouco sobre as características sensoriais e reológicas do produto; portanto, na prática, uma das formas de empregar estes micro-organismos é adicioná-los juntamente com a cultura iniciadora no iogurte para promover a fermentação (DAMIN *et al.*, 2008; SODINI *et al.*, 2002).

O consumo de alimentos probióticos aumentou consideravelmente nos últimos anos em todo o mundo. Na Europa, este setor envolve um total de 1,4 bilhão de euros, liderado por iogurtes e sobremesas, respondendo por aproximadamente 72 % do total (SAXELIN, 2008). Em 2008, um crescimento de 2,4 % foi registrado no Brasil, envolvendo 2.650 milhões de reais (ROCHA; MADUREIRA, 2009).

A qualidade passou a ser considerada a chave para o sucesso em qualquer ramo de atividade como forma de manter-se em níveis de competitividade. O consumidor tem se mostrado mais atento e consciente ao adquirir um produto, exigindo qualidade na embalagem, composição e valor nutricional (MARTIN, 2002).

Além disso, os produtos alimentícios devem atender as normas descritas nos padrões de identidade e qualidade, estabelecidas pela legislação brasileira. Em relação ao leite fermentado, este deve atender ao disposto na Instrução Normativa N° 46, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007). Nesta Normativa, para que o leite fermentado receba esta denominação, deve atender além dos parâmetros microbiológicos, microscópicos e sensoriais, aos seguintes parâmetros físico-químicos: teor de gordura, onde o com creme deve apresentar, no mínimo, 6,0 g de matéria gorda láctea / 100 g de produto, integral 3,0 a 5,9 g de matéria gorda láctea / 100 g de produto, parcialmente desnatado 0,6 a 2,9 g de matéria gorda láctea / 100 g de produto e desnatado quando possuir, no máximo, 0,5 g de matéria gorda láctea / 100 g de produto; teor de proteína, de no mínimo 2,9 g de proteínas lácteas / 100 g de produto e acidez entre 0,6 a 1,5 g de ácido láctico / 100 g de produto. A legislação não contempla os parâmetros como umidade, cinzas, extrato seco total, extrato seco desengordurado e pH. Em relação ao teor de carboidratos, a quantidade adicionada varia de acordo com o sabor do iogurte e o público alvo do produto, não existindo um controle legislativo, porém, por recomendação tecnológica, o iogurte não deve apresentar menos que 8,25 % de sólidos desengordurados (ALMEIDA, 2008).

Considerando-se que os leites fermentados requerem condições adequadas de produção e armazenamento e que estas podem influenciar na manutenção das características do produto, justifica-se a importância deste trabalho, cujo objetivo consistiu em verificar a qualidade físico-química de leites fermentados probióticos comercializados na região oeste do Paraná.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção das amostras

Foram avaliadas quatro amostras de diferentes marcas de leites fermentados sabor morango, declarados como probióticos, com selo de inspeção federal. As marcas foram codificadas como A, B, C e D. Três amostras de cada marca (que correspondem a três diferentes lotes de produção) foram coletadas em dias diferentes no comércio da região Oeste do Paraná, totalizando 12 amostras, que apresentavam os microrganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*, além da cultura iniciadora do iogurte.

As amostras foram coletadas diretamente nas gôndolas de supermercados, sendo transportadas em caixas isotérmicas até o laboratório de Microbiologia de Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Medianeira, onde permaneceram armazenadas em geladeira a temperatura de 10 ± 1 °C até o momento das análises.

Todas as amostras foram conduzidas às avaliações descritas após 30 dias de fabricação, sendo que as mesmas apresentavam, de acordo com a informação descrita no rótulo, validade de 45 dias.

2.2 Análises Físico-Químicas

As amostras foram avaliadas quanto aos seguintes parâmetros físico-químicos, seguindo as metodologias propostas por BRASIL (2006): Umidade, em estufa a 105 °C; Proteínas, através da determinação de nitrogênio total pelo Método de Micro-Kjeldahl, utilizando fator de conversão 6,38; Lipídios, pelo método butirométrico; Cinzas, por incineração em forno mufla a 550 °C; Extrato Seco Total (EST), por cálculo de diferença; Extrato Seco Desengordurado (ESD), por cálculo de diferença entre extrato seco total e gordura; acidez titulável, expressa em ácido láctico (% m/m), por titulação e pH, com emprego de pHmetro digital (modelo 320, Micronal®, São Paulo), com eletrodo de vidro combinado.

3 Resultados e Discussão

As características físico-químicas do iogurte refletem a composição do leite utilizado, que por sua vez é influenciado por diversos fatores como raça, alimentação, estágio de lactação, clima, entre outros (FERREIRA, 2005).

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de leites fermentados probiótico, sabor morango, comercializadas na região oeste do estado do Paraná, encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios de três repetições (três lotes), em triplicata, das determinações físico-químicas de leites fermentados probiótico, sabor morango, comercializadas na região oeste do estado do Paraná.

ANÁLISES	Amostra A	Amostra B	Amostra C	Amostra D
Umidade (g%)	89,26 ± 4,96 ^a	80,75 ± 2,09 ^b	90,11 ± 1,07 ^{ac}	92,80 ± 0,32 ^c
Proteína (g%)	2,39 ± 0,16 ^{ab}	1,83 ± 0,37 ^{ac}	2,8 ± 0,12 ^b	2,45 ± 0,25 ^{ab}
Gordura (g%)	0,38 ± 0,25 ^{ab}	0,51 ± 0,29 ^{ab}	0,17 ± 0,05 ^{ac}	0,20 ± 0,11 ^{ac}
Cinzas (g%)	0,62 ± 0,02 ^{a(1)}	0,50 ± 0,03 ^b	0,71 ± 0,02 ^c	0,71 ± 0,08 ^c
EST (g%)	10,74 ± 4,96 ^a	19,25 ± 2,09 ^b	9,89 ± 1,07 ^{ac}	7,20 ± 0,32 ^c
ESD (g%)	10,36 ± 4,75 ^a	18,85 ± 2,43 ^b	9,76 ± 1,04 ^{ac}	7,02 ± 0,34 ^{ac}
Acidez, em ácido láctico (g%)	0,50 ± 0,05 ^a	0,50 ± 0,05 ^a	0,52 ± 0,04 ^a	0,51 ± 0,03 ^a
pH	4,52 ± 0,09 ^a	4,37 ± 0,15 ^b	4,37 ± 0,04 ^b	4,51 ± 0,05 ^a

⁽¹⁾ Média ± erro padrão seguida por letras iguais, na mesma linha, indica não haver diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com a comparação entre as médias obtidas nas avaliações físico-químicas observadas na Tabela 1, pode-se constatar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para todos os atributos analisados, com exceção da acidez expressa em ácido láctico, entre as amostras de leites fermentados probiótico avaliadas.

A amostra D apresentou valor de umidade significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparada as marcas A e B, mas não diferiu da amostra C (Tabela 1). *Fuchs et al.* (2005), analisando a formulação otimizada de iogurte de soja suplementado com prebióticos, encontraram valores de umidade igual a 77,85 %. *Silva* (2007) desenvolveu iogurtes com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas, acrescidos de prebiótico, onde encontrou valores médios para umidade de 78 %. Provavelmente, os valores inferiores encontrados nos trabalhos acima quando comparados aos encontrados neste estudo podem ser devido à presença do prebiótico que reduziu a quantidade de água livre do produto.

Os leites fermentados com agregados, açucarados e/ou saborizados poderão ter conteúdo de matéria gorda e proteínas inferiores aos preconizados na legislação, não devendo reduzir-se a uma proporção maior do que a porcentagem de substâncias alimentícias não-lácteas, açúcares acompanhados ou não de glicídios (exceto polissacarídeos e polialcoóis) e/ou amidos ou amidos modificados e/ou maltodextrina e/ou aromatizantes/saborizantes adicionados (BRASIL, 2007), porém se torna difícil a avaliação destes parâmetros, já que não são disponíveis nas embalagens as quantidades dos ingredientes adicionados e, por isso, avaliou-se as amostras de acordo com o valor mínimo preconizado.

Para o teor de proteínas (Tabela 1), a amostra C apresentou maior teor em relação a amostra B ($p < 0,05$). As amostras A e D não diferiram entre si e em relação às demais ($p > 0,05$), apresentando valores intermediários. Considerando o limite mínimo de 2,90 g % de proteína para os leites fermentados, indicado pela legislação vigente (BRASIL, 2007) todas as marcas avaliadas estariam em desacordo com a legislação. *Rodas et al.* (2001) também encontraram amostras que apresentavam teor de proteína abaixo do estipulado pela

legislação. Por sua vez, *Silva* (2007) obteve valores de proteína variando de 4,84 a 5,21 % em iogurtes probióticos.

Os valores de gordura expressos na Tabela 1 foram confrontados com os da legislação para leites fermentados (BRASIL, 2007). As amostras A, C e D designadas como leite fermentado desnatado, conforme descrição das embalagens, apresentaram valores condizentes com a legislação para este tipo de produto; porém, a amostra B, rotulada como um produto semi desnatado, obteve média de 0,51 % ± 0,29, abaixo do descrito pela legislação para este tipo de produto. *Rodas et al.* (2001) relataram um teor de gordura de 1,60 a 2,73 % em iogurtes parcialmente desnatados comerciais adicionados de frutas. *Silva*, (2007) usando leite integral na preparação de iogurtes encontrou valores entre 3,12 e 3,15 % de gordura.

Para os teores em cinzas, as amostras C e D apresentaram valores significativamente maiores ($p < 0,05$) do que as marcas A e B (Tabela 1). Resultados similares para o teor de cinzas foram encontrados por *Rodas et al.* (2001) e *Lima et al.* (2006)

A amostra B obteve maior teor de ESD (18,85 g %) e de EST (19,25 g %) ($p < 0,05$) quando comparada as demais marcas avaliadas (A, C e D). *Venturoso et al.* (2007), estudando a determinação da composição físico-química de produtos lácteos encontrou teores de ESD de 11,00 a 19,70 g % em leites fermentados, sendo que para este estudo o teor mínimo encontrado foi de 7,02 g %.

Pode-se verificar, na Tabela 1, que todas as amostras em estudo encontram-se abaixo do valor mínimo estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2007) para acidez, que é de 0,6 a 2,0 g de ácido láctico / 100 g de produto. A acidez torna os iogurtes alimentos relativamente estáveis por inibir o crescimento de bactérias gram-negativas (VEDAMUTHU, 1991), nestas condições poderia não ser possível inibir todos os microrganismos contaminantes. No entanto, quando se emprega micro-organismos probióticos pode ser interessante uma acidez menor pois favorece a viabilidade destes já que os mesmos são sensíveis a elevada acidez.

A determinação do valor do pH para leites fermentados é importante, uma vez que iogurte com baixa acidez (pH superior a 4,6) favorece a separação do soro já que o gel não foi suficientemente formado; por outro lado, em pH inferior a 4,0, a contração do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas, também causa dessoramento (BRANDÃO, 1995). Becker (2009) relata que alguns autores mencionam que o pH final do iogurte deve se encontrar entre 3,8 e 4,2 para atingir as características sensoriais e de textura desejáveis. Quanto ao valor de pH as amostras diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$), na faixa de 4,37 a 4,52, conforme resultados expressos na Tabela 1. Estes valores foram comparativamente menores que os obtidos por Anjos *et al.* (2009) e Cunha Neto *et al.* (2005). Porém, as amostras analisadas encontram-se em faixas adequadas de pH para evitar o dessoramento. Ainda, conforme Malta *et al.* (2001), valores de pH inferiores a 4,5 são interessantes em iogurtes comerciais, já que impedem o crescimento de bactérias contaminantes.

Por ser um produto amplamente consumido pela população nacional, não só por ser de consumo rápido e prático, mas principalmente pelas suas qualidades sensoriais e nutritivas que lhe são associadas, este produto deve atender a legislação, sugerindo maior fiscalização por parte dos órgãos competentes.

4 Conclusões

Por ser um produto amplamente consumido pela população nacional, não só por ser de consumo rápido e prático, mas principalmente pelas suas qualidades sensoriais e nutritivas que lhe são associadas, este produto deve atender a legislação, sugerindo maior fiscalização por parte dos órgãos competentes.

5 Referências

ALMEIDA, C. P. M. **Efeito do fator de concentração nas características de iogurte com baixo teor de lactose obtido por ultrafiltração.** 2008. Dissertação (Mestrado) Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2008.

ANJOS, G.; LUCAS, S. D. M. SCHMIDT, C. A. P.; PEREIRA, C. Avaliação da aceitação sensorial de iogurte adicionado de polpa de acerola. **Congresso de Análise Sensorial – ITAL**, 2009.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Leite e Derivados**, São Paulo, v 5, n. 25, p. 24-38, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006.** Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, 14 de dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007.** Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de outubro de 2007.

BAJAJ, J.S., SAEIAN, K., CHRISTENSEN, K.M., HAFEEZULLAH, M., VARMA, R.R., FRANCO, J., PLEUSS, J.A., KRAKOWER, G., HOFFMANN, R.G., BINION, D.G. Probiotic yogurt for the treatment of minimal hepatic encephalopathy. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 103, n. 7, p.1707-1715, 2008.

BECKER, L.V. **Iogurte probiótico com teor reduzido de lactose adicionado de óleo de linhaça.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria. 2009.

CUNHA NETO, O. C.; HOTTA, R. M.; OLIVEIRA, C. A. F.; SOBRAL, P. J. A.; Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 448-453, 2005.

DAMIN, M. R., MINOWA, E., ALCANTARA, M. R., OLIVEIRA, M. N. Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. **Journal of Texture Studies**, v. 39, n. 1, p. 40–55, 2008.

DONKOR, O. N., HENRIKSSON, A., VASILJEVIC, T., SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 16, p.1181-1189, 2006.

FERREIRA, C.L.L.F. Produtos lácteos fermentados (aspectos bioquímicos e tecnológicos). **Caderno Didático 43 - Ciências Exatas e Tecnológicas**, Universidade Federal de Viçosa, 3ª edição, 2005.

FUCHS, R. H. B.; BORSATO, D.; BONA, E.; HAULY, M. C. O. Iogurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n.1, p. 175-181, 2005.

FUKUDA, M., MITSUI, H., TOYAMA, M., KOBAYASHI, K., NOZAKI, K., IZUOKA, T., NISHITANI, M.; YAMAGA, K.I. Post marketing surveillance of functional food: the efficacy and safety of yogurt containing Bifidobacterium lactis DN-173 010 on constipation. **Japanese Pharmacology and Therapeutics**, v. 36, p. 501-507, 2008.

LIMA, S. C. G.; ALMEIDA, T. C. A.; GIGANTE, M. L. Efeito da adição de diferentes tipos e concentrações de sólidos nas características sensoriais do iogurte tipo firme. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 8, n. 2, p. 147-156, 2006.

MALTA, H.L.; LEITE, M. de O.; ANDRADE, N.S. de.; CERQUEIRA, M.R. de.; FONSECA, L.M. da.; CERQUEIRA, M.M.O.P. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes

vendidos na região de Viçosa, MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 152-158, 2001.

MARTIN, A. F. **Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2002.

ROCHA, A. A., e MADUREIRA, D. Cresce a disputa por lácteos funcionais. **Jornal Valor Econômico**, v. 1-2, p. B6. 2009.

RODAS, M.A.B.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L.Z.; SGARBI, C.R.; LOPES, W.C.C. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 304-309, 2001.

SAARELA, M., LAHTEENMAKI, L., CRITTENDEN, R., SALMINEN, S., MATTILA-SANDHOLM, T. Gut bacteria and health foods: The European perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78, n. 1-2, p. 99-117, 2002.

SACHDEVA, A., NAGPAL, J. Effect of fermented milk-based probiotic preparations on *Helicobacter pylori* eradication: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 21, n.1, p. 45-53, 2009.

SANDERS, M. E. Use of probiotics and yogurts in maintenance of health. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 42, n. 2, p. S71-S74, 2008.

SARKAR, S. Effect of probiotics on biotechnological characteristics of yoghurt: A review". **British Food Journal**, v. 110, n.7, p. 717-740, 2008.

SAXELIN, M. Probiotic formulation and applications, the current probiotic market, and changes in the market place: A European perspective. **Clinical Infectious Disease**, v. 46, n. 1, p. S76-S79, 2008.

SILVA, S.V. da.; **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, RS. 2007.

SODINI, I., LUCAS, A., OLIVEIRA, M.N., REMEUF, F., CORRIEU, G. Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2479-2488, 2002.

TAMIME, A. Y., SAARELA, M., SONDERGARD, A. K., MISTRY, V. V., SHAH, N. P. Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products. In A. Tamime (Ed.), **Probiotic dairy products**. p. 39 e 72. Oxford: Blackwell Publishing. 2005.

UYENO, Y., SEKIGUCHI, Y., KAMAGATA, Y. Impact of consumption of probiotic lactobacilli-containing yogurt on microbial composition in human

feces. **International Journal of Food Microbiology**, v. 122, n. 1-2, p.16-22. 2008.

VEDAMUTHU, E.R. The yogurt story – past, present and future. Part. VI. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v. 11, n. 9, p. 513-514, 1991.

VENTUROSO, R. C.; ALMEIDA, K. E.; RODRIGUES, A. M.; DAMIN, M. R.; OLIVEIRA, M. N. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 4, p. 607-613, 2007.