

## **Estabilidade microbiológica e nutricional de doce de leite pastoso durante o armazenamento em condições ambientais**

**André Gustavo Lima de Almeida Martins<sup>1</sup>, Denise Silva Amaral Miranda<sup>1</sup>, Fabiana de Oliveira Pereira<sup>2</sup>, Rubens Maciel Miranda Pinheiro<sup>2</sup>, Caroline Pereira Mourão Moraes, Fabrícia de Sousa Ferraz**

<sup>1</sup> Professor IFMA – Instituto Federal do Maranhão. Açailândia– Ma. [denise.amaral@ifma.edu.br](mailto:denise.amaral@ifma.edu.br)  
<sup>2</sup> Técnica de laboratório- IFMA – Instituto Federal do Maranhão. Açailândia– Ma. <sup>3</sup>Doutorando Eng. de Processos pela UFCG - Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande – PB. <sup>4</sup>Técnica em alimentos do IFMA – Instituto Federal do Maranhão. Açailândia– Ma.

### **Resumo**

O objetivo deste trabalho foi estudar a estabilidade microbiológica e nutricional de doce de leite em pasta comercializado em Açailândia/MA durante o armazenamento do produto em condições ambientais. No tempo inicial e a cada 30 dias, em um total de 150 dias, o doce de leite em pasta foi analisado quanto aos parâmetros de proteína, lipídios, umidade, cinzas as e contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva e bolores e leveduras. Os resultados evidenciaram que 100% das amostras estavam fora do padrão estabelecido pela legislação vigente no que diz respeito ao parâmetro umidade, apresentando valores acima do máximo de 30%. No que se refere os parâmetros microbiológicos analisados, tanto para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva quanto para bolores e leveduras, todas as amostras atenderam aos padrões e não houve alteração no decorrer do tempo de armazenamento, sendo assim, este apresentou condições higiênicas sanitárias satisfatórias durante o processo de produção do doce de leite em pasta estando, portanto, apto para o consumo.

**Palavras-chave:** Derivado lácteo. Vida de prateleira. Controle de qualidade.

### **Abstract**

The objective of this work was to study the microbiological and nutritional stability of sweet milk marketed folder Açailândia / MA during product storage at ambient conditions. At baseline and every 30 days, totaling 150 days, the dulce de leche paste was analyzed for protein parameters, lipids, moisture, ash and the *Staphylococcus* positive coagulase counts and molds and yeasts. The results showed that 100% of the samples were outside the standard established by law with respect to the parameter moisture, with values above the maximum of 30%. As regards the microbiological parameters analyzed, both for the enumeration of *Staphylococcus* coagulase positive and for yeasts and molds, all samples met the standards and no change during the storage time, thus, it showed satisfactory sanitary hygienic conditions during candy manufacturing process milk paste being thus fit for consumption.

**Keywords:** Dairy derivative. Shelf life. Quality control.

### **Introdução**

O leite é um excelente alimento para os seres humanos, devido em sua composição nutricional apresentar proteínas, carboidratos, partículas de gordura e água o que o torna com excelente potencial nutritivo. De acordo com a Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) entende-se por leite, sem outra especificação, “o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem-alimentadas e descansadas” (Brasil 2011).

Dentre os principais derivados lácteos, o doce de leite, é um dos mais fabricados no Brasil, encontra-se ao redor de 34.000 t/ano (Machado 2005). Este é resultante da cocção de uma mistura de leite e açúcar, com adição ou não de aromatizantes, até atingir uma concentração conveniente. Duas variedades são admitidas: doce de leite em pasta, ou mole e o doce de leite em tabletes, ou duro. Podem ser fabricados com leite integral, padronizado semidesnatado e desnatado. Tais produtos apresentam baixo teor de água, o que possibilita

a conservação em temperatura ambiente (Vieira et al. 2004).

No que diz respeito a sua composição, o doce de leite é constituído basicamente de leite concentrado adicionado de açúcar, apresentando elevado valor nutricional por conter proteínas e minerais, além do conteúdo energético. No caso do processamento do doce de leite pastoso tradicional a quantidade de açúcar (sacarose) adicionada geralmente equivale a valores entre 18% e 20% do volume de leite utilizado. É um alimento menos perecível que o leite e de grande aceitação sensorial (Damiate et al. 2001).

Apesar do doce de leite não ser um produto favorável ao crescimento microbiano, a possibilidade de bactérias patogênicas em doce de leite não pode ser excluída. O doce de leite propicia além do desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduras osmofílicas, o crescimento de *Staphylococcus* ssp. resistentes a alta pressão osmótica do meio, sendo estes, potenciais produtores de enterotoxinas causadoras de intoxicação alimentar (Hentges et al. 2010).

A presença de microrganismos no doce de leite tem sido motivo de preocupação por partes dos órgãos responsáveis pela inspeção de alimentos e Saúde Pública, os quais têm estabelecido limites de tolerância para a ocorrência destes microrganismos no produto. Cuidados higiênicos sanitários no processamento e manuseio do doce de leite estão entre as principais medidas preventivas para evitar sua contaminação (Timm et al. 2007).

Ante o exposto, esta pesquisa teve como objetivo, avaliar as condições higiênicas sanitárias por meio da contagem de bolores, leveduras e identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva e alterações na composição nutricional do doce de leite em pasta comercializado em Açailândia/MA.

### **Material e Métodos**

No primeiro semestre de 2013, coletaram-se 20 potes de 250g de doce de leite em pasta, apresentando a mesma data de fabricação e lote em um supermercado da cidade de Açailândia/MA. Os potes de doce foram armazenados a temperatura ambiente no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal do Maranhão – Campus Açailândia/MA. A primeira análise foi

realizada no tempo inicial, logo após a coleta das amostras, e as subsequentes ocorreram a cada 30 dias por um período de 150 dias de armazenamento. Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas.

O doce de leite em pasta foi analisado em triplicata quanto o Percentual de Proteína, lipídios, umidade e resíduo mineral fixo (Cinzas) segundo os métodos analíticos recomendados pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

Para análise estatística fez-se a ANOVA, utilizando um delineamento inteiramente casualizado e o teste de Tukey para comparação das médias, no programa computacional ASSISTAT.

As análises microbiológicas de Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e de bolores e leveduras do doce de leite em pasta foram realizadas conforme metodologias descritas por Vanderzant e Splittstoesser (2001).

### **Resultados e Discussão**

Na Tabela 1, estão expressos os resultados referentes aos valores médios para as análises físico-químicas do doce de leite em pasta comercializado em supermercados da cidade de Açailândia/MA, comparando-os com a legislação vigente de doce de leite, Portaria nº 354, de 04 de setembro de 1997 (Brasil 1997). De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, a composição centesimal do doce de leite em pasta, para os parâmetros, proteína, lipídios e cinzas estão em conformidade com os padrões exigidos pela legislação vigente (Brasil 1997).

Passos et al. (2013) ao avaliarem a qualidade de diferentes marcas comerciais de doce de leite pastoso comercializados na região do Alto Paranaíba/MG, observaram que o teor de umidade das amostras variou entre 20,56 - 34,57%; cinzas de 0,91 - 3,18% e teor de proteínas de 2,14 - 5,86%. As amostras de doces de leite analisadas apresentaram uma grande variação dentro dos parâmetros estudados, indicando a existência de diferenças consideráveis entre estes produtos de diferentes marcas na região estudada. Algumas amostras das marcas avaliadas encontraram-se fora dos padrões exigidos pela legislação. Os resultados obtidos pelos referidos autores, diferem dos encontrados nesta pesquisa.

Tabela 1. Valores médios das análises físico-químicas do doce de leite em pasta durante o armazenamento em condições ambientais.

Parâmetro	Legislação (*)	Período de armazenamento (dias)					
		0	30	60	90	120	150
Proteínas (g/100g)	mín. 5g/100g	5,3a	5,3a	5,2b	5,2b	5,2b	5,2b
Lipídios (g/100g)	6 a 9 g/100g	7,4a	7,4a	7,2b	7,1c	7,1c	7,2b
Umidade (%)	máx. 30%	33,63ab	32,47c	33,06bc	33,54ab	33,87a	34,04a
Cinzas (g/100g)	máx. 2,0 g/100g	1,56a	1,56a	1,56a	1,52b	1,51c	1,50d

(\*)Fonte: Portaria N° 354/1997 – MAPA (BRASIL, 1997).

Já Oliveira et al. (2010), ao realizarem a caracterização química de doces de leite pastoso comercializados a granel em Lavra/MG, constataram que os resultados das análises dos doces de leite em pasta apresentaram valores heterogêneos, sendo que os valores oscilaram significativamente em relação aos conteúdos de umidade (15,57% até 39,03%), proteínas (8,88 até 10,49%) e cinzas (1,34 até 1,77%). Resultados que também diferem dos encontrados nesta pesquisa.

Feihmann et al. (2006), encontraram teores de proteína bem mais elevado (10,2%) no doce de leite pastoso, sendo este superior ao mínimo exigido pela legislação brasileira que é de 5%. Esse valor encontrado segundo os autores foi em função do processo de fabricação empregado, pois a temperatura máxima utilizada foi de 50°C, a qual promoveu uma menor desnaturação das proteínas.

Para análise de lipídios, os valores obtidos estão de acordo com a legislação em vigor, no qual estabelece valores entre 6,0 a 9,0 %. Pieretti et al. (2013), obtiveram valores em suas pesquisas de 4,8% a 5,8%, sendo que estes encontram-se abaixo do permitido pela legislação, mas afirmam que são devido a utilização de um leite padronizado na fabricação do doce de leite.

No que se refere aos resultados para o parâmetro de umidade, 100% das amostras apresentaram valores acima do máximo estabelecido pela legislação vigente (Brasil 1997), visto que oscilaram desde 32% a 34%.

Demiate, Konkel, Pedroso (2001), afirmam que o alto valor de umidade pode estar relacionado com a estocagem, processamento e embalagem, pois as mesmas devem proteger contra a perda de umidade e dificultar a passagem de oxigênio, além de impedir a contaminação microbiológica, já que a umidade se torna estável, principalmente, para o crescimento de bolores e leveduras. Os

referidos autores ao estudarem a composição química de várias marcas de doce de leite pastoso, obtiveram valores de umidade entre 22% e 32%, valores abaixo dos encontrados na presente pesquisa.

A vida de prateleira dos produtos alimentícios é determinada por processos deteriorantes os quais são influenciados pelo teor de água presente no alimento, este provoca a deterioração mais acelerada, ou menor vida útil. Portanto, o conhecimento dos teores de umidade dos produtos doces pode ser utilizado para determinar o tempo de vida útil, tipos de embalagens e condições de armazenamento adequadas para os produtos (Ferreira et al. 2012).

Os resultados obtidos para os resíduos de minerais fixos (cinzas) evidenciaram que todas as amostras estavam de acordo com a legislação em vigor, que estabelece valores de no máximo 2,0%. Os valores de cinzas é um dos melhores indicadores da presença de leite no produto, pois é constante nessa matéria-prima. Teores de cinzas distantes do esperado para o produto podem estar relacionados com algum tipo de fraude. Valores muito baixos indicam pequena presença de leite e os elevados, adição excessiva de sais, entre os quais, o bicarbonato de sódio (Demiate et al. 2001).

Na indústria de alimentos, segurança alimentar e qualidade são consideradas questões importantes. Os consumidores procuram cada vez mais produtos alimentícios de marcas confiáveis e esperam que os fabricantes forneçam produtos de alta qualidade (Passos et al. 2013).

Existem vários parâmetros que definem a qualidade de um alimento e, dentre eles, as características físico-químicas e sensoriais são algumas das mais importantes. Produtos com boas características sensoriais (aparência, aroma, sabor, textura e aceitação geral) são de

grande importância na indústria de alimentos, pois contribuem para assegurar a liderança do produto no mercado (Ferreira et al. 2012).

As análises físico-químicas disponíveis permitem diagnosticar os tipos e causas dos defeitos na qualidade do produto, o que é fundamental para se definir medidas

preventivas na produção e distribuição (Madrona et al. 2009).

Na Tabela 2 tem-se os resultados referentes aos valores médios obtidos após as análises microbiológicas do doce de leite em pasta durante o armazenamento em condições ambientais, comparando-os com a legislação vigente de doce de leite (Brasil 1997).

**Tabela 2.** Valores médios para os resultados das análises microbiológicas do doce de leite em pasta durante o armazenamento em condições ambientais

Parâmetros	Legislação (*)	Período de armazenamento (dias)					
		0	30	60	90	120	150
<i>Sthaphylococcus</i> coag. pos/g	<1,0x 10 <sup>2</sup>	<1,0x 10 <sup>2</sup>	<1,0x 10 <sup>2</sup>	<1,0x 10 <sup>2</sup>	<1,0x 10 <sup>2</sup>	<1,0x 10 <sup>2</sup>	<1,0x 10 <sup>2</sup>
Bolores e Leveduras/g	<1,0x 10 <sup>3</sup>	<1,0x 10 <sup>3</sup>	<1,0x 10 <sup>3</sup>	<1,0x 10 <sup>3</sup>	<1,0x 10 <sup>3</sup>	<1,0x 10 <sup>3</sup>	<1,0x 10 <sup>3</sup>

(\*) Fonte: Portaria Nº 354/1997 – MAPA (Brasil 1997).

As contagens de *Sthaphylococcus* coag. pos./g e contagens de bolores e leveduras/g nas amostras analisadas atendem aos padrões microbiológicos estabelecidos pela Portaria nº 354, de 04 de setembro de 1997 (Brasil 1997).

Timm et al. (2007), ao avaliarem as condições microbiológicas do doce de leite pastoso, obtiveram resultados semelhantes aos encontrados nessa pesquisa, ou seja, 100% das amostras apresentaram valores inferiores ao limite máximo estabelecido na legislação para contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva.

Madrona, Zotarelli, Bergamasco (2008), relatam que algumas características intrínsecas do doce de leite em pasta como exemplo, a alta concentração de sólidos no produto que resulta em uma atividade de água (Aw) normalmente abaixo de 0,85, constitui o principal fator de conservação do doce de leite. Os cuidados com a higiene no processamento e no momento do envase contribuem significativamente para a obtenção de produtos com boa qualidade microbiológica.

A pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva determina condições de segurança do produto, bem como, a aplicação das Boas Práticas pelos manipuladores, o qual é a fonte mais provável de contaminação primária de alimentos por *S. aureus*. Uma grande parte da população humana possui *S. aureus* como parte da microbiota do nariz, pescoço e mãos e, conseqüentemente, essas pessoas que manipulam os alimentos podem contaminar a matéria-prima, os equipamentos, e/ou o produto final. O *S. aureus* é um patógeno responsável

por intoxicações, resultados da ingestão de alimentos contaminados por enterotoxinas termoestáveis e pré-formadas e representa um risco sanitário quando níveis desta bactéria atingem contagens em torno de 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> UFC/g ou mL no alimento. Estas exotoxinas são termorresistentes, isto é, suportam temperaturas de ebulição por até 30 minutos (Lamaita et al. 2003).

Nesse contexto, a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva em derivados lácteos vem crescendo, pois é uma bactéria que está em altos índices de intoxicação alimentar. Esses estudos contribuem para elucidar a necessidade de um monitoramento constante nos processos de higienização dos equipamentos de processo, das superfícies que entram em contato direto com os alimentos, dos manipuladores e do ar dos ambientes das indústrias. Sendo imprescindível para a obtenção de produtos de boa qualidade microbiológica (Madrona et al. 2008).

No que se refere aos fungos, Beloti et al. (2001), descrevem os bolores e as leveduras como sendo de grande importância como indicadores de contaminação na cadeia produtiva do leite, podendo ser considerados como um fator de contaminação quando isolados de água residual nos utensílios e equipamentos. A presença desses microrganismos no produto pode levar à redução no tempo de vida de prateleira, modificação de suas características sensoriais e até mesmo sua deterioração.

Os fungos são talvez a causa mais comum de deterioração de alimentos estocados

em ambientes domésticos, já que são muito comuns em alimentos que possuem baixa atividade de água, além disso, alguns bolores produzem micotoxinas, já que essas substâncias podem ser prejudiciais à saúde do ser humano, ou seja, pode causar uma doença transmitida por alimento (DTA's) no consumidor (Jay 2005).

Sendo assim, as Boas Práticas de Fabricação, no tocante à higiene e segurança alimentar, adotadas pelo fabricante apresentam condições satisfatórias, caracterizando o produto como próprio para o consumo, atendendo tanto as exigências nutricionais, como as microbiológicas, não afetando a vida de prateleira do produto ou a saúde do consumidor.

O controle físico-químico e microbiológico de um alimento processado ou natural é de fundamental importância para que o produto não apresente risco a saúde do consumidor. A presença de microrganismos em níveis elevados no alimento já processado indica a ocorrência de falhas durante o seu processo de fabricação como tratamento térmico ineficiente, armazenamento inadequado ou o uso de matéria-prima com carga microbiana elevada entre outros.

### Conclusão

De acordo com a legislação para doce de leite, as amostras apresentaram não conformidade para umidade em 100% das amostras analisadas. Para os teores de proteínas, lipídios e cinzas, todas as amostras apresentaram-se dentro dos padrões de qualidade exigidos pela legislação;

Na avaliação microbiológica do doce de leite em pasta, observou-se que o mesmo estava em conformidade com a legislação vigente, não oferecendo riscos à saúde do consumidor, indicando que as matérias-primas, processo de fabricação e armazenamento do produto foi realizado em condições sanitárias satisfatórias.

Tanto para a avaliação nutricional quanto para a microbiológica as amostras analisadas apresentaram estabilidade durante dos 150 dias de armazenamento em temperatura ambiente.

### Referências

BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; SANTANA, E. H. W.; PEREIRA, M. S.; MORAES, L.

B.; GUSMÃO, V. V. Utilização de bolores e leveduras como indicadores de contaminação na cadeia produtiva de leite em propriedades da região de Londrina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21, 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: [s.n], 2001. p.377.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria nº 354, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Doce de Leite. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, n. 172, 8 set. 1997. Seção 1. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/legislacao>>. Acesso em: 27 abr. de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, p.13, 30 dez. 2011. Seção 1. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=8932>. Acesso em 27 de novembro de 2013.

DEMIATE, I. M.; KONKEL, F. E.; PEDROSO, R. A. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de doce de leite pastoso – composição química. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, s.l, v. 21, n.1, p. 108-114, 2001.

FEIHRMANN, A. C.; CICHOSKI, A. J. JACQUES, A. R.; Doce de leite elaborado em evaporador, com leite semidesnatado concentrado. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.20, n.141, p.29-32, 2006.

FERREIRA, L. O.; PEREIRA, P. A. P.; MARIA, J.; PINTO, S. M. Avaliação das características de qualidade de doces de leite comerciais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.67, n.387, p.05-11, 2012.

- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para a análise de alimentos**. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo. 4 ed., v. 1, 2008. 1020p.
- HENTGES, D.; SILVA, D. T.; DIAS, P. A.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; ZONTA, M. N.; TIMM, C. D. Pathogenic microorganism survival in dulce de leche. **Food Control**, 21 1291–1293, 2010.
- JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- LAMAITA, H. C.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; CARMO, L.S.; SANTOS, D.A.; PENNA, C.F.A.M.; SOUZA, M.R. Detecção da toxina da Síndrome do Choque Tóxico (TSST-1) a partir de cepas coagulase positivo e negativo isoladas de amostras de leite cru em propriedades rurais de Minas Gerais. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104-105, p. 93-95, jan./fev. 2003.
- MACHADO, L. M. P. **Uso de soro de queijo e amido de milho modificado na qualidade do doce de leite pastoso**. 2005. 170f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimento) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- MADRONA, G. S. ZOTARELLI, R. B.; BRANCO, I. G. Estudo do efeito da adição de soro de queijo na qualidade sensorial do doce de leite pastoso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n.4, p.826-833, out-dez. 2009.
- MADRONA, G. S.; ZOTARELLI, M. F.; BERGAMASCO, R. Estudo do efeito da adição de soro de queijo na qualidade microbiológica do doce de leite pastoso. **Revista brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 01, n. 01, p. 81-86, 2008
- OLIVEIRA, R. M. E.; OLIVEIRA, A. R. C.; RIBEIRO, L. P.; PEREIRA, R.; PINTO, S. M.; ABREU, L. R. Caracterização química de doces de leite comercializados a granel em Lavras/MG. **Revista do Instituto “Cândido Tostes”**, Nov./dez., n. 377; v. 65; p. 5-8, 2010.
- PASSOS, F. R.; FERNANDES, R. V. B.; LIMA, C. F.; PRADO, R. G.; ROCHA, R. A. R.; SILVA, T. Avaliação da qualidade de marcas comerciais de doce de leite pastoso comercializados na região do Alto Paranaíba/MG. **Magistra**, Cruz das Almas-BA, v. 25, n. 3/4, p.251-259, jul./dez., 2013.
- PIERETTI, G. G., SEOLLIN, V. J. BENTO. R. S.; MICHKA, J. M.; SANTOS, R. D.; MADRONA, G. S. Doce de leite pastoso elaborado com açúcar mascavo: avaliação sensorial, físico-química e microbiológica. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 390, p. 59-64, 2013.
- TIMM, C. D.; Conceição, R. C. S. Coelho, F. J. O.; Roos, T. B.; Tejada, T. S.; Quevedo, P. S.; Hentges, A.; Brasil, N. D. A. Avaliação microbiológica de doce de leite pastoso. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 3, p. 275-277, 2007.
- VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, and D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association – APHA, 3 ed., 2001.
- VIEIRA, L. C.; LOURENÇO JÚNIOR, J. de B. Tecnologias de fabricação dos Doces de Leite Pastoso em Tabletes. **Embrapa: Comunicado técnico**, Belém, v. 1, n.1, p.1-3, dez. 2004. Disponível em: <[http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18778/1/com\\_tec.111.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18778/1/com_tec.111.pdf)>. Acesso em: 05 abr. 2014.