



**8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo**

DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE BEBIDA SIMBIÓTICA

Rafaela F. **Gatti**¹; Fabiana K. H. S. **Trento**²;

Rita C. S. **Ormenese**³; Aline **Garcia**⁴; Darlila A. **Gallina**⁵

¹ Faculdade de Engenharia de Alimentos, FAJ; ^{2,5} Instituto de Tecnologia de Alimentos, TecnoLat; ^{3,4} Instituto de Tecnologia de Alimentos, CCQA

Nº 14209

RESUMO – Elaborou-se e caracterizou-se em escala semi-industrial uma bebida a partir de leite fermentado simbiótico e polpa de frutas vermelhas. O produto elaborado (triplicata) foi avaliado microbiologicamente (coliformes a 30-35°C e 45°C, bolores e leveduras); quanto a viabilidade dos probióticos e composição (pH, acidez titulável, extrato seco total, gordura total, proteína total, cinzas, carboidratos totais) com 1 dia de fabricação. Realizou-se o teste de aceitabilidade e definiu-se o perfil sensorial da bebida através da análise descritiva quantitativa, estimando sua vida útil. A bebida apresentou qualidade higiênico-sanitária apropriada e composição físico-química (média) de 4,27 para pH; 0,84 g ácido láctico/100 gramas de acidez titulável; 20,21% de extrato seco total; 0,22% de gordura total; 2,25% de proteína total; 0,59% de cinzas e 17,15% de carboidratos totais. O probiótico Howaru Bifido (HN 019) manteve níveis de 8 log UFC.mL⁻¹ durante 40 dias (10±2°C) sendo apropriado neste produto. Mais de 80% dos consumidores gostaram da bebida e 48,3% demonstraram atitude positiva quanto à intenção de compra. A aceitabilidade de modo global e sabor ficou entre “gostei pouco” e “gostei”; aparência e aroma próximas a “gostei” e intensidade do sabor da fruta próxima ao ideal. A intensidade da doçura e consistência foi ideal e um pouco menos que ideal, do sabor de leite fermentado e acidez entre ideal e um pouco mais que ideal. Os atributos que caracterizaram a bebida foram: Aparência (cor de frutas vermelhas), Odor (frutas, lácteo), Sabor (frutas, lácteo, doçura, acidez) e Sensação na boca; e a qualidade global continuava admissível por 42 dias.

Palavras-chaves: leite fermentado, fibras, bifidobactérias, polpa de frutas, viabilidade.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP; rafaella.gatti@hotmail.com

2 Colaborador, Pesquisador científico, TecnoLat, ITAL, Campinas-SP.

3, 4 Colaborador, Pesquisador científico, CCQA, ITAL, Campinas-SP.

5 Orientador: Pesquisador científico, TecnoLat, ITAL, Campinas-SP; darlila@ital.sp.gov.br



ABSTRACT- *A drink from symbiotic fermented milk and red fruits pulp was elaborated in half-industrial scale and characterized. The product produced (triplicate) was evaluated microbiologically (coliforms 30-35°C and 45°C, yeasts and molds); the viability of probiotics and composition (pH, titratable acidity, total dry matter, total fat, total protein, ashes and total carbohydrates) after one day of manufacture. The acceptability test was carried out and set up the sensory profile of the drink by quantitative descriptive analysis, estimating its shelf life. The drink presented appropriate sanitary quality and physico-chemical composition (average) of: pH of 4,27; titratable acidity of 0,84 g acid lactic/100 grams; 20.21% of total dry matter; 0.22% of total fat; 2.25% of total protein; 0.59% of ashes and 17.15% of total carbohydrates. The probiotic Bifido Howaru (HN 019) maintained levels of 8 log UFC.mL⁻¹ for 40 days (10±2°C) that indicates it was appropriate in this product. Over 80% of consumers liked the drink and 48.3% showed positive attitude towards purchase intention. The means of the overall and taste acceptability were between "Like Slightly" and "Like Moderately"; the means of appearance and aroma acceptability were next to "Like Moderately" and the mean of intensity of fruit flavor was next to ideal. The means of intensity of sweetness and consistency were between the ideal point and a little less than ideal, the taste of fermented milk and acidity were between ideal point and a little more than ideal. The attributes that characterized the drink were: Appearance (color red fruits), Smell (fruit, milk), Flavor (fruit, milk, sweetness and acidity) and Sensation in the mouth, and the overall quality was still admissible for 42 days.*

Key-words: fermented milk, fiber, bifidobacteria, fruit pulp, viability.

1) INTRODUÇÃO

Atualmente os alimentos são vistos como um veículo de promoção do bem estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutores dos riscos de algumas doenças, incentivando as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios e visando atender à demanda por produtos que sejam ao mesmo tempo saudáveis e atrativos (KOMATSU *et. al.*, 2008). São considerados alimentos funcionais aqueles que além de fornecerem a nutrição básica promovem a saúde. Esse potencial é obtido através de mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo ser salientado que esse efeito restringe-se a promoção da saúde e não a cura de doenças (SANDERS, 1998). Assim, alimentos que contenham probióticos e prebióticos são considerados funcionais. "Smoothie" é uma bebida feita com suco de fruta, refrescante e menos calórica, com aparência semelhante ao de "milkshakes", porém, originalmente criada sem adição de leite. A fusão de produtos lácteos e bebidas de frutas marca a introdução de "juiceceuticals" como bebidas de iogurte e frutas que são



exemplos típicos de produtos lácteos híbridos oferecendo saúde, sabor e conveniência (KRUPA et al., 2011). A viabilidade e a estabilidade de culturas probióticas têm sido um desafio tecnológico para as indústrias processadoras. Alimentos probióticos devem conter linhagens específicas de micro-organismos probióticos e manter um nível apropriado de células viáveis durante o armazenamento do produto, sem interferir no sabor e textura (GALLINA et al., 2012).

Este projeto objetivou elaborar em escala semi-industrial uma bebida simbiótica, obtida a partir de leite fermentado com probióticos e inulina adicionada de polpa de frutas vermelhas visando atender a demanda do consumidor por alimentos mais saudáveis.

2) MATERIAL E MÉTODOS

Material

Cultura termofílica Yo-mix-863 LYO (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*); cultura probiótica (*Bifidobacterium* ssp.), Howaru Bifido (lactis HN 019); leite em pó desnatado (Molico, Nestlé) e leite desnatado tipo A (Xandô); polpa pasteurizada de frutas vermelhas (morango/framboesa/amora) (De Marchi); sacarose (açúcar União); inulina (Orafti GR).

Métodos

2.1.1. Suspensão e Contagem das culturas

Efetou-se a suspensão das culturas em leite tipo A integral tratado termicamente (115°C/15 min.) e resfriado a 44°C. Alíquotas foram transferidas para tubos estéreis e estocadas a -20°C. Foi realizada a curva de fermentação da cultura Yo-mix-863-LYO a 44±1°C até pH 4,6±1, utilizando 2mL de alíquota da cultura por litro de leite tratado termicamente (85°C/25 min.), e a contagem das bactérias lácticas totais. Já para a contagem dos probióticos (UFC/mL) no fermento alíquotado empregou-se meio seletivo para *Bifidobacterium* ssp.

2.2. Elaboração da bebida tipo *smoothie* simbiótico em planta piloto e caracterização do produto.

A bebida tipo *smoothie* simbiótico foi produzida em triplicata (n=3). Para elaboração do leite fermentado foi utilizado leite desnatado tipo A, 10% de sacarose e 4% de inulina. Esta mistura base foi tratada termicamente por 85°C por 20-30 minutos, resfriada e adicionada da cultura (*Yo-mix* 863 LYO) e da cultura (Howaru Bifido). A fermentação foi conduzida a 42°C até pH 4,7 ±0,1. O leite fermentado foi homogeneizado e adicionado da polpa de frutas vermelhas previamente



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

descongelada, na proporção 60/40 (m/m), respectivamente. As bebidas elaboradas foram estocadas em câmara fria a $10 \pm 2^\circ\text{C}$.

A polpa de frutas vermelhas (morango, framboesa e amora) empregada na bebida foi caracterizada quanto ao pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis totais ($^\circ\text{Brix}$).

As bebidas foram avaliadas microbiologicamente (coliformes a $30\text{-}35^\circ\text{C}$ e 45°C , bolores e leveduras); quanto a viabilidade dos probióticos e composição (pH, acidez titulável, extrato seco total, gordura, proteína total, cinzas, carboidratos totais) com 1 dia de fabricação. Durante o período de estocagem foram avaliadas quanto a viabilidade da cultura probiótica, pH e acidez titulável nos dias 10, 20, 30 e 40.

O teste de aceitabilidade do produto foi realizado após 14 dias de fabricação. A caracterização e a estimativa da vida útil do produto foi realizada empregando-se a Análise descritiva quantitativa (ADQ), nos dias 7, 14, 21, 28, 35 e 42.

2.3. Determinações analíticas

2.3.1. Análises Microbiológicas

A contagem seletiva dos probióticos foi realizada de acordo com o Boletim Técnico da Chr-Hansen (Technical Bulletin P-12), com adaptações, empregando-se ágar MRS, cloreto de lítio, dicloxacilina e L-cisteína, incubando-se a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ em anaerobiose por 72 ± 3 horas.

A determinação de coliformes a $30\text{-}35^\circ\text{C}$ foi realizada por meio do procedimento dos tubos múltiplos ou número mais provável (NMP) e os coliformes termotolerantes a 45°C em Caldo Laurilsulfato avaliado-se à fluorescência em luz ultravioleta, de acordo com Wehr & Frank (2004). Os bolores e leveduras foram determinados em Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol com incubação por 5 dias a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (WEHR & FRANK, 2004).

2.3.2. Análises Físico-químicas

O pH, teor de acidez titulável, extrato seco total e gordura foram determinados de acordo com BRASIL (2006). O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método oficial de Kjeldahl, segundo o INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1993). O teor de proteína total foi calculado multiplicando-se o conteúdo de nitrogênio total por 6,38. O teor de resíduo mineral fixo (cinzas) foi determinado de acordo com Horwitz (2000). O teor de carboidratos totais foi determinado por diferença de acordo com a fórmula:

$$\text{Carboidratos totais} = [100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ proteína} + \% \text{ gordura})].$$

2.3.3. Avaliação Sensorial



Aceitabilidade da bebida tipo *smoothie* simbiótico

Sessenta consumidores de iogurte sem restrições quanto à idade, ao sexo e à classe social avaliaram amostras da bebida quanto à aceitabilidade global e em particular da aparência, do aroma e do sabor por meio de escala hedônica de 9 pontos (9=gostei muitíssimo, 5=não gostei nem desgostei e 1=desgostei muitíssimo), quanto à intensidade do sabor de leite fermentado e de fruta, acidez, doçura e da consistência por meio de escala do ideal de 5 pontos (5=muito mais intenso/ ácido/ doce/ consistente do que eu gosto, 3=do jeito que eu gosto e 1=muito menos intenso/ ácido/ doce/ consistente do que eu gosto). As amostras foram servidas na quantidade de 40 mL em copos descartáveis com código de três números aleatórios, na temperatura entre 10 e 15°C sendo oferecida água mineral natural visando limpar o palato. O teste foi conduzido em cabines individuais com iluminação de lâmpadas fluorescentes e equipado com o sistema computadorizado *Compusense Five versão 5.4* para coleta e análise dos dados. Os dados foram submetidos à análises de variância (ANOVA) e Teste de Tukey.

Caracterização e avaliação do produto ao longo de 42 dias pela Análise descritiva quantitativa (ADQ)

Foi realizada a análise descritiva quantitativa (ADQ) conforme terminologia desenvolvida pela equipe treinada para avaliação da bebida fazendo uso de escala não estruturada de 9 cm para avaliação das características de aparência (cor de frutas vermelhas), aroma (frutas vermelhas, lácteo), sabor (frutas vermelhas, lácteo, cozido, doçura, acidez, residual amargo, sabor estranho), sensação na boca (adstringência, consistência/viscosidade) e com avaliação sensorial global quanto à qualidade. As análises foram realizadas individualmente, em cabines com iluminação por meio de lâmpadas fluorescentes e equipadas com o sistema computadorizado *Compusense Five versão 5.4* para coleta dos dados. Cada avaliação foi feita em duplicata, os julgadores recebiam a amostra da bebida identificada com código de três dígitos aleatórios, de forma monádica (MEILGAARD et al, 2006). Os dados obtidos no estudo de vida-de-prateleira foram submetidos à análise do Coeficiente de Correlação de Pearson.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem de bactérias lácticas totais no fermento Yo-mix 863 LYO foi de $6,5 \times 10^9$ UFC.mL⁻¹. Já a contagem de probióticos na alíquota da cultura Howaru Bifido (lactis HN 019) foi de $1,6 \times 10^{10}$ UFC.mL⁻¹.

As contagens de bolores e leveduras nas bebidas (n=3) variaram de <10 a $5,0 \times 10^1$ UFC/mL, enquanto as contagens de coliformes a 30-35°C e 45°C foram <0,3 NMP/mL, durante os 40 dias,



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

estando então de acordo com os limites estipulados pela legislação (BRASIL, 2007), para leites fermentados, produto este similar a bebida simbiótica.

Na Tabela 1 estão expressos os resultados da viabilidade da cultura probiótica nas bebidas tipo *smoothie*, nos três processamentos (P1, P2 e P3) durante o período de estocagem.

Tabela 1. Contagem de probióticos (log UFC. mL⁻¹) nas bebidas após 1, 10, 20, 30 e 40 dias.

Período (dias)	P1	P2	P3
1	8,78	8,68	8,61
10	8,71	8,69	8,12
20	8,42	8,46	8,80
30	8,25	8,41	8,15
40	8,07	8,08	7,74

P1: Processamento 1; P2: Processamento 2; P3: Processamento

A viabilidade dos probióticos no produto se manteve em torno de 8 log de UFC/mL. Em todos os processamentos e períodos de estocagem, a viabilidade se manteve de acordo com a legislação vigente para alimentos funcionais, cuja quantidade mínima viável deve estar situada na faixa de 10⁸ a 10⁹ (UFC) na recomendação diária do produto pronto para consumo (ANVISA, 2008). Portanto, a cultura probiótica empregada Howaru Bifido (lactis HNO 19), se mostrou apropriada para este tipo de produto, mostrando resultados bastante favoráveis para este tipo de aplicação.

Aplicando o teste de Tukey ao nível de 5% de significância, com as médias das 6 repetições (3 processamentos e duplicata amostra) verificou-se houve um decréscimo significativo na contagem de probióticos após 30 dias de estocagem (Tabela 2).

Tabela 2. Contagem dos micro-organismos no *smoothie* simbiótico (log UFC.mL⁻¹).

Período de estocagem (dias)				
1	10	20	30	40
8,6947 a	8,5089 a	8,4434 ab	8,2814 bc	7,9957 c

As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, ao nível de significância de 5%, pelo teste de Tukey.

Esta condição indica que a viabilidade dos probióticos na bebida pode ser preservada praticamente inalterada desde a produção até esse limite de tempo. No entanto, após este período (20 dias) houve um decréscimo significativo, ou seja, os níveis de probióticos diminuíram em função do período de estocagem. De acordo com Klaver, Kingma & Weerkamp (1993) o *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* presente no iogurte produz ácido láctico durante a



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

estocagem refrigerada (pós-acidificação) o que afeta a viabilidade das bactérias probióticas. A redução na contagem de bactérias lácticas probióticas ao final do prazo de validade, também foi observada por Vinderola & Reinheimer (2000) e Thamer & Penna (2005). Apesar do pH e acidez desfavoráveis, a cultura Howaru Bifido (lactis HN 019) se mostrou apropriada para este tipo de produto, mostrando resultados bastante favoráveis para este tipo de aplicação.

O pH e a acidez das bebidas está similares aos observados normalmente em leites fermentados, com pH entre 4,2-4,4 e acidez de 0,6 a 1,0 g de ácido láctico/100g produto. Os teores de gordura as caracterizaram como desnatadas (gorduras totais < 0,5g/100g de produto). Já o teor médio de proteínas totais de 2,2% nas bebidas contendo leite fermentado simbiótico (60%) e polpa de frutas vermelhas (40%) é superior ao normalmente encontrado em bebidas lácteas (mínimo 1,2% de proteína). Desta forma este produto pode ser considerado nutricionalmente adequado devido ao seu teor protéico, além de conter vitaminas e outros constituintes das frutas.

O teor médio de cinzas (0,6%) é similar aos observados para produtos lácteos fermentados com composições aproximadas, em termos de teores de sólidos totais e proteínas. Os teores de carboidratos totais estão dentro do esperado, considerando-se a adição de sacarose, o teor de lactose proveniente do leite desnatado e o teor de carboidratos proveniente da polpa de frutas.

Mais de 80% dos consumidores gostaram da amostra quanto aos aspectos avaliados com uso da escala hedônica, sendo que 48,3% dos consumidores demonstraram atitude positiva quanto à intenção de compra. Quanto à aceitabilidade de modo global e do sabor, verifica-se que a amostra obteve média situada entre “gostei pouco” e “gostei” na escala utilizada. Em relação à aparência e aroma, a amostra obteve médias próximas a “gostei”. Quanto à intensidade do sabor da fruta, verifica-se que a amostra obteve médias próximas ao ideal. As médias da intensidade da doçura e da consistência situaram-se entre ideal e um pouco menos doce/ consistente do que o ideal. As médias do sabor de leite fermentado e acidez situaram-se entre ideal e um pouco mais intenso/ácido do que o ideal. Mais de 40% julgaram o sabor da amostra mais intenso quanto ao sabor de leite fermentado e quanto à acidez, e mais de 20% consideraram o sabor menos intenso quanto ao sabor da fruta e a doçura e menos consistente.

A Figura 1 ilustra o perfil sensorial do produto no início e após 42 dias de estocagem.

Para este estudo, o critério de definição da vida-de-prateleira considerado foi o valor 5,5 da escala de qualidade global, detectado por julgadores treinados, e indica quando o produto deixa de ser considerado bom e passa a ser considerado regular. Realizando-se a regressão do atributo de avaliação da “qualidade global” em função do tempo da bebida simbiótica smoothie ($R^2 = 0,9362$), observou-se que o limite 5,5 da escala de qualidade global não foi alcançado com 42 dias de

estudo, sendo assim, as alterações observadas na ADQ foram consideradas de qualidade aceitável, ou seja, o produto manteve-se aceitável ou com vida útil até 42 dias.

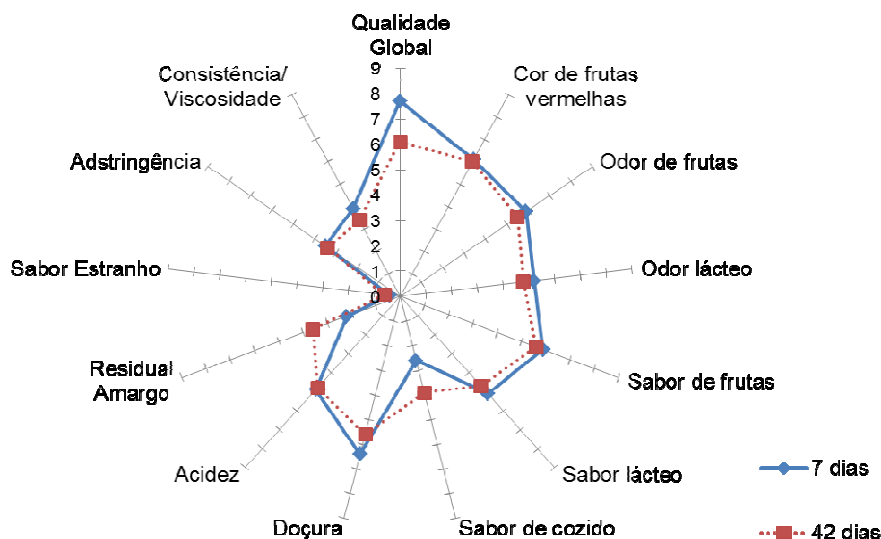


Figura 1. Perfil sensorial do produto.

4. CONCLUSÃO

A bebida tipo smoothie obtida com leite fermentado simbiótico adicionado de polpa de frutas vermelhas apresentou níveis de probióticos durante 40 dias de estocagem refrigerada de acordo com a legislação vigente para alimentos funcionais. O probiótico Howaru Bifido (lactis HN 019) manteve níveis de $7-8 \log \text{UFC.mL}^{-1}$ mostrando-se adequado para aplicação na bebida.

A bebida manteve uma qualidade global aceitável por 42 dias de estocagem refrigerada.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa e financiamento do projeto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Comissões Tecnocientíficas de Acessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos: lista das alegações aprovadas, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm.> Acesso em: 19 jun.14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Instrução Normativa 68 de 12/12/2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. V - Métodos quantitativos. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematica&co>>



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

[digoTematica=987127&dshierarquia=undefined42178750352986980987118987119987127&word](#) > Acesso em: 17. jun.14.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. 23 de outubro de 2007. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematica&codigoTematica=848862&dshierarquia=undefined42178749682848858848862&word>> Acesso em: 23 jun.14.

GALLINA, D. A.; ANTUNES, A. E. C.; AZAMBUJA-FERREIRA, N. C.; MENDONÇA, J. B.; NORBONA, R. A. Caracterização de bebida obtida a partir de leite fermentado simbiótico adicionado de polpa de goiaba e avaliação da viabilidade das bifidobactérias. *Rev. Instituto Lat. Cândido Tostes*, nº 386, v. 67, p. 45-54, 2012.

HORWITZ, W., ed. *Official Methods of Analysis of AOAC International* 17th Ed., 2000, Vol. II. Food Composition; Additives; Natural Contaminants, chap 33 p.10; 54; 61; 71. (Proc. 920.108; 930.30; 935.42 and 945.46).

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. *Determination of the total nitrogen content of milk by Kjeldahl method*. Brussels: FIL/IDF, 1993. 11p.

KLAVER, F.A.M.; KINGMA, F.; WEERKAMP, A.H. Growth and survival of bifidobacteria in milk. **Netherlands Milk Dairy Journal**. v. 47, p. 151-164. 1993.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

KRUPA, H.; JANA ATANU, H.; PATEL, H. *African Journal of Food Science*. Vol. 5, nº 16, pp. 817-832, 2011.

SANDERS M. E. Overview of Functional Foods : Emphasis on Probiotic Bacteria. **Int. Dairy Journal**. v. 8, p. 341 – 347, 1998.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. *Sensory evaluation techniques*. 4th edition, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 2006, 448p.

TECHNICAL BULLETIN P –12. Alternative method for enumeration of Bifidobacteria in fermented milk products. – Guidelines. Chr-Hansen, 2007.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 41, n. 03, jul./set., 2005.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, v. 10, n. 4, p. 271-275, 2000.

WEHR, H. M.; FRANK, J. F. *Standard Methods for the examination of Dairy Products*. 17th edition. APHA-American Public Health Association. Washington, EUA. 2004. 570 p.