

Padronização de método e quantificação de matérias estranhas e filamentos micelianos. I. Doces de frutas em pasta

Standardization of method and quantification of the extraneous materials and mycelial of molds. I. Fruit pastes in sweets

Marlene CORREIA¹
Maria José RONCADA²

RIALA6/922

Correia, M.; Roncada, M.J. Padronização de método e quantificação de matérias estranhas e filamentos micelianos. I. Doces de frutas em pasta. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(2):85-90, 2002

RESUMO. Com objetivos de padronizar procedimentos analíticos e avaliar a contaminação por matérias estranhas e filamentos micelianos de fungos em doces de frutas em pasta industrializados (bananada, goiabada e marmelada), foram colhidas 57 amostras dos doces citados em supermercados da cidade de São Paulo. Os métodos utilizados para determinação dos parâmetros estudados mostraram-se adequados. Quanto aos resultados das análises, 54,4% das amostras apresentaram matérias estranhas (principalmente fragmentos de insetos); 80,7% continham filamentos micelianos pela contagem Howard e 31,6% estavam positivas para hifas de *Geotrichum*. Considerando a legislação de alimentos em vigor, 83,0% das amostras de doces em pasta estavam positivas em pelo menos uma das três determinações, podendo concluir que os produtos analisados apresentaram alto índice de contaminação, tendo como principal fator a presença de filamentos micelianos.

PALAVRAS-CHAVE: Metodologia; doces em pasta; análise microscópica; matérias estranhas; filamentos micelianos; fungos

INTRODUÇÃO

Os produtos alimentícios, principalmente de origem vegetal, nem sempre estão isentos de matérias estranhas como fragmentos de insetos, insetos adultos e suas fases intermediárias, ácaros e pêlos de animais.

Os insetos e os ácaros, além de depositarem suas dejeções sobre os alimentos, causando doenças por fungos, bactérias, vírus, protozoários e helmintos^{6,15,8}, também podem contaminar os produtos com microrganismos que se

encontram aderidos ao seu corpo e pernas^{18,19,5,4}. Além disso, os ácaros podem desencadear processos alérgicos em indivíduos susceptíveis, quando ingeridos com alimentos^{9,2,12,10}.

Entre os insetos, as moscas exercem papel importante na contaminação de alimentos e são potencialmente prejudiciais à saúde humana, por serem vetores passivos de patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos, como *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* e *Vibrio cholera*^{11,13}.

¹ Seção de Microscopia Alimentar, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Av. Dr. Arnaldo, 355, CEP.: 01246-902, e-mail: mcorreia@ial.sp.gov.br

² Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

Os insetos, ao atacarem o alimento, facilitam a entrada de bactérias e fungos e de invasores secundários, como outros insetos e ácaros. Roedores e pássaros, como primeiro nível de consumidores, além de se alimentarem do produto, os contaminam com excrementos, pêlos e penas, propiciando o aparecimento de consumidores de terceiro nível, como outros insetos e ácaros micófitos. Também os excrementos dos consumidores de primeiro nível são utilizados como substrato para o crescimento microbiano e como alimento para alguns consumidores de segundo e terceiro níveis¹⁴.

As frutas mantidas em caixas ou outros espaços confinados formam um microclima favorável ao desenvolvimento dos fungos que podem estar presentes na lesão causada pela colheita ou pelo manuseio inadequado. O extravasamento de líquidos tissulares da fruta facilita a germinação de esporos e, mesmo que os fungos não se desenvolvam o suficiente para produzir a doença na fruta, na industrialização, após o processamento, podem deteriorar o produto¹⁶.

Apesar dos fungos serem inativados na etapa de processamento térmico, durante a industrialização e, portanto, com resultados negativos nas culturas microbiológicas, suas estruturas (hifas) permanecem no produto, freqüentemente de forma fragmentada, indicando que foi utilizada matéria-prima contaminada com esses organismos ou condições inadequadas de higiene durante o processamento¹⁷.

Entre os fungos que podem contaminar os alimentos encontra-se o *Geotrichum candidum* Link, presente no solo e em frutas e hortaliças em decomposição. No campo, seus esporos e fragmentos de micélio são transportados pela mosca-da-fruta que, assim, contamina vegetais sãos, causando, entre outros, a podridão ácida em frutas cítricas e tomates. Esse fungo apresenta como característica o desenvolvimento e aderência do micélio à superfície de equipamentos e utensílios utilizados no processamento dos vegetais, como madeira, metal, borracha e aço inoxidável; em contato com o alimento, esse micélio se desprende, causando contaminação do produto final⁷.

Segundo a legislação de alimentos em vigor³, em relação aos parâmetros microscópicos, os doces em pasta não podem apresentar sujidades, partes de insetos, fungos, detritos orgânicos ou substâncias que indiquem a utilização de ingredientes em condições insatisfatórias ou tecnologia de processamento inadequada.

Como a "Association of Official Analytical Chemists International" (AOAC International)¹ estabelece métodos para a determinação de matérias estranhas em geléias e gelatinas mas não para doces de fruta em pasta, e métodos para contagem Howard em néctar, purê, geléia e doce em pasta de diversas frutas mas não para banana e marmelo, o presente trabalho foi desenvolvido com objetivo de padronizar procedimentos analíticos para matérias estranhas e filamentos micelianos em bananada, goiabada e marmelada e de verificar o nível de contaminação desses doces industrializados e comercializados em supermercados da Cidade de São Paulo, quanto aos dois parâmetros citados.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Amostragem

Para a padronização do método Howard para contagem de filamentos micelianos em doces de frutas em pasta foram colhidas, em supermercados da cidade de São Paulo, 12 amostras-teste, sendo 4 de bananada, 4 de goiabada e 4 de marmelada, além de 4 amostras-teste de cada tipo de geléia das frutas que apresentam diluição padronizada na metodologia da AOAC (goiaba, amora, framboesa e morango).

Para verificar as condições higiênicas dos doces em pasta industrializados, foram realizadas 3 colheitas de amostras de mesma marca e com números de lote/datas de fabricação e/ou validade diferentes em cada colheita, de todas as marcas comercializadas nos principais supermercados da cidade de São Paulo, no período de abril/1998 a janeiro/1999. Como o número de indústrias fabricantes foi diferente para cada tipo de doce, das 57 amostras colhidas, 6 foram de bananada, 36 de goiabada e 15 de marmelada (respectivamente, 2, 12 e 5 marcas).

2. Métodos

Matérias estranhas

O método 16.10.06/950.89a da AOAC¹ para determinação de matérias estranhas (sujidades) em geléias de frutas, foi utilizado para a análise das amostras de doces de frutas em pasta, com a seguinte adaptação de metodologia: pesar 100 g de amostra em frasco armadilha, adicionar 200 mL de água filtrada a 50°C e aquecer em banho-maria até dispersão do material (Figura 1).

As matérias estranhas extraídas e retidas no papel de filtro foram identificadas e quantificadas ao microscópio estereoscópico, com aumento de 30 vezes.

Contagem Howard

No método 16.18.05/982.33AdB (AOAC)¹ para contagem Howard de filamentos micelianos em produtos de frutas, o sedimento obtido na etapa de centrifugação deve ser diluído com solução a 0,5% de carboximetilcelulose. Como o método não estabelece a diluição que deve ser usada para produtos de banana e de marmelo, foi adotado como parâmetro o teor de sólidos solúveis da amostra ou grau Brix (°Brix), medido em refratômetro, baseando-se nos valores de °Brix obtidos após as diluições dos sedimentos resultantes de frutas descritas no método, ou seja: goiaba (1+3); amora, framboesa e morango (1+6), para o que foram utilizadas amostras de geléias.

Foram testadas diferentes diluições com solução a 5% de carboximetilcelulose do sedimento das amostras de bananada, goiabada e marmelada, para a obtenção de valores de °Brix em intervalo semelhante àquele das frutas padronizadas no método citado. Também foi padronizada a alíquota da amostra, utilizando-se 50 g.

O preparo das lâminas e a contagem foram realizados segundo o método 16.17.01/984.29ABC da AOAC¹. Para cada

Determinação de matérias estranhas

Retirar pedaços de diferentes partes da amostra e pesar 100 g em frasco armadilha de 1000 mL. Adicionar 200 mL de água filtrada a 50°C e aquecer, em banho-maria, até dispersar a amostra, mexendo com a haste do frasco. Adicionar 10 mL de HCl, mexer, suspender a haste e prendê-la. Ferver o material em chapa aquecedora durante 5 min. Esfriar até a temperatura ambiente. Adicionar 25 mL de heptano e agitar em agitador magnético, durante 5 min. Completar o volume do frasco com água filtrada e mexer, com a haste, em intervalos de 5 min, durante 20 min. Deixar em repouso 10 min. Extrair em béquer de 400 mL, lavar o gargalo e a haste do frasco com água filtrada e coletar no mesmo béquer. Filtrar a vácuo o material do béquer, sobre papel de filtro riscado.

Contagem Howard para filamentos micelianos

Retirar pedaços de diferentes partes da amostra e pesar 50 g, em béquer de 400 mL. Adicionar 150 g de água filtrada e mexer com espátula para dispersar a amostra. Misturar bem o material do béquer e transferir 40 mL para tubo cônico de centrífuga graduado, de 50 mL. Centrifugar a 2.200 rpm por 10 min. Deixar a centrífuga parar espontaneamente e retirar os tubos. Decantar o sobrenadante sem mexer o sedimento. Ler o volume do sedimento e diluir com solução de carboximetilcelulose na proporção 1+4 (v/v).

Contagem de filamentos micelianos de *Geotrichum*

Misturar bem o material do béquer, transferir 40 mL para tubo cônico de centrífuga graduado, de 50 mL, adicionar 10 gotas de solução de cristal violeta e misturar bem. Imediatamente após a parada da centrífuga, retirar os tubos, decantar o sobrenadante e ler o volume do sedimento. Diluir o sedimento na proporção 1+3 (v/v) com solução de carboximetilcelulose.

Figura 1. Métodos empregados na análise de doces de frutas em pasta

duplicata foram contados 75 campos (3 montagens com 25 campos cada uma) e o número de filamentos micelianos foi calculado por:

$$N = \frac{\text{n}^\circ \text{ de campos positivos} \times 100}{75}$$

onde: N = percentual de campos positivos para filamentos micelianos

Nas análises das 57 amostras comerciais para avaliar a contaminação por filamentos micelianos foi utilizada a diluição 1+4 proposta neste estudo (Figura 1).

Contagem de *Geotrichum*

As amostras de doces de frutas em pasta foram preparadas segundo o procedimento 16.19.13/982.34AdB (AOAC)¹, em duplicata, com 50 g cada (Figura 1). O preparo das lâminas, a contagem e o cálculo do número de filamentos micelianos de *Geotrichum* foi realizado segundo o método 16.19.09/984.30ABC (AOAC)¹.

Para cada amostra, em duplicata, foram preparadas 2 lâminas e a contagem dos filamentos micelianos foi realizada em microscópio estereoscópico, com luz transmitida, e aumento de 30 a 45 vezes. Somente foram contadas as hifas com 3 ou mais ramificações características de *Geotrichum* (hifas com ramificações regulares e em 45°, aparentando uma pena)¹.

O número de filamentos foi calculado pela seguinte fórmula:

$$N = S \times 100$$

onde:

N = número de filamentos micelianos/100 mL de preparação

S = total dos filamentos micelianos contados nas 2 lâminas

Para as três determinações, os resultados foram expressos como a média aritmética dos valores encontrados nas duplicatas.

As análises foram realizadas na Seção de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo/SP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Matérias estranhas

O método de determinação de matérias estranhas em geléias de frutas mostrou-se adequado para os doces de frutas em pasta, com introdução da etapa de dispersão a quente da amostra, resultando em uma extração das matérias estranhas com poucos elementos histológicos dos vegetais, que não interferiram na identificação e contagem das matérias estranhas presentes nos papéis de filtro.

Apresentaram matérias estranhas 31 amostras (54,4%), sendo 1 (16,7%) de bananada, 27 (75,0%) de goiabada e 3 (20,0%) de marmelada.

Tabela 1. Número e percentual de amostras de doces de frutas em pasta, por tipos de matérias estranhas

Tipos	Matérias estranhas Intervalos	Amostras de doces de frutas em pasta					
		Bananada		Goiabada		Marmelada	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Inseto	1-5	0	0,0	1	2,8	0	0,0
Larva	1-5	0	0,0	4	11,1	0	0,0
Exuvia	1-5	0	0,0	5	13,9	1	2,8
Ovo	1-5	0	0,0	9	25,0	0	0,0
Fragmento de inseto	1-5	0	0,0	19	52,8	1	2,8
	6-10	0	0,0	3	8,3	1	2,8
	11-20	0	0,0	1	2,8	0	0,0
Ácaro	1-5	1	2,8	8	22,2	1	2,8
Pêlo de roedor	1-5	0	0,0	1	2,8	0	0,0
Total		6		36		15	

Tabela 2. Diluição e °Brix das amostras-teste de doces de frutas em pasta e geléias.

Tipos de doces	Nº de amostras	Diluição	°Brix *
Goiabada	4	1+4	4,0
Bananada	4	1+4	3,8
Marmelada	4	1+4	3,7
Geléia de amora	4	1+6	3,3
Geléia de framboesa	4	1+6	3,3
Geléia de goiaba	4	1+3	4,0
Geléia de morango	4	1+6	3,4

*Média dos valores obtidos das 4 amostras-teste

Fragments de insetos e ácaros foram os contaminantes encontrados em maior percentual de amostras, enquanto pêlo de roedor foi isolado de 1 amostra de goiabada (Tabela 1). Uma amostra (goiabada) apresentou simultaneamente 4 dos 7 tipos de matérias estranhas isolados.

Os ácaros isolados das amostras de bananada e de marmelada foram identificados como pertencentes à Ordem Acariforme: Família Oribatidae; na goiabada, além destes, foram identificados ácaros da Ordem Parasitiforme: Família Ascidae.

Contagem Howard para filamentos micelianos

Na Tabela 2 são apresentados os resultados dos ensaios para padronização da diluição das amostras-teste de doces de frutas em pasta (representam a média dos valores obtidos nas 4 amostras-teste de cada tipo de doce de fruta em pasta) e das geléias utilizadas como padrão.

Como as amostras-teste de geléias de amora, framboesa, goiaba e morango, após a diluição do sedimento, apresentaram valores de °Brix entre 3,3 e 4,0, adotou-se esse intervalo de °Brix a ser usado para as amostras de bananada, goiabada e marmelada. Assim, empregando-se diluição 1+4 para os doces em pasta, resultaram valores de °Brix entre 3,7 e 4,0 e, portanto, em intervalo semelhante àquele obtido para as amostras-teste

de geléias.

A distribuição dos percentuais de filamentos micelianos dos três tipos de doces de frutas em pasta (Tabela 3), mostraram existir uma maior contaminação nas goiabadas, com 100% das amostras apresentando fungos (valor mínimo 9,0% e máximo 96,0% de campos positivos). Para marmelada, 53,3% apresentaram hifas de fungos com máximo de 35,0% de campos positivos. Em relação às bananadas, foi obtido o maior percentual (66,6%) de amostras isentas de filamentos de fungos e, nos positivos, o valor máximo de 12,0% de campos.

Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores²⁰ que, embora tenham utilizado diluição da amostra diferente da adotada neste estudo, encontraram amostras de goiabada contendo até 100% de campos positivos para filamentos micelianos e de marmelada com até 30% de campos positivos.

Contagem de *Geotrichum*

Assim como verificado nas análises de matérias estranhas e de contagem Howard, as goiabadas apresentaram os maiores percentuais de contaminação (Tabela 4), com 41,7% das amostras contendo hifas de *Geotrichum*, com valor máximo de 2.300 filamentos/100 mL de preparação, sugerindo uma precária

Tabela 3. Números e percentuais de amostras por tipos de doces de frutas em pasta, quanto à contagem Howard para filamentos micelianos.

Percentual de campos positivos	Banana		Goiabada		Marmelada	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0	4	66,6	0	0,0	7	46,7
1—10	1	16,7	1	2,8	5	33,3
11—20	1	16,7	2	5,5	0	0,0
21—30	0	0,0	4	11,1	2	13,3
31—40	0	0,0	3	8,4	1	6,7
41—50	0	0,0	4	11,1	0	0,0
51—60	0	0,0	2	5,5	0	0,0
61—70	0	0,0	7	19,4	0	0,0
71—80	0	0,0	6	16,7	0	0,0
81—90	0	0,0	4	11,1	0	0,0
91—100	0	0,0	3	8,4	0	0,0
Total	6	100,0	36	100,0	15	100,0

Tabela 4. Números e percentuais de amostras por tipos de doces de frutas em pasta, quanto à contagem de filamentos micelianos de *Geotrichum*.

Nº de filamentos micelianos	Banana		Goiabada		Marmelada	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0	6	100,0	21	58,3	12	80,0
1—500	0	0,0	0	0,0	0	0,0
501—1000	0	0,0	5	13,9	2	13,3
1001—1500	0	0,0	5	13,9	1	6,7
1501—2000	0	0,0	3	8,3	0	0,0
2001—2500	0	0,0	2	5,6	0	0,0
Total	6	100,0	36	100,0	15	100,0

seleção das frutas “in natura” ou utilização de matéria-prima em condições higiênicas insatisfatórias. Em nenhuma amostra de banana foi encontrada hifa desse fungo.

Contagens de até 30.000 filamentos de *Geotrichum* em amostras de marmeladas, 60.000 em bananas e 80.000 em goiabadas foram obtidas por outro autor²¹, em estudo realizado com esses doces, de marcas comercializadas em São Paulo, concluindo que a utilização de procedimentos de boas práticas de fabricação como, por exemplo, rigorosa inspeção de equipamentos e utensílios utilizados na elaboração desses doces evitaria ou, pelo menos, diminuiria a contaminação.

CONCLUSÕES

- A adaptação do método para determinação de matérias estranhas em doces de frutas em pasta foi adequada.
- A padronização da diluição da amostra para o método Howard nos produtos cujas frutas não tinham

diluição estabelecida (banana e marmelo), permitiu a contagem de filamentos de fungos em doces em pasta dessas frutas.

- Dos três tipos de doces de frutas em pasta analisados, a goiabada foi o que apresentou maior número de amostras contaminadas, percentuais mais altos de contaminação e maior diversidade de matérias estranhas (4 tipos).
- Os doces de frutas em pasta apresentaram como principal contaminante os filamentos de fungos, determinado pelo método Howard, seguido pelas matérias estranhas, em percentual significativo de amostras (principalmente fragmentos de insetos).
- O percentual de amostras de doces de frutas em pasta com resultados positivos em pelo menos uma das três determinações (matérias estranhas, contagem Howard e contagem de *Geotrichum*) foi de 83%, índice que pode ser considerado alto e tendo como principal fator a presença de filamentos micelianos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São

Paulo (FAPESP), pelo auxílio à pesquisa concedido.

À Márcia Bittar Atui, Pesquisadora Científica do Instituto Adolfo Lutz, pela colaboração na classificação dos ácaros.

RIALA6/922

Correia, M.; Roncada, M.J. Standardization of method and quantification of the extraneous materials and mycelial of molds. I. Fruit pastes in sweets. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 61(2):85-90, 2002

ABSTRACT. In order to standardize analytical procedures and to evaluate the contamination for extraneous materials and mycelial of molds in industrialized fruits pastes in sweets (banana sweet paste, guava sweet paste and quince sweet paste), 57 samples of such sweet products were gathered in supermarkets from São Paulo city, Brazil. The methods used for determination of the cited parameters revealed adequate. In relation to the results of the analyses, 54.4% of the samples presented extraneous materials (mainly insects fragments); 80,7% contained mycelial fragments for the Howard mold counting and 31.6% were positive for mycelial fragments of *Geotrichum* mold. Considering the food legislation in force, 83.0% of the fruit pastes in sweets were positive in at least one of the three determination, we can conclude that the analyzed products presented high index of contamination, having as main factor the presence of mycelial fragments.

KEY WORDS: Metodology; fruit pastes; microscopic analysis; extraneous materials; mycelial fragments; molds

REFERÊNCIAS

1. AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17th ed. Gaithersburg, U.S.A. Cap. 16. (1 CD-ROM), 2000.
2. Blanco, C. et al. Anaphylaxis after ingestion of wheat flour contaminated with mites. **J. Allergy Clinical Immunology**, 99: 308-313, 1997.
3. Brasil, 1978. Resolução Normativa n° 09, de outubro de 1978. Atualiza a Resolução n° 52/77 da CNNPA. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p. 19.825-7, 11 dez. Seção I, pt. 1.
4. Fehllhaber, K.; Janetschke, P. **Higiene veterinaria de los alimentos**. Zaragoza: Acribia; 1992, p. 57-83.
5. Gorhan, J. R. Filth in foods: implications for health. In: Gorhan, J.R., editor. **Principles of food analysis for filth, decomposition and foreign matter**, 3rd ed. Washington (DC): FDA; 1993. p. 27-32. (FDA Technical Bulletin n° 1).
6. Gorhan, J. R. The significance for human health of insects in food. **Annual Review Entomology**, 24: 209-24, 1979.
7. Jay, J. M.. **Microbiologia moderna de los alimentos**. 3^a ed. Zaragoza: Acribia; 1994, 221-233.
8. Larkin, E. P. Food contaminants - viruses. **Journal of Food Protection**, 44: 320-25, 1981
9. Matsumoto, T. et al. Systemic anaphylaxis after eating storage-mite-contaminated food. **Internationat Archivies Allergy Immunology**, 109: 197-200, 1996.
10. Olsen, A. R. Regulatory action criteria for filth and other extraneous materials. II. Alergenic mites: an emerging food safety issue. **Regulatory Toxicology Pharmacology**, 28: 190-198, 1998a.
11. Olsen, A. R. Regulatory action criteria for filth and other extraneous materials. III. Review of flies and foodborne enteric disease. **Regulatory Toxicology Pharmacology**, 28: 199-211, 1998b.
12. Sanchez-Borges, M. Mite-contaminated food as a cause of anaphylaxis. **J. Allergy Clinical Immunology**, 99: 738-743, 1997.
13. Schuller, L. As moscas domésticas e sua importância na transmissão de intoxicações e infecções alimentares. **Higiene Alimentar**, 14: 28-38, 2000.
14. Sinha, R. N. Storage ecosystems. In: Gorhan, J.R., editor. **Ecology and management of food-industry pests**. Ed. Arlington: AOAC; 1991. p. 17-30. (FDA Technical Bulletin n° 4).
15. Stasny, J. T.; Albright, F.R.; Graham, R. Identification of foreign matter in foods. **Scanning Electron Microscopy**, 3:599-610, 1981.
16. Taylor, R. B. Introducción al procesado de las frutas. In: Artley, D.; Ashurst, P. R, editor. **Procesado de frutas**. Zaragoza: Acribia; 1997, p. 1-19.
17. Yokoya, F. Método Howard para contagem de fungos em produtos industrializados. Campinas: UNICAMP. 1993, 12 p.
18. Vasquez, A. W. Recognition of insect fragments. In: Gorhan, J. R, editor. **Training manual for analytical entomology in the food industry**. Washington (DC): FDA; 1977. p. 48-52. (FDA Technical Bulletin 2),.
19. Vasquez, A. W. Hair structure and identification. 1977b. In: Gorhan, J. R, editor. **Training manual for analytical entomology in the food industry**. Washington (DC): FDA; 1977. p. 70-5. (FDA Technical Bulletin 2).
20. Zamboni, C. Q.; Alves, H. I.; Santos, M.C. Contagem de filamentos micelianos em doces em pasta de goiaba, marmelo, pêssego e figo, pelo método de Howard. **Rev Inst. Adolfo Lutz**, 41: 31-55, 1981.
21. Zamboni, C. Q. **Utilização do fungo *Geotrichum candidum* no controle da industrialização de produtos de frutas**. Dissertação de Mestrado, São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 1986, 176 p.

Recebido em 23/09/2002 ; Aprovado em 05/12/2002