

Digestibilidade da proteína de alimentos utilizados na alimentação de ruminantes pelo método das três etapas¹

Protein digestibility of ruminant feeds by the three-step procedure

CAMPOS, Waley Efre^{2*}; BORGES, Ana Luiza Costa Cruz³; SATURNINO, Helton Mattana³; SILVA, Ricardo Reis e⁴; SALIBA, Eloisa Oliveira Simões³; RODRÍGUEZ, Norberto Mario³; SOUSA, Breno Mourão⁴; ROGÉRIO, Marcos Cláudio Pinheiro⁵

¹- Trabalho parcialmente financiado pelo CNPQ e pela Equipe Prodap.

²- Pós-doutorando na Escola de Veterinária da UFMG (EV-UFMG), Minas Gerais, Brasil.

³- Professor(a) da Escola de Veterinária da UFMG (EV-UFMG), Minas Gerais, Brasil.

⁴- Mestre em Nutrição Animal.

⁵- Doutor em Nutrição Animal.

⁶- Professor da Universidade Estadual Vale do Acaraú.

*Endereço para correspondência: wecampos2@yahoo.com.br

RESUMO

Avaliaram-se as proporções de proteína degradável e não-degradável no rúmen do farelo de soja (FS), sorgo grão (SG), caroço de algodão (CA), silagem de milho (SM) e do resíduo industrial de tomate (RIT) pelo método das três etapas. Os alimentos foram inicialmente incubados por 16h no rúmen de bovinos fistulados. Posteriormente, uma quantidade que continha 15mg de nitrogênio foi submetida à digestão em pepsina ácida por uma hora e em pancreatina alcalina por 24h. O FS e o CA apresentaram 97 e 93% de digestibilidade da PB, estando a maior parte desse nitrogênio disponível no rúmen (94 e 92% respectivamente). A proteína do SG apresentou o menor valor de digestibilidade (64%), sendo seguida pelo RIT e pela SM, que apresentaram 72 e 73% de proteína total digestível. Concluiu-se que o FS e o CA apresentaram elevada digestibilidade da proteína, entretanto, a maior parte do desaparecimento ocorreu no rúmen. Apesar da elevada proporção de proteína indigestível, o RIT foi o alimento que mais disponibilizou proteína para ser digerida no intestino.

Palavras-chave: digestibilidade intestinal, proteína não degradada no rúmen.

SUMMARY

The three-step procedure was used to evaluate ruminal degradable and undegradable protein of soybean meal (SM), sorghum grain (SG), cottonseed (CT), corn silage (CS) and tomato by-product (TBP). Feeds were initially incubated in rumen of fistulated steers for 16 h. After that, 15mg of nitrogen were submitted to acid pepsin, for one hour, and alkaline pepsin for 24 h. The SM and CT showed 97 and 93% total protein digestibility, which is the major portion available in the rumen (94 and 92% respectively). The SG protein showed the lowest digestibility (64%) followed by TBP and CS that had 72 and 73% total protein digestibility. It was concluded that SM and CT showed high protein digestibility, however the most portion was degraded in the rumen and that besides the high lignin proportion, the TBP was the one which supplied more available intestinal protein.

Keywords: intestinal digestibility, ruminal undegradable protein.

INTRODUÇÃO

A degradação ruminal da proteína dietética constitui importante fator que influencia a fermentação ruminal e o suprimento intestinal de aminoácidos (aa) para os ruminantes. As proteínas degradável (PDR) e não-degradável (PNDR) no rúmen são constituintes dietéticos que possuem diferentes funções. A PDR provê mistura de peptídeos, aa livres e amônia para o crescimento microbiano, enquanto a PNDR disponibiliza peptídeos e aminoácidos no intestino (NRC, 2001). O conhecimento da dinâmica de degradação ruminal e a digestibilidade intestinal dessas frações protéicas é de fundamental importância para o processo adequado de nutrição dos ruminantes.

Os sistemas de predição de requisitos de ruminantes e de avaliação do valor nutritivo de alimentos trabalham com diferentes valores para a digestibilidade intestinal da PNDR. O NRC (1989 e 1996) e o AFRC (1992) assumem que a digestibilidade intestinal da PNDR é de 80 e 90%, respectivamente. Devido à grande variabilidade de fatores que afetam a quantidade e a qualidade da proteína que atinge o intestino, o NRC (2001) passou a adotar valores de digestibilidade intestinal variáveis para cada alimento e de acordo com o processamento sofrido.

Os métodos para se avaliar a digestibilidade intestinal incluem procedimentos *in vivo*, experimento com animais não ruminantes, técnica *in situ* dos sacos móveis no intestino e técnicas *in vitro* (NRC, 2001). Entre esses métodos de avaliação existentes, a técnica das três etapas proposta por Calsamiglia e Stern (1995) tem sido sugerida (NRC, 2001) devido à facilidade de processamento e alta

correlação com estudos *in vivo*, evitando-se dessa forma a utilização de técnicas onerosas e laboriosas, que ainda requerem a utilização de animais canulados em várias seções do trato gastrointestinal.

Neste experimento teve-se como objetivo determinar a digestibilidade ruminal e intestinal do caroço de algodão, farelo de soja, sorgo grão, silagem de milho e do resíduo industrial de tomate pelo método das três etapas.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliou-se a degradabilidade *in situ* do caroço de algodão (CA), farelo de soja (FS), sorgo grão (SG), silagem de milho (SM) e do resíduo industrial de tomate (RIT).

Na primeira fase, foram utilizados três bovinos adultos machos da raça nelore, canulados no rúmen e alimentados em cochos individualizados, com livre acesso à comida e à água. A dieta dos animais (Tabela 1) foi fornecida às 7 h e às 17 h de forma a permitir 10% de sobras.

A composição dos alimentos utilizados na dieta dos animais e estudados pelo método das três etapas está demonstradas na Tabela 2.

Três amostras de cada um dos alimentos estudados foram moídos em peneira com crivos de 2 mm, sendo incubados 5 g, por 16 horas, em 25 sacos de náilon de 7 x 13 cm e poros de 50 micras, o que corresponde à relação de 27 mg de amostra por cm². Para se ajustar a contaminação bacteriana e por influxo de MS dos saquinhos, foram utilizados sacos vazios em cada um dos tempos, conforme sugerido por Mertens (1993).

Tabela 1. Composição e valor nutricional da dieta dos animais, em porcentagem da MS

Alimento	% da MS
Silagem de milho	27,0
Resíduo de tomate	15,0
Caroço de algodão	5,7
Sorgo grão	41,8
Farelo de soja	8,5
Mineral	2,0
Concentrado	52,3
Valor nutritivo	
PB	15,5
NDT	71,0
FDN	32,5
FDA	19,3
EE	6,1
Ca	0,6
P	0,3

PB = Proteína Bruta, NDT = Nutrientes digestíveis totais,
FDN = Fibra em Detergente Neutro, FDA = Fibra em Detergente
Ácido, EE = Extrato Etéreo, Ca = Cálcio e P = Fósforo

Tabela 2. Composição bromatológica do resíduo industrial de tomate (RIT), silagem de milho (SM), caroço de algodão (CA), sorgo grão (SG) e farelo de soja (FS) avaliados pela técnica das três etapas e fornecidos aos animais, em porcentagem da MS

	MS	PB	FDN	FDA	EE	Lignina	% NIDA no N-Total
RIT	22,1	20,5	63,1	50,8	14,9	17,9	18,6
SM	45,1	6,8	52,3	25,7	4,1	3,5	-
CA	91,1	23,2	46,7	34,5	20,7	14,5	3,6
SG	88,2	11,0	14,5	7,7	3,7	0,3	13,2
FS	91,4	51,1	27,1	12,4	2,1	0,4	1,3

PB- Proteína Bruta, FDN- Fibra Detergente Neutro, FDA- Fibra em detergente ácido e NIDA Nitrogênio Insolúvel em Detergente Ácido

Os saquinhos com as amostras foram incubados no rúmen logo após o fornecimento da primeira refeição (7 h) e retirados após 16 horas, quando, então foram lavados em água corrente, até completo clareamento da água de enxágüe, levados à estufa de ventilação forçada durante 48 horas a 55°C, pesados e determinados os teores de nitrogênio total.

Posteriormente, como o proposto por Calsamiglia & Stern (1995), foi realizada a

pesagem em tubos de 50 mL de diferentes quantidades de amostra, de forma a se obter em 15 mg de nitrogênio em cada tubo. Nesses recipientes, adicionou-se 10 mL de uma solução 0,1 N de HCl, contendo 1 g/L de pesina com pH de 1,9 (Sigma P-7012, Sigma), sendo incubada por uma hora a 38°C sob agitação. Em seguida, adicionou-se 5 mL de NaOH 1N e 13,5 mL de solução de pancreatina (Tampão padrão 0,5 M KH₂PO₄ com pH 7,8, contendo 50 ppm de tymol e

3 g/L de pancreatina [Sigma P-7545, Sigma]) sendo incubada a 38°C por 24h sob agitação. Nesse período as amostras eram agitadas (Vortex) a cada 8h.

Após a incubação, adicionou-se 3 mL de ácido tricloroacético (100% peso/volume) nos tubos para encerrar a ação enzimática e

precipitar as proteínas não digeridas, havendo homogeneização (Vortex) e repouso por 15 minutos. As amostras, então, foram centrifugadas a 10.000 g por 15 minutos, sendo em seguida analisado o nitrogênio presente no sobrenadante pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1980).

A degradação ruminal do nitrogênio foi feita baseada na seguinte equação:

$$\text{Degradabilidade ruminal do N} = 100 \times \frac{\text{Nitrogênio incubado} - \text{Nitrogênio residual}}{\text{Nitrogênio incubado}}$$

A proteína não-degradável no rúmen (PNDR) foi calculada por diferença entre o incubado e o não degradado até as 16 h, sendo a digestibilidade intestinal, em porcentagem, calculada como a quantidade de N digerido após incubação com HCl-pepsina e pancreatina dividida pela quantidade incubada e multiplicada por 100. Para a determinação da digestibilidade total do nitrogênio, considerou-se a digestibilidade do nitrogênio obtida na fase *in situ* e *in vitro*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O CA apresentou a segunda maior degradabilidade ruminal da PB entre os alimentos avaliados, sendo superado apenas pelo FS, (Tabela 3). Os valores obtidos demonstram que, tanto o CA quanto o FS apresentam elevada digestibilidade da proteína, entretanto, a maior parte desse nitrogênio é disponível no rúmen, havendo pequena fração sobrepassante.

Tabela 3. Estimativas de proteína degradável no rúmen (PDR), proteína não- degradável no rúmen (PNDR), digestibilidade intestinal da PNDR (DIPNDR), proteína disponível no intestino (PDI) e digestibilidade total da proteína (DTP) do caroço de algodão (CA), farelo de soja (FS), silagem de milho (SM), sorgo grão (SG) e do resíduo industrial de tomate (RIT)

Alimento	PB (%)	PDR		DIPNDR (%)	PDI (%)	PDI (g/kgMS)	DTP (%)
		%PB	PNDR				
CA	23,2	91,6	8,4	28,1	2,4	5,5	93,9
FS	51,1	94,2	5,8	41,4	2,4	12,3	96,6
SM	6,8	60,6	39,4	30,9	12,2	8,3	72,7
SG	11,0	48,6	51,4	30,8	15,8	17,5	64,4
RIT	20,5	57,9	42,1	34,3	14,4	29,6	72,4

Esse elevado potencial de degradação ruminal do FS e do CA, nas primeiras horas de fermentação, tem sido reportado na literatura (MORON et al., 2001; SANTOS et al., 2003; GÓES et al., 2004; MORON et al., 2004). Trabalhando com o método das três

etapas, Cabral et al. (2001) e Hernández et al. (2002) verificaram 50,9 e 50,8% de PDR, respectivamente para o FS, valores inferiores aos verificados na Tabela 3. Essa mesma tendência foi verificada para o SG e CA. Vale ressaltar que esses autores estimaram a

digestibilidade intestinal da PNDR do FS em 85 e 67% respectivamente, valores superiores aos encontrados neste experimento.

Tal diferença deve-se, provavelmente, aos diferentes potenciais de degradação ruminal verificados entre os dois experimentos, uma vez que esse parâmetro é influenciado diretamente pelo processamento térmico que o alimento sofre durante a extração do óleo do grão de soja (FALDET et al., 1992; CASAMIGLIA & STERN, 1995).

Além disso, a extensão de degradação da proteína no rúmen afeta diretamente a digestibilidade intestinal da PNDR (HVELPLUND et al., 1992; MGHENI, et al., 1994).

A partir dos dados de PDR, PNDR e digestibilidade intestinal da PNDR, reportados por Cabral et al. (2001) e Hernández et al. (2002), foram calculadas as digestibilidades totais para o FS e para o CA. Os valores de digestibilidade total da

proteína calculados a partir dos dados dos respectivos autores foram 91,5% e 92,4%, indicando que independente do local de digestão, rúmen ou intestino, a DTP parece não se alterar muito para o FS. O mesmo parece não ocorrer para o CA que apresentou 81,3% de DTP (CABRAL et al., 2001). Isso pode se dever à associação da proteína com a fibra do CA, tornando aquele composto indisponível. Tal fato é comprovado pela correlação verificada ($p < 0,05$) entre a degradabilidade da PB e a MS (0,94) e entre a PB e a FDA (0,84) do CA, sendo essas correlações calculadas utilizando-se dados desse e de outros experimentos realizados com o mesmo material.

Apesar de serem alimentos protéicos, o CA e o FS forneceram pequenas quantidades de proteína sobrepassante (Figura 1A) em relação a outras fontes como glúten de milho, farinha de peixe e farinha de sangue (CABRAL et al., 2001; HERNANDÉZ et al., 2002).

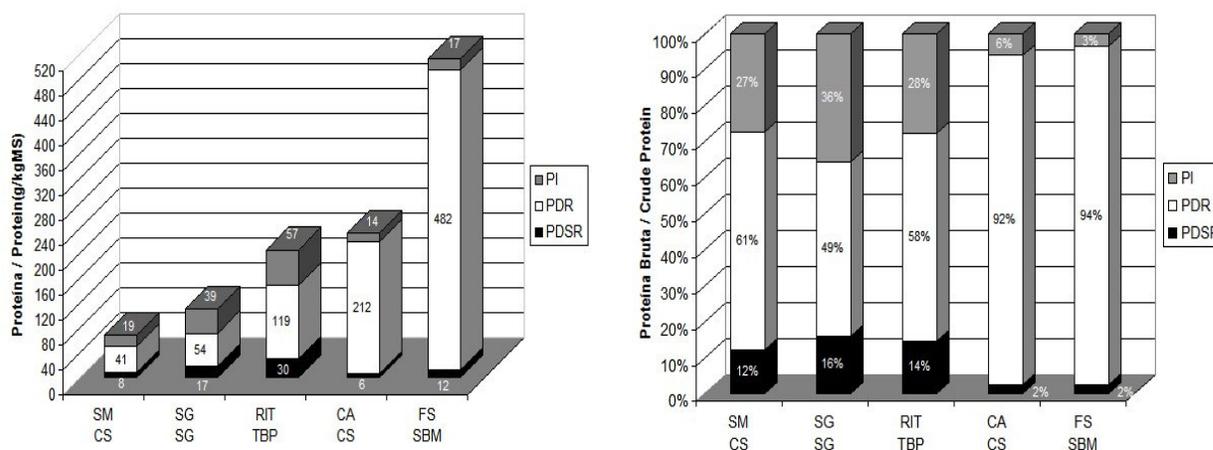


Figura 1. Quantidades (g/kgMs e % da PB) de proteína digestível sobrepassante no rúmen(PDSR), proteína degradável nom rúmen (PDR) e proteína indigestível (PI) da silagem de milho (SM), sogro grão (SG), resíduo industrial de tomate (RIT), caroço de algodão (CA) e do farelo de soja (FS)

Verificou-se que o SG apresentou a menor proporção de proteína digestível (Figura 1B) e a maior proporção de proteína sobrepassante no rúmen (16%) em relação aos demais alimentos avaliados. Apesar de

não ter sido determinada a concentração de tanino no grão de sorgo, esse composto fenólico pode ter sido um dos responsáveis pela menor degradação ruminal da proteína.

Isso porque os taninos tornam a proteína menos disponível no rúmen.

Entretanto, esses compostos podem ser parcialmente hidrolisados em meio ácido, liberando a proteína para a digestão no intestino delgado (MALLOSSINI, PACE & VERNA, 1989; REED, 1995; MAGALHÃES et al., 1997). Corroborando com essa afirmação, Campos et al. (2003) verificaram menor degradabilidade da proteína em cultivares de SG que apresentavam maiores teores desse composto. Utilizando os parâmetros das equações de regressão reportados por Campos et al. (2003), foram calculados os potenciais de degradação da proteína para 16h de incubação, como no método das três etapas. Verificaram-se potenciais de degradação de 42,8 a 50,2% para as diversas cultivares avaliadas, estando o valor reportado para o SG (Tabela 3) abaixo do valor observado para as cultivares sem tanino (50,2%) avaliadas por Campos et al. (2003), o que sugere a presença desse composto no grão utilizado.

Em termos relativos (%), o tipo de resposta da SM e do RIT foi similar para a degradabilidade ruminal e digestibilidade intestinal da PNDR, apresentando esses alimentos frações semelhantes de proteína indigestível (Tabela 3 e Figura 1B). Entretanto, devido ao maior teor de PB, o RIT foi o alimento que supriu a maior quantidade de proteína digestível no intestino delgado entre os alimentos estudados, fornecendo aproximadamente 30g de PB/kgMS (Figura 1A). Esse valor é semelhante aos obtidos para vários alimentos concentrados como milho (33 g/kgMS), caroço de algodão (27 g/kgMS), farelo de trigo (15 g/kgMS) e grão de soja cru (22 g/kgMS) (Cabral et al. 2001). Avaliando o valor nutricional do RIT, Fondevila et al. (1994) verificaram que esse alimento foi tão eficiente quanto o farelo de soja para o suprimento de proteína não-degradável no rúmen.

Dessa forma, o RIT pode suprir boa parte da proteína necessária para a terminação de ruminantes em confinamento, pois a exigência protéica desses animais é relativamente baixa. Isso aliado ao alto teor de extrato etéreo e ao baixo custo (US\$0,10/kgMS) torna a utilização do RIT uma alternativa valiosa para a pecuária nacional. Avaliando economicamente o fornecimento para bovinos de subprodutos da indústria da cevada e do tomate, Su (2005) verificou o menor custo alimentar quando utilizou o RIT *ad libitum* associado a 2kg de concentrado e registrou ganho de 1,16kg/dia a um custo de US\$1,16/kg de ganho. Entretanto, a utilização desse subproduto em animais de alta produção fica limitada devido ao elevado teor de fibra lignificada, o que pode reduzir o consumo (FORBES, 2003).

O fornecimento do RIT sem processamento, como o utilizado no presente experimento, pode alterar a passagem de PNDR para o abomaso, pois a baixa degradabilidade da semente inteira indica que alta porcentagem de nutrientes passa para o trato digestivo inferior para ser digerida (CAMPOS, 2005). Entretanto, a digestibilidade intestinal da PNDR da semente do RIT, onde está a maioria dos nutrientes, pode ser comprometida pela presença da cutícula protetora, constituída de lignina e ceras (PORTE et al., 1993).

Tanto o RIT quanto a SM apresentaram elevada proporção de proteína indigestível, podendo essa fração estar associada à fibra, principalmente no caso do RIT, que sofre processamento térmico intenso. No caso dos volumosos, observou-se que não houve relação entre a fração indigestível da proteína e o NIDA, pois o RIT apresentou 235% a mais de NIDA em relação à SM, sendo a porcentagem de proteína indigestível desses volumosos similar. Tal fato pode se dever a digestibilidade parcial do NIDA do RIT, pois, apesar da correlação negativa entre o NIDA e à digestibilidade do

nitrogênio para alimentos que não sofreram tratamento térmico, tem-se evidenciado que essa fração é parcialmente digestível em alimentos que sofreram esse tipo de tratamento. Isso porque parte do NIDA, oriundo das reações de Maylard, é digestível, não estando claro o local da digestão, se no rúmen ou no intestino delgado (NRC, 2001).

CONCLUSÕES

Os alimentos estudados suprem pequenas quantidades de proteína para o intestino delgado, sendo a maior parte daquele composto degradado no rúmen.

REFERÊNCIAS

AFRC. AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. Nutritive requirements of ruminant animals: protein. **Nutrition Abstracts Reviews** v. 62, p.787-817, 1992.

AOAC. Association Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 13. ed. Washington, 1980, 1015p.

CABRAL, C. S.; VALADARES FILHO, S. C.; MALAFAIA, P. A. Estimação da digestibilidade intestinal da proteína de alimentos por intermédio da técnica de três estádios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 546-552, 2001.

CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. A three-step *in vitro* procedure for estimating intestinal digestion of protein in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1459-1465, 1995.

CAMPOS, W. E. **Utilização do resíduo industrial de tomate na alimentação de**

ruminantes. 2005. 81p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CAMPOS, W. E.; SATURNINO, H. M.; SOUSA, B. M. BORGES, I. Degradabilidade **in situ** da silagem de quatro genótipos de sorgo com e sem tanino. I – Matéria seca e proteína bruta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, p.209-215, 2003.

FALDET, M. A.; SON, Y. S.; SATTER, L. D. Chemical, *in vitro*, and *in vivo* evaluation of soybeans heat-treated by various processing methods. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p.789-795, 1992.

FONDEVILA, M.; GUADA, J. A.; GASA, J. CASTRILLO, J.C. Tomato pomace as a protein supplement for growing lambs. **Small Ruminant Research**, v. 13, p. 117-126, 1994.

FORBES, J. M. The multifactorial nature of food intake control. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.139-144, 2003.

GOES, R. H. T. B.; MANCIO, A. B.; VALADARES FILHO, S. C.; LANA, R.P. Degradação ruminal da matéria seca e proteína bruta, de alimentos concentrados utilizados como suplementos para novilhos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p.167-173, 2004.

HERNÁNDEZ, F. I. L.; VALADARES FILHO, S. C.; LANA, R. P.; MANCIO, A.B.; PAULINO, M.F. Avaliação de dois métodos *in vitro* para determinar a cinética ruminal e a digestibilidade intestinal da proteína de vários alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 256-266, 2002.

HVELPLUND, T.; WEISBJERG, M.R.; ANDERSEN, L.S. Estimation of the true digestibility of rumen undegraded dietary protein in small intestine of ruminants by the mobile bag technique. **Acta Agriculture Scandinava**, v. 42, p. 34-39, 1992.

MAGALHÃES, P. C.; RODRIGUES, W. A.; DURÃES, F. O. M. **Tanino no grão de sorgo**: bases fisiológicas e métodos de determinação. Mato Grosso: EMBRAPA, 1997. 26p.

MALLOSSINI, F.; PACE, V.; VERNA, M. Riduzione mediante trattamenti chimici dell'effetto negativo dei tannini sull'utilizzazione digestiva della granella di sorgo. **Zootecnia and Nutrizione Animal**, v.15, p. 269-275, 1989.

MERTENS, D. R. Rate and extent of digestion. In: FORBES, J. M.; FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Northampton: C.A.B. International, 1993. p.13-52.

MGHENI, D. M.; TORBEN, H.; WEISBJERG, M. R. Intestinal digestibility of rumen undegraded dietary protein from tropical roughages estimated by the mobile bag technique. **Acta Agriculture Scandinava**, v.4, p.230-235, 1994.

MORON, I. R.; OLIVEIRA, E. R.; FERREIRA, I. G. TEIXEIRA, J.C.; DAVID, I.F.F. Cinética da degradação ruminal "*In situ*" da matéria seca de concentrados em bovinos, caprinos e ovinos. II. Farelo de soja e algodão. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004.

MORON, I. R.; TEIXEIRA, J. C.; BUENO FILHO, J. S. S. PERES, J.R.O.; MUNIZ, J.A. Cinética de degradação ruminal da matéria seca de alimentos concentrados e

volumosos através das técnicas *in vitro* e *in situ*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, p.1185-1194, 2001.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 6ed. Washington: National Academy Press. 1989. 157p.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of beef cattle**. 7ed. Washington: National Academy Press. 1996. 196p.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrients requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academy Press. 2001. 380p.

PORTE, E. F.; MANTEROLA, H. B.; CERDA, D. A. Estudios del uso de residuos agroindustriales en alimentación animal. I. Comportamiento productivo de novillos Hereford alimentados con dietas incluyendo niveles crecientes de pomaza de tomate. **Avances en Producción Animal**, n.18, p.55-62, 1993.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of Animal Science**, v.3, p.1516-1528, 1995.

SANTOS, R. A; TEIXEIRA, J. C.; PÉREZ, J. R.O.; PAIVA, P.C.A.; MUNIZ, J.A.; ARCURI, P.B. Estimativa da degradabilidade ruminal de alimentos utilizando a técnica de produção de gás em bovinos, ovinos e caprinos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p.689-695, 2003.

SU, A.K. **Utilization of agricultural by-products in taiwan**. Disponível em: <www.fftc.agnet.org/library/data/eb/eb422/eb422.pdf>. Acesso em 06 jan. 2005.

Data de recebimento: 20/06/2007

Data de aprovação: 30/10/2007