

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE AUTOLISADO PROTEICO DE LEVEDURA PARA UTILIZAÇÃO NA NUTRIÇÃO CANINA

Djonathan Adamante¹; Rodrigo Cesar do Reis Tinini²; Juliana Cristina Baldin³; Carla Machado Souza⁴; Jorge Luiz da Silva Dourado⁵

¹ Faculdade de Ensino Superior de São Miguel do Iguaçu - Uniguaçu. Mestre em Tecnologia de Alimentos. E-mail: adamante@live.com.

² Faculdade de Ensino Superior de São Miguel do Iguaçu - Uniguaçu. Doutor em Zootecnia.

³ Centro Universitário de Indaiatuba/SP. Doutora em Ciências.

⁴ Faculdade Estácio de Belém. Graduada em Engenharia da Produção.

⁵ Faculdade Americana de Anápolis. Acadêmico de Medicina Veterinária.

Resumo

O fornecimento de rações na forma de mistura tem sido a estratégia mais utilizada na nutrição canina, sendo um caminho promissor, devido o crescente aumento da preocupação de fatores como a promoção da saúde, bem-estar e longevidade destes animais domésticos. Diante do crescente aumento da população canina, e em virtude da busca do mercado produtor e consumidor por produtos padronizados, de maior qualidade, textura e sabor, cada vez mais atraentes, a utilização de novos ingredientes que apresentem propriedades nutricionais e sensoriais satisfatórias nas indústrias de rações tornam-se indispensáveis. O objetivo principal da pesquisa foi de realizar análises, a fim de conhecer a composição do autolisado proteico de levedura, quanto suas propriedades físico-químicas e sensoriais, com intuito de se tornar um possível ingrediente para ser utilizado na nutrição de cães. O uso do autolisado proteico de levedura apresentou teores desejáveis para o emprego na nutrição canina, tendo em vista que este subproduto em tese pode fornecer *flavor* apropriado, e, teores protéicos e de minerais essenciais para serem utilizados na formulação de rações.

Palavras-chave: Animais domésticos; Bem-estar animal; Formulação de rações; Promoção da saúde; Teores Proteicos.

PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF YEAST PROTEIN AUTOLYATE FOR USE IN CANINE NUTRITION

Abstract

The supply of feed in the form of mixture has been the most used strategy in canine nutrition, being a promising path, due to the growing concern about factors such as the promotion of health, well-being and longevity of these domestic animals. In view of the growing increase in the canine population, and due to the search of the producer and consumer market for standardized products, of higher quality, texture and flavor, each time more attractive, the use of new ingredients that present satisfactory nutritional and sensory properties in the food industries. rations become indispensable. The main objective of the research was to carry out analyzes, in order to know the composition of the yeast protein autolyzate, as well as its physical-chemical and sensory properties, in order to become a possible ingredient to be used in the nutrition of dogs. The use of yeast protein autolysate showed desirable levels for use in canine nutrition, considering that this by-product in theory can provide an appropriate flavor, and protein and mineral content essential to be used in the formulation of feed.

Keyword: Domestic animals; Animal welfare; Feed formulation; Health promotion; Protein Content.

1 INTRODUÇÃO

A indústria *pet* vem crescendo nos últimos anos no Brasil, a preocupação e o zelo por animais principalmente cães e gatos, juntamente com isso se tem uma preocupação com a qualidade e efetividade dos ingredientes da ração desses animais.

Todo animal necessita de fonte de energia para viver, na grande maioria, deve ser fornecida mediante a ingestão de alimentos. Deste modo, o teor energético presente na dieta está diretamente atrelado ao consumo voluntário. Neste sentido, quando a quantidade de energia presente na dieta é baixa, os animais ingerem mais alimentos, buscando atender suas exigências nutricionais. No entanto, nessa situação, o consumo pode ser limitado pela capacidade física do organismo (PESSOA, 2014).

Nos últimos anos a nutrição animal não ostentava atenção central para a promoção da saúde, bem-estar e longevidade dos animais domésticos, mas sim, era voltado ao fornecimento das necessidades mínimas. Com esta evolução, o número de pesquisas científicas se expandiu e hoje contemos protocolos, métodos e propósitos de investigação totalmente diferentes, que se aproximam bastante da própria dinâmica investigativa da nutrição humana (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010).

Em alimentos completos para cães e gatos, as leveduras têm sido utilizadas por diferentes razões, incluindo maior palatabilidade, fonte de nutrientes, melhoria de textura ou digestibilidade da dieta (SWANSON; FAHEY, 2006).

O fornecimento de rações na forma de mistura tem sido a estratégia mais utilizada na nutrição canina. Diferente de animais de produção, para a nutrição de cães, o preconizado não é rendimento e sim, que o consumo alimentar seja balanceado, adequado as práticas diárias dos animais e que este alimento apresente os nutrientes necessários para se manterem saudáveis. No entanto é importante realizar o cálculo de consumo para que o animal ingira a quantidade ideal de ração (PESSOA, 2014).

Diante do crescente aumento da população canina, e em virtude da busca do mercado produtor e consumidor por produtos padronizados, de maior qualidade, textura e sabor, cada vez mais atraentes, a utilização de novos ingredientes que apresentem propriedades nutricionais e sensoriais satisfatórias nas indústrias de rações tornam-se indispensáveis.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

As definições de nutrição animal se expandem com o passar dos anos, e, atingem fronteiras além da sobrevivência e satisfação da fome. Buscando cada vez mais priorizar a utilização dos alimentos para a promoção do bem estar, promoção da saúde e minimização de doenças infecciosas (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010).

Em 2006, o Conselho Nacional de Pesquisas dos Estados Unidos realizou busca de informações científicas quanto à nutrição de cães e gatos, e, observaram somente informações dispersas sobre a biodisponibilidade de nutrientes e necessidades nutricionais de animais de companhia (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010).

Em decorrência desta evolução, o desenvolvimento futuro na ciência nutricional, é um caminho promissor, sendo comum encontramos fornecedores que desenvolvem rações que aperfeiçoem a saúde e bem-estar destes animais. Estas dietas proporcionam a prevenção de incidências de doenças e através da modificação genética nutricional solucionam possíveis problemas genotípicos, sendo capaz de aumentar e prolongar a expectativa de vida destes animais (ROCHA, 2008).

Na década de 90, era incomum a alimentação de animais domésticos com ração. Hoje no Brasil, estima-se que o número de cães supera a quantidade de crianças nos domicílios. Este patamar proporcionou a quebra deste paradigma e a ampliação de estabelecimentos e empresas especializadas neste tipo de serviço alimentício (MAZON; MOURA, 2017).

Com a ampla inserção dos animais domésticos na vida das pessoas, em especial a população canina, a preocupação de seus donos com a nutrição adequada e o crescimento de fornecedores que visam esta área como ótimo ramo de investimento, certamente, contribuiu para a ampliação de pesquisas, bem como estudos sobre formulação de alimentos habilitados a ampliar a expectativa e a qualidade de vida, pela utilização de ingredientes e nutrientes que almejem a capacidade de suportar doenças e melhorar a saúde (CARCIOFI; JEREMIAS, 2010).

A alimentação é essencial para nutrir as necessidades fisiológicas dos cães e deve ser composta de proteínas, lipídios, aminoácidos, vitaminas minerais, água e baixos teores de carboidrato, por porções adequadas que atendam as exigências nutricionais dos animais (MARQUES et al., 2019).

Este mercado produtor cada vez mais desempenha seus investimentos em melhorias para fornecer formulas nutricionais completas para estes animais. Porém estas perspectivas devem estar diretamente atreladas aos donos destes cães, tendo em vista suas capacidades de percepção e domínio financeiro (ROCHA, 2008).

A partir dos anos de 1970, as rações começaram a serem constituídas com ingredientes com média de 25% de proteínas e 16% de lipídios, com isso, fez com que a ampliação na obtenção de ingredientes que atendessem estes percentuais fosse necessária (MAZON; MOURA, 2017).

O autolisado proteico de levedura é um concentrado da fração solúvel da levedura, fonte natural de compostos voláteis de aroma, atua como agente flavorizante e precursor de sabor, com elevados teores protéicos e de cinzas, apresentados ótimas capacidades nutricionais para ser inserido na alimentação tanto de humanos, como de animais (YAMADA et al., 2010).

Para obter a levedura autolisada comercial, o processo pode ser induzido por mecanismos físicos, químicos e enzimáticos (BABAYAN et al., 1981).

Este ingrediente pode ser utilizado na alimentação de ruminantes na forma *in natura* e na forma seca para animais monogástricos, sendo que de acordo com Machado et al. (2010) apresenta altos teores de proteínas de ótimo valor biológico, além de aminoácidos essenciais e minerais.

Vilela, Sgarbieri e Alvim (2000) realizaram pesquisas com leveduras provenientes de cervejaria e determinaram que a proteína presente nesse microrganismo está de acordo com a exigências da FAO/OMS (1985) sendo que 80 a 85% dessas proteínas eram caseína, comprovando sua boa qualidade nutricional.

Silva et al. (2016) citam diferentes estratégias que podem ser adotadas para redução dos teores de sódio, dentre estes ingredientes, o autolisado proteico de levedura é sugerido como substituto, já que apresenta característica de realçar, potencializar e mascarar o sabor residual deixado pelo substituto.

Pereira et al. (2016) realizaram a alimentação de cento e cinco leitões com 36 a 60 dias com uma única dieta com os mesmos níveis de energia e aminoácidos e foram preparadas para atender às necessidades nutricionais dos animais, à base de farelo de milho e soja, com composições nutricionais de plasma sanguíneo e extrato de levedura e observaram que estes animais adquiriram um melhor efeito residual, a inclusão do extrato de levedura de 1,67% permite a melhora do desempenho em dietas de leitões com 36 a 49 dias de idade.

Sun et al. (2015) realizaram em cento e vinte suínos a suplementação com extrato de parede celular de levedura modificado, composto principalmente de β -glucanos e oligossacarídeo manano, aumentou o ganho médio diário de peso dos porcos ao aumentar o ingestão média diária de ração, mas não afetou a eficiência alimentar.

Em virtude da busca dos proprietários de cães de produtos padronizados, de maior qualidade, textura e sabor cada vez mais atraentes, a utilização de novos ingredientes para rações pelas indústrias torna-se indispensável, como é o caso do autolisado proteico de levedura.

3 METODOLOGIA

O autolisado proteico de levedura foi adquirido de marca comercial. As análises foram realizadas no laboratório de físico-química do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira – PR. Os reagentes utilizados foram de pureza analítica e procedência comercial.

Para obtenção da composição centesimal do autolisado protéico de levedura, as análises de determinação do teor de umidade (método IAL 1985), cinzas (método 900.02) e proteína bruta (método 991.200-12) foram realizadas conforme os procedimentos e normas da AOAC (2005). A análise de lipídeos totais (método 920.39,C) foi realizada em laboratório físico-químico terceirizado, conforme metodologia do IAL (2008). A análise de carboidratos foi realizada por diferença.

A análise de determinação de fibra alimentar total foi realizada em triplicata, segundo a metodologia da AOAC (2005), com algumas adaptações, devido a utilização do digestor de fibras (MA450, Marconi, Piracicaba, Brasil). Primeiramente, foi realizada a digestão ácida com 1 g de cada amostra em *bag* específico do equipamento, onde foi adicionado em Becker 250 mL com 50 mL de H₂SO₄ 1,5 mol L⁻¹, e mantido por 30 min a uma temperatura média de 90 °C. Após, o *bag* contendo a amostra foi resfriamento, e transferido para outro Becker, onde se acrescentou 25 mL de NaOH 1,5 mol L⁻¹ para realização da digestão básica em mesmo tempo e temperatura. Na sequência, os *bags* foram lavados com água destilada, seguido de álcool etílico e acetona, para posterior secagem em estufa a 105 °C e pesagem.

Para determinação do índice de absorção de água (IAA) e óleo (IAO) foram pesados 0,1 g de amostra em tubo Falcon 08 x 50 mL, em triplicata. Adicionou-se 5 mL de água destilada para IAA e 5 mL de óleo de milho para IAO. Posteriormente, foi realizada a agitação em agitador (LogenScientific, LSM56/4) por 2 min seguido de repouso por 5 min. As amostras foram centrifugadas em centrífuga refrigerada (Cientec, CT 5000-R, Brasil) a 20 °C, 1189.g e 15 min. Em seguida, a água ou óleo sobrenadantes foram escoados por 10 min, e o resíduo pesado em balança analítica para realização do cálculo de absorção de água ou óleo, expressos em porcentagem (LIN; HUMBERT; SOSULSKI, 1974).

$$\text{Equação 1: IAA (\%)} = \frac{\text{Massa da amostra (g)} + \text{Volume de água absorvido (mL)} \times 100}{\text{Massa da amostra (g)}}$$

$$\text{Equação 2: IAO (\%)} = \frac{\text{Massa da amostra (g)} + \text{Volume de óleo absorvido (mL)} \times 100}{\text{Massa da amostra (g)}}$$

Para determinação da capacidade de formação de gel foram preparadas soluções para cada amostra em estudo contendo 5 g de amostra e 35 mL da solução tampão fosfato de sódio 0,01 mol L⁻¹ em Becker. Agitou-se manualmente a solução por 5 min com bastão de vidro. Após a homogeneização, cada solução foi submetida a aquecimento a 80 °C em banho-maria, sendo feita agitação manual a cada 5 min até computar 30 min. Posteriormente, as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e analisadas visualmente quanto a formação de gel (JU; KILARA, 1998).

A validação foi necessária para verificação dos dados significativos e repetição das análises em triplicata para cada ensaio selecionado. Posteriormente, foi realizada a ANOVA e teste de comparação de médias Tukey ($p \leq 0,05$) em programa STATISTICA 10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No processo de avaliação dos alimentos, diferentes análises podem ser realizadas. O objetivo principal das análises realizadas, foram de conhecer a composição do autolisado protéico de levedura, quanto suas propriedades físico-químicas e sensoriais, com intuito de se tornar um possível ingrediente para ser utilizado na nutrição de cães.

As análises físico-químicas do autolisado proteico de levedura foram realizadas em triplicata e os resultados expressos pela média $\pm$ desvio padrão são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização físico-química do Autolisado Proteico de Levedura.

	Cinzas	Proteínas	Lipídios	CHO*	Umidade	FAT**
Amostra	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Médias $\pm$ Desvio Padrão						
APL**	30,54 $\pm$ 0,14	47,60 $\pm$ 4,21	0,37 $\pm$ 0,16	1,22	20,27 $\pm$ 0,35	0,47 $\pm$ 0,27

* CHO: Carboidratos; **FAT: Fibra Alimentar Total***APL: Autolisado Proteico de Levedura

Fonte: Autoria própria (2020).

As análises físico-químicas do autolisado proteico de levedura foram realizadas com o intuito de caracterizá-lo e verificar se suas propriedades condizem com o estabelecido por legislação. O ingrediente apresentou teor de umidade de 20,27% o que não é recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que preconiza teores de 15% para matéria seca, podendo chegar até 18% para produtos originados da mandioca, mostrando uma possível falha no armazenamento (BRASIL, 2018).

No estudo realizado por Yamada et al. (2010) a massa de levedura obtida em destilaria de álcool apresenta capacidade de realçar sabor nos alimentos. Ao analisar a composição centesimal da célula íntegra e dos derivados de levedura de destilaria de álcool, foi encontrado valores de proteína de 39,6% para célula íntegra, 40,4% para autolisado, 50,7% para o extrato e 62,4% para o concentrado proteico fosforilado. O autolisado foi quem apresentou um melhor escore de aminoácidos, não apresentando deficiência. Já o concentrado proteico apresentou valores maiores ao grupo caseína (YAMADA et al., 2003).

Os cães, como qualquer outro animal, necessitam ingerir proteína para supri suas necessidades do desenvolvimento muscular e auxílio na regulação do organismo, principalmente em condições de enfermidade. Praticio et al. (2018) avaliaram 42 cães enfermos e selecionaram 18 de acordo com escore realizado, para realizar o tratamento por meio da ingestão via parenteral de alimentação, dividindo em três tipos de encervação: solução cristalóide; glicose e aminoácido; ou glicose, aminoácido e lipídios. Observaram que os cães

que receberam apoio nutricional com maiores teores de proteína, não apresentaram perda de peso, melhorando o balanço de nitrogênio e resposta comportamental.

A utilização de ingredientes que confiram odor são de suma importância, já que os cães apresentam capacidade seletiva de seu alimento. Rocha (2008) cita a utilização de ingredientes naturais encontrados em plantas como o extrato de *yucca schidigera* para conferir esse *flavor* ao alimento, além de ser redutor de odor fecal e possível antibacteriano.

O autolisado proteico de levedura apresentou resultado elevado para cinzas, de 30,54%, sendo característico deste ingrediente, devido a utilização do cloreto de sódio, que é adicionado como agente plasmolisante no processo de autólise. Para os teores de lipídeos e carboidratos, apresentaram valores de 0,37% e 1,22% respectivamente. Estes valores já eram esperados, já que os lipídeos são eliminados pelo processo de lavagem, anterior a fase de precipitação, e, quanto o teor de carboidratos não foi possível calcular o desvio padrão, devido ter sido realizado por diferença, sendo os teores característicos de cada ingrediente e conforme quantidade de proteína que varia média de 30 a 70% da composição (YAMADA et al., 2010).

A análise físico-química de determinação de fibra alimentar total de todos os ingredientes foi realizada em triplicata e os resultados expressos pela média $\pm$ desvio padrão conforme apresentados na Tabela 1, foi realizada com intuito de verificar se os teores de carboidratos condiziam com os valores obtidos quando avaliadas por meio de diferença em relação aos demais compostos.

Conforme demonstrado, observa-se que o percentual de fibra alimentar total, não passou de 1%, sendo a média de 0,47%. Estas características se devem a baixa concentração de constituintes fibrosos que não são absorvidos por nosso organismo, como celuloses, hemiceluloses, gomas, oligossacarídeos, pectinas, entre outros.

Na Figura 1 estão apresentados os resultados para os índices de absorção de água (IAA) e óleo (IAO) do Autolisado Proteico de Levedura.

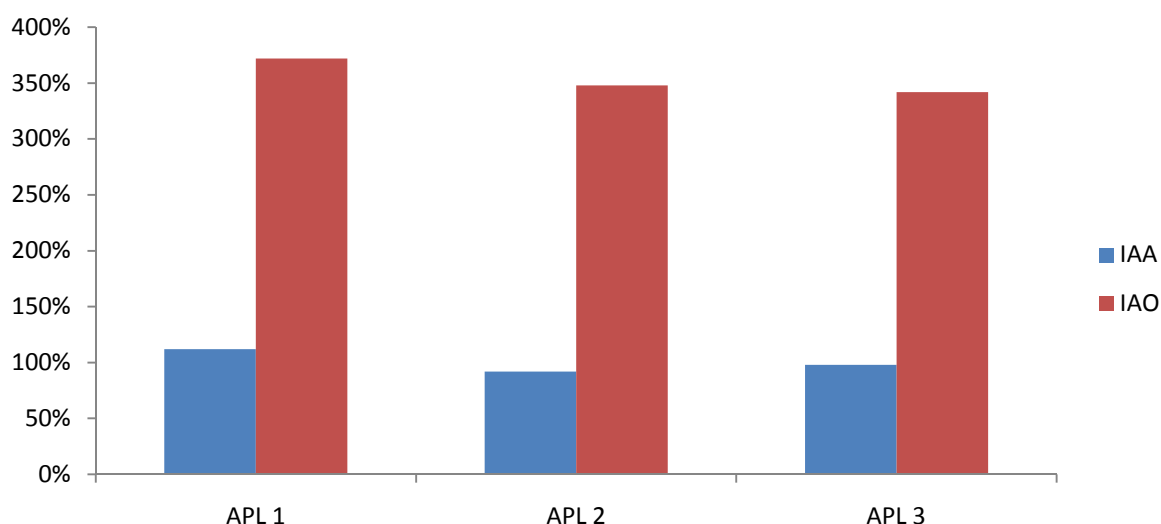


Figura 1 – Índice de absorção de água (IAA) e óleo (IAO) do Autolisado Proteico de Levedura

Fonte: Autoria própria (2020).

O percentual médio das triplicatas encontrados foram de 101% para IAA e 354% para IAO, respectivamente. Os valores para as duas análises se demonstraram inferiores quando comparado ao disposto na bibliografia onde relatam que os percentuais para matéria seca podem chegar a 10 vezes o peso da amostra analisada.

Quanto à determinação da capacidade de formação do gel foi verificada de forma visual, sendo que a mudança do estado líquido para viscoso foram classificados como “formação de gel” e caso contrário, foram classificados como “não formadores de gel”. Para todas as amostras não houve formação de gel, isto pode ter ocorrido devida o baixo teor de carboidratos, e, ou a concentração utilizada de amostra/tempo para realização da análise foi insuficiente para as proteínas agirem e ocorrer à formação de gel. E por se tratar de um concentrado da fração solúvel da levedura não forma gel.

O processo de extrusão e autólise estão diretamente relacionados ao processo de gelatinização, e o fato de alterar a proporção, com maiores teor de proteínas, favorece a obtenção de produtos com aparências diferenciadas, e, o equilíbrio da crocância do produto (REIS et al., 2017).

Para compor a formulação de rações, os ingredientes suplementares devem conferir o melhoramento do produto, quanto sua eficiência e qualidade, sem modificar suas características primárias (HILCKO et al., 2009).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do autolisado proteico de levedura na nutrição canina torna-se interessante à medida que proporciona um produto com *flavor* apropriado, e, teores protéicos e minerais essenciais para serem utilizados na formulação de rações.

No entanto, as informações científicas sobre este ingrediente ainda são escassas, apresentado conforme visto na discussão, valores variáveis.

Por fim, pesquisas relacionadas ao estudo do emprego deste ingrediente em formulações, com a realização de testes sensoriais, são imprescindíveis. Além disso, deve ser realizada análise de rendimento, bem como financeiro, relacionando o custo/benefício da utilização deste ingrediente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association Analytical Chemists**. 18 ed. Gaithesburg, Maryland, 2005.

BABAYAN, T. L. et al. Unduced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: morphological effects rheological effects and dynamics of acumulation of extracelular hydrolysis products. **Current Microbiology**. Ney York, v.5, n.3, p. 163-168, 1981.

BRASIL. (ANVISA) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para determinação de prazos de validade para alimentos**. n.16, versão 1, Brasília, DF, 2018.

CARCIOFI, A. C., JEREMIAS, J. T. Progresso científico sobre nutrição de animais de companhia na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.35-41, (supl. especial), 2010.

HILCKO, K. P. et al. Diferentes graus de moagem em dietas para cães. **Ciência Rural**, v.39, n.8, nov, 2009.

Instituto Adolfo Lutz (IAL). Métodos físico-químicos para análise de alimentos/coordenadores Odair Zenebon, NeusSadoccoPascuet e Paulo Tiglea. **Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo - SP, p. 1020, 2008.

LIN, M. J.; HUMBERT, E.; SOSULSKI, S. W. Certain functional properties of sunflower meal products. **Journal of Food Science**, v. 39, p. 368 – 370, 1974.

MACHADO, D. A. V. et al. Levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) *spray-dry*, autolisada e parede celular de levedura na alimentação de frangos de corte. **Veterinária e Zootecnia**. v.17(4): p.541-551,dez, 2010.

MARQUES, M. L. S. et al. Perfil bioquímico sérico de gatos (*Felis catus domesticus*) domésticos submetidos ao consumo exclusivo de dieta seca ou dieta mista. **PUBLEVET**. v.13, n.8, a387, p.1-6, Ago., 2019.

MAZON, M. S. MOURA, W. G. Cachorros e humanos: mercado de rações *pet* em perspectiva sociológica. **Revista de Ciências Sociais Civitas**, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 138-158, jan.-abr. 2017.

PATRICIO, G. C. F. et al. Early parenteral nutrition in enterectomized dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 38(3), p.482-488, março 2018.

PERREIRA, C. M. C. et al. Extrato de levedura mais plasma sanguíneo em dietas para leitões de 36 a 60 dias. **Ciência Rural**. v.46, n.6, Santa Maria, junho, 2016.

PESSOA, S. R. A. Nutrição Animal: conceitos elementares. **Editora Érika**, 1ed. p.1-120, São Paulo, 2014.

REIS, J. S. Amido resistente, um potencial ingrediente para ser considerado em alimentos funcionais para cães. **Archivos de zootecnia**. v. 66, n. 256, p. 640, set, 2017.

ROCHA, M. A. Biotecnologia na nutrição de cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 37, suplemento especial, p.42-48, 2008.

SUN, Y. et al. Impacts of low level aflatoxin in feed and the use of modified yeast cell wall extract on growth and health of nursery pigs. **Animal Nutrition**. v.1, p. 177–183, 2015.

SWANSON, K. S.; FAHEY JÚNIOR, G. C. Potential role of yeasts and yeast byproducts in pet food. In: LAUE, D.; TUCKER, L. A. **Recent Advances in pet Nutrition**. Nottingham: Nottingham University. p.19-36, 2006.

YAMADA, E. A. et al. Composição centesimal e valor proteico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Revista de Nutrição de Campinas**. v. 16, Dez, 2003.

YAMADA, E. A. et al. Utilização de extrato de levedura (*Saccharomyces* sp.) de destilaria de álcool em salsicha. **Journal Food Technologic**, Campinas, Brazil, v. 13, n. 3, p. 197-204, jul./set. 2010.