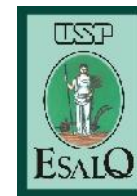




Compostos Nitrogenados

LZT 0580 – Análise e composição de alimentos

Prof. Carla Maris Bittar



Introdução

- Nutriente mais limitante à produção
- Nutriente de alto custo (R\$/ponto percentual)
- Nutrição energética depende da nutrição protéica
- deficiências de energia podem ocorrer em função da deficiência protéica ou mal balanceamento das frações proteicas





Composição de proteína

- Polímeros de aminoácidos
- Funções variadas
 - Catálise, transporte, regulação, estrutura
- Estrutura complexa
 - Vários níveis de organização



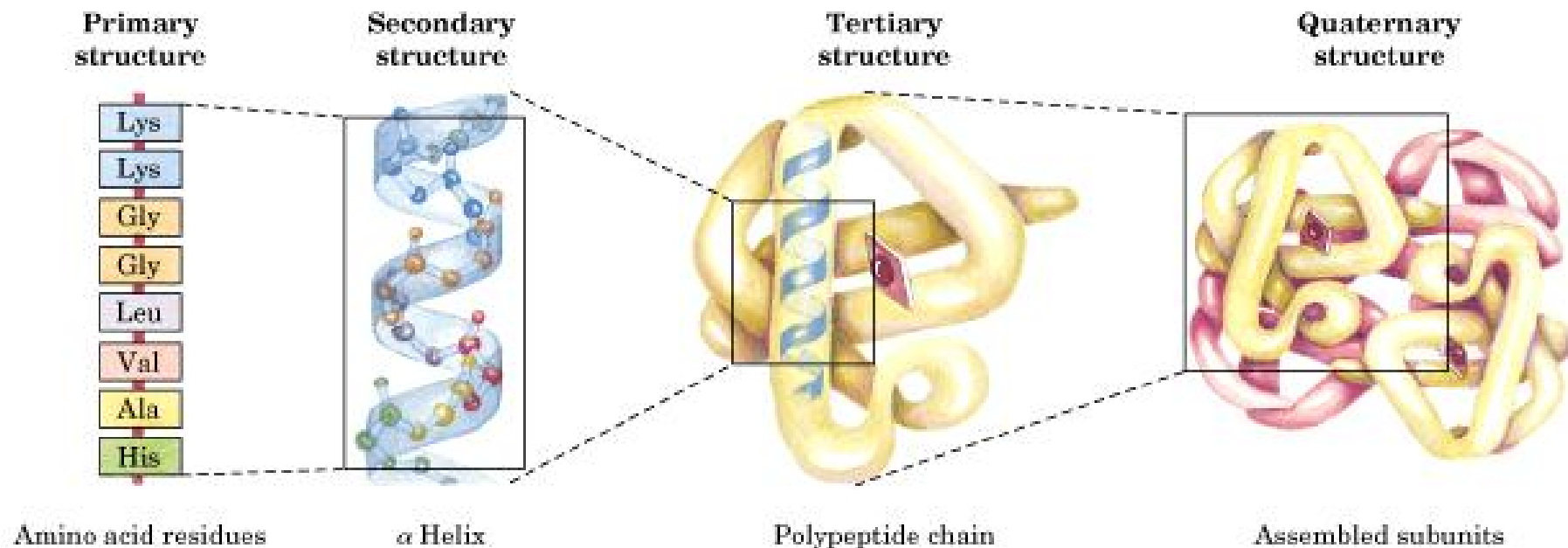
Estrutura de proteínas

Primária: sequência

Secundária: arranjos estáveis

Terciária: formato tridimensional

Quaternária: organização das subunidades



Aminoácidos essenciais



- Organismo animal não sintetiza ou o faz em quantidades insuficientes
- Valor biológico: proteínas que fornecem aa na proporção e em quantidades necessárias
- Exigência depende da espécie e idade
- Proteína ideal





Aminoácidos essenciais

Arginina

Fenilalanina

Histidina

Isoleucina

Leucina

Lisina

Metionina

Treonina

Triptofano

Valina

Glicina*

Quantidade de aminoácidos na dieta de algumas espécies animais



Aminoácido	Pintinho	Peru	Galinha poedeira	Porco	Homem adulto
	% MS da dieta				g/d
Arginina	1,2	1,6	+	0,3	0
Histidina	0,3	-	-	0,3	0
Lisina	1,0	1,5	0,50	1,1	0,8
Triptofano	0,2	0,26	0,15	0,2	0,25
Metionina	0,45	0,53	0,28	0,37	0,22
Fenilalanina	0,8	-	-	0,7	1,10
Leucina	1,4	-	1,2	1,2	1,10
Isoleucina	0,6	0,8	0,5	0,6	0,7
Valina	0,8	-	-	0,6	0,8
Treonina	0,6	-	0,45	0,6	0,5
Glicina	1,0	1,0	+	-	0

Composição em aminoácidos de algumas proteínas vegetais



Aminoácido	Glúten milho	Glúten trigo	Soja	Levedura	Zeína
Arginina	3,1	3,9	7,3	4,5	1,7
Histidina	2,1	2,2	2,9	3,0	1,3
Lisina	1,5	1,9	6,8	7,5	0,0
Triptofano	0,6	0,8	1,4	1,3	0,1
Fenilalanina	6,6	5,5	5,3	4,5	6,2
Metionina	2,5	1,5	1,7	2,0	2,4
Treonina	4,0	2,5	3,9	5,5	3,5
Leucina	16,0	7,0	8,0	7,5	23,7
Isoleucina	5,1	4,2	6,0	6,0	7,3
Valina	5,7	4,1	5,3	5,8	3,5
Glutâmico*	24,5	27,0	18,4	14,7	26,9

Aminoácidos essenciais em proteínas animais (g/100g)



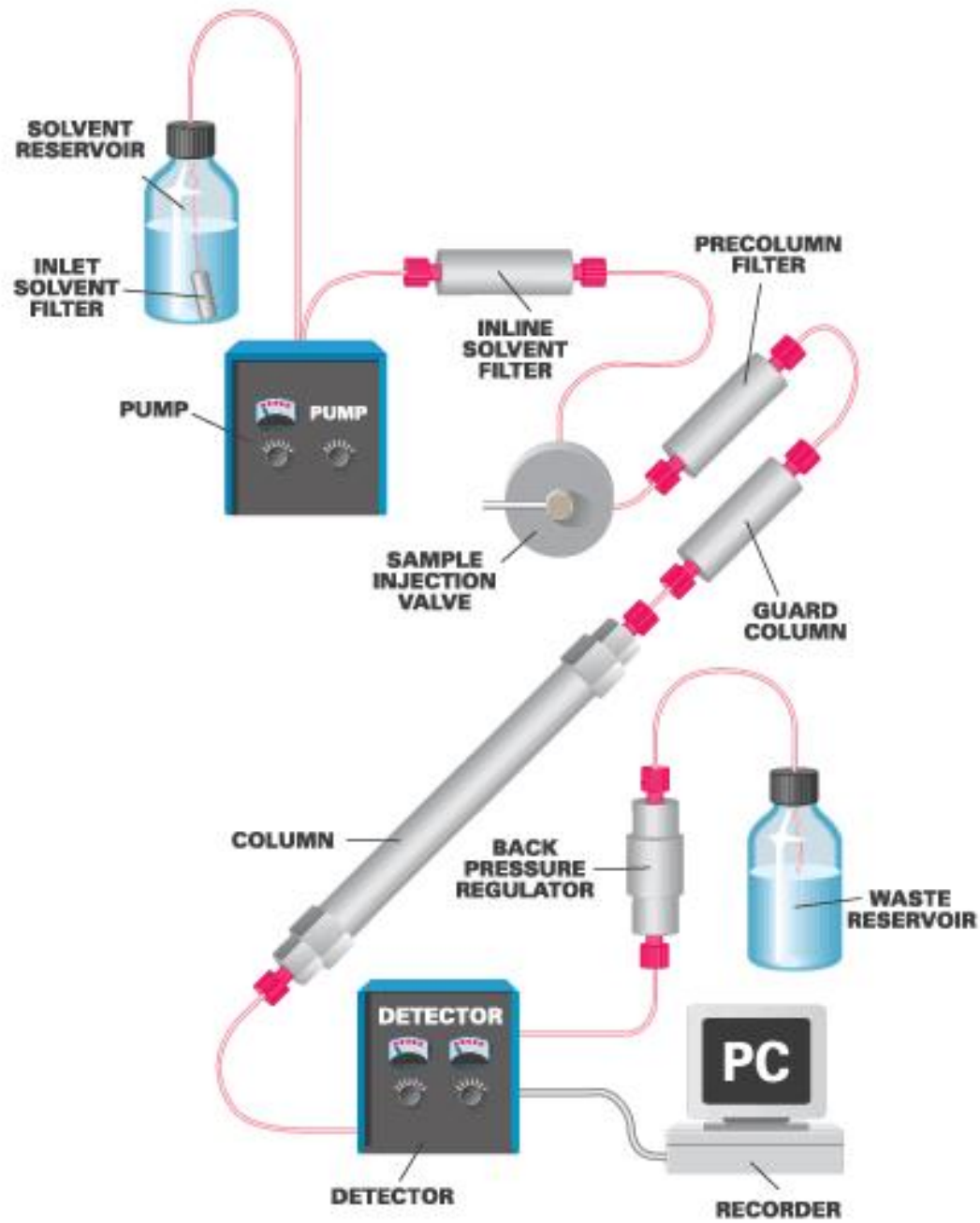
Aminoácido	Gelatina	Albumina ovo	caseína	Carne bovina	Ovo integral	Leite humano
Arginina	8,6	5,9	4,1	7,7	6,7	5,0
Histidina	0,7	2,6	3,1	3,3	2,4	2,7
Lisina	5,0	6,5	8,2	9,0	6,9	7,2
Triptofano	0,0	1,2	1,2	1,4	1,6	1,9
Fenilalanina	2,4	7,7	5,0	5,0	5,8	5,9
Metionina	0,9	5,3	3,4	3,2	3,3	2,0
Treonina	2,2	4,0	4,9	5,0	5,0	4,6
Leucina	3,2	9,9	9,2	8,0	9,4	15,0
Isoleucina	2,1	7,0	6,1	6,0	6,9	5,2
Valina	2,7	8,8	7,2	5,5	7,4	5,5

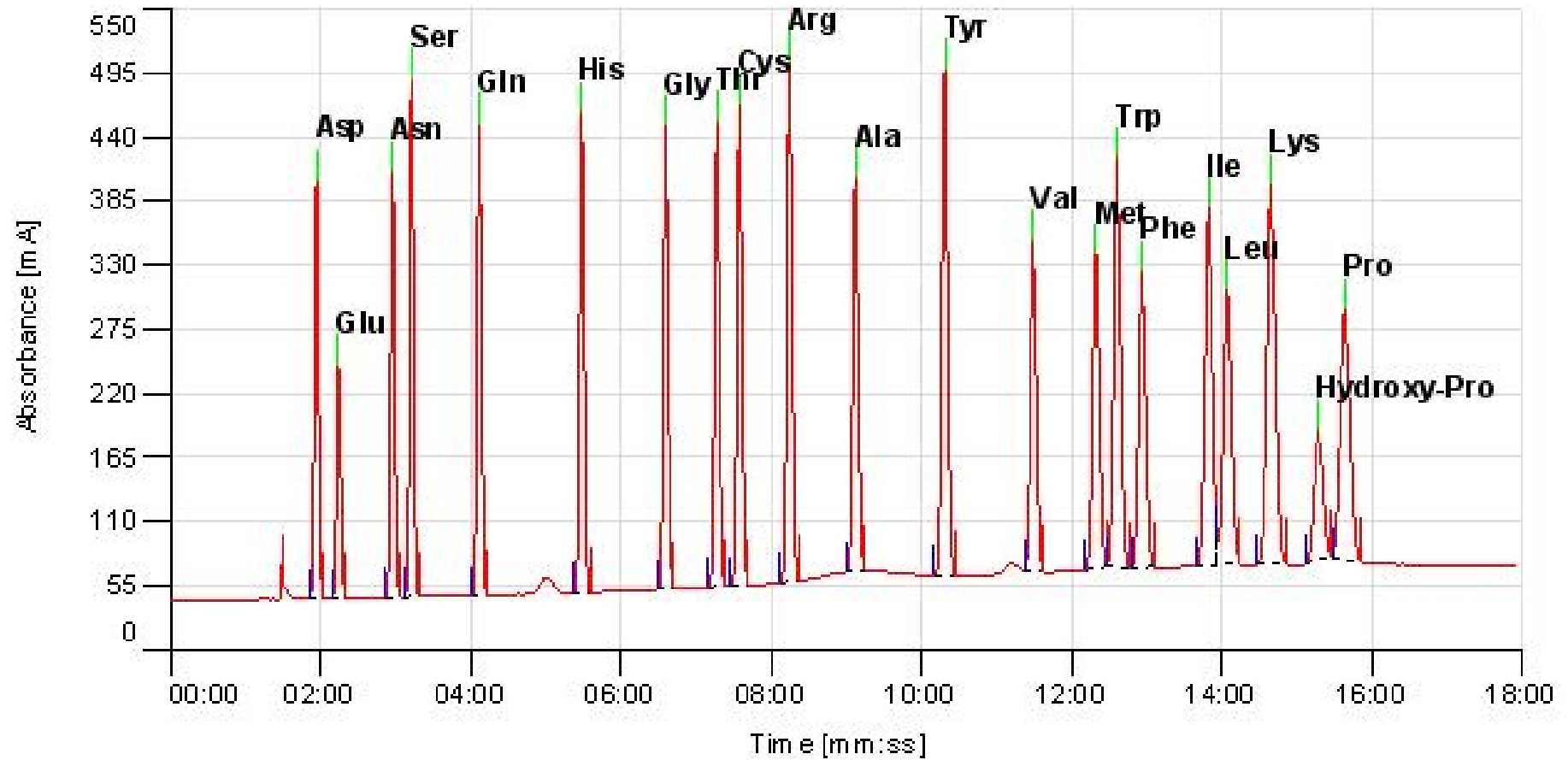
Determinação de aminoácidos



- Cromatografia de alto desempenho – HPLC







Qualidade da proteína de em relação à proteína do leite



Fonte proteica	Escore em relação a proteína do leite	Aminoácidos limitante		
		1°.	2°.	3°.
Proteína microbiana	0,78	His	Leu	Val
Farinha de peixe	0,75	Leu	Trip	Ile
Farelo de canola	0,68	Ile	Met	Leu
Farelo de soja	0,46	Met	Val	Ile
Farelo de girassol	0,46	Lis	Leu	Met
Farelo de algodão	0,46	Met	Ile	Lis
Farinha de carne e osso	0,43	Trip	Ile	Met
Farinha de sangue	0,42	Ile	Met	Trip
Resíduo seco de cervejaria	0,40	Lis	Met	His
Farelo de glúten de milho	0,21	Lis	Trip	Ile
Farinha de pena	0,19	His	Met	Lis

Balanço de lisina e metionina de fontes proteicas



Fonte proteica	Lisina	Metionina	AAE
	% do total de AAE		% da PB
Ideal	15,0	5,0	–
Proteína do leite	16,4	5,1	38,4
Proteína microbiana	15,9	5,2	33,1
Suplementos proteicos			
Farinha de peixe	16,9	6,5	44,8
Farelo de soja	13,8	3,1	47,6
Farelo de soja expeller	13,0	2,9	49,6
Farinha de sangue	17,5	2,5	49,4
Farinha de pena	3,9	2,1	31,4
Farelo de glúten de milho	3,8	7,2	44,2
Resíduo de cervejaria	6,7	4,5	46,3
Resíduo de destilaria	6,5	3,7	43,3

Conteúdo de aminoácido total em alimentos para aves e suínos



Nutriente		Soja Casca	Soja Concentrado Protéico	Soja Farelo (45%)	Soja Farelo (48%)
Aminoácido total					
		Valor ¹	Valor ¹	Valor ¹	Valor ¹
Proteína Bruta	%	13,50	62,92	45,32	47,90
Lisina	%	0,89	4,07	2,77	2,92
Metionina	%	0,17	0,93	0,64	0,66
Met + Cis	%	0,39	1,90	1,27	1,37
Triptofano	%	0,14	0,87	0,62	0,64
Treonina	%	0,51	2,60	1,78	1,86
Arginina	%	0,81	5,32	3,33	3,50
Gli + Ser	%	1,72	6,10	4,21	4,41
Valina	%	0,65	3,18	2,16	2,30
Isoleucina	%	0,56	3,02	2,10	2,20
Leucina	%	0,93	5,10	3,52	3,63
Histidina	%	0,37	1,73	1,17	1,29
Fenilalanina	%	0,58	3,39	2,30	2,40
Fen + Tir	%	1,04	5,75	3,84	4,11

Conteúdo de aminoácido digestível verdadeiro em alimentos para aves



Nutriente	Soja Casca		Soja Concentrado Protéico		Soja Farelo (45%)		Soja Farelo (48%)		
	Valor ¹	Coef. ²	Valor ¹	Coef. ²	Valor ¹	Coef. ²	Valor ¹	Coef. ²	
Aminoácido Digestível Verdadeiro - Aves									
Lisina	%	0,59	66,2	3,75	92,2	2,55	92,2	2,70	92,6
Metionina	%	0,11	67,5	0,85	91,2	0,58	91,2	0,60	91,9
Met + Cis	%	0,21	52,1	1,67	87,6	1,11	87,5	1,21	88,4
Triptofano	%	0,09	62,2	0,79	91,2	0,56	90,8	0,58	90,9
Treonina	%	0,25	49,5	2,29	88,2	1,57	88,6	1,66	89,3
Arginina	%	0,64	79,0	5,12	96,4	3,20	96,0	3,31	94,5
Valina	%	0,39	59,8	2,85	89,7	1,93	89,3	2,10	91,7
Isoleucina	%	0,36	64,5	2,76	91,4	1,92	91,3	2,02	92,1
Leucina	%	0,61	66,3	4,72	92,7	3,22	91,5	3,38	93,2
Histidina	%	0,18	50,0	1,62	93,4	1,11	94,2	1,18	91,7
Fenilalanina	%	0,39	66,7	3,13	92,2	2,13	92,7	2,24	93,3
Fen + Tir	%	0,69	66,7	5,30	92,2	3,58	93,4	3,78	91,9

Conteúdo de aminoácido digestível verdadeiro em alimentos para suínos



Nutriente	Soja Casca		Soja Concentrado Protéico		Soja Farelo (45%)		Soja Farelo (48%)		
	Valor ¹	Coef. ²	Valor ¹	Coef. ²	Valor ¹	Coef. ²	Valor ¹	Coef. ²	
Aminoácido Digestível Verdadeiro - Suínos									
Lisina	%	0,53	60,0	-	-	2,53	91,3	2,66	91,0
Metionina	%	0,12	71,0	-	-	0,59	92,3	0,60	91,8
Met + Cis	%	0,26	66,0	-	-	1,16	90,7	1,23	89,5
Triptofano	%	0,09	63,0	-	-	0,55	89,0	0,57	89,6
Treonina	%	0,31	61,0	-	-	1,55	87,3	1,62	87,3
Arginina	%	0,68	84,0	-	-	3,19	95,7	3,31	94,6
Valina	%	0,40	61,0	-	-	1,92	88,9	2,04	89,0
Isoleucina	%	0,38	68,0	-	-	1,88	89,5	1,97	89,6
Leucina	%	0,65	70,0	-	-	3,19	90,5	3,26	90,0
Histidina	%	0,21	58,0	-	-	1,07	91,2	1,18	91,3
Fenilalanina	%	0,42	72,0	-	-	2,07	90,2	2,17	90,5
Fen + Tir	%	0,72	69,0	-	-	3,42	89,1	3,75	91,2

Conceito de Proteína Bruta (PB)



- N: elemento característico de aminoácidos
- N representa 16% do peso da proteína

$$PB = \%N \times 6,25$$





Erros inerentes à PB

- Inclui N não protéico (NNP), como Proteína:
- Valor médio de N na proteína nem sempre é 16%

Alimentos	% N na proteína	% N no alimento	Calculado		
			N x 6,25	Fator específico	N x fator
Trigo (endosperma)	17,5	1,39	8,7	5,7	7,9
Trigo (farelo)	15,8	2,45	15,3	6,31	15,5
Trigo (grão)	17,8	2,06	12,9	5,83	12
Aveia (grão)	17,2	1,68	10,5	5,83	9,8
Milho (grão)	16,0	1,54	9,6	6,25	9,6
Farelo de algodão	18,9	5,82	36,4	5,3	30,8
Amendoim	18,3	4,13	25,8	5,46	22,5
Leite	15,8	0,53	3,3	6,38	3,4
Ovo, carne	16,0	--	--	6,25	--
Gelatina	18,0	1,46	91,4	5,55	81,2

Adaptado de Silva e Queiroz, 2002

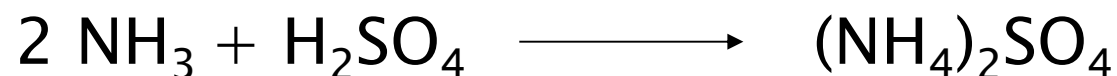
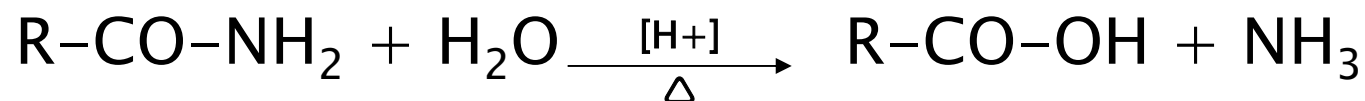
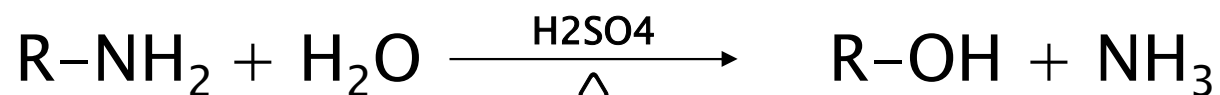
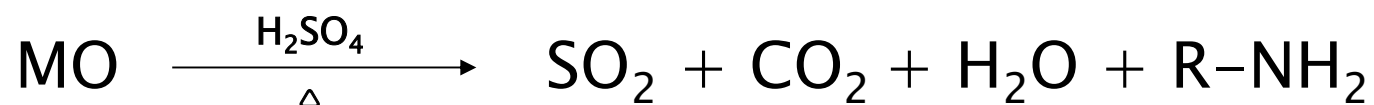
Método de Kjeldahl

- 1833, Associação Química Dinamarquesa
- Estudo de proteínas durante produção de malte



Nitrogênio Total

- N total (Kjeldahl)
 1. **Digestão** em solução ácida (H_2SO_4)
temperaturas crescentes até $370\text{ }^\circ\text{C} \approx 4,5\text{h}$
catalisadores: Cu
proteínas e compostos N $\rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

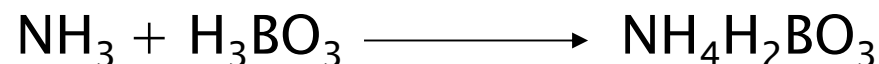
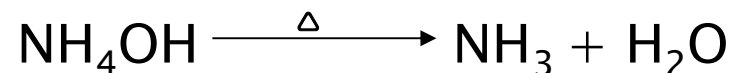
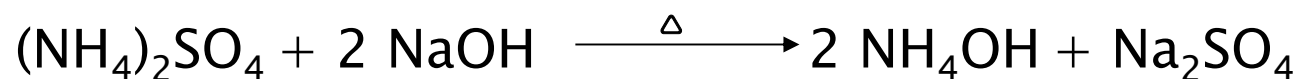




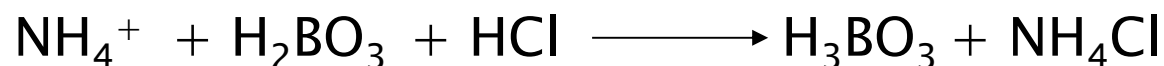
Nitrogênio Total

2. Destilação

arraste de NH_3 por vapor de água para solução receptora



3. Quantificação de NH_3 por **titulação** com solução-padrão





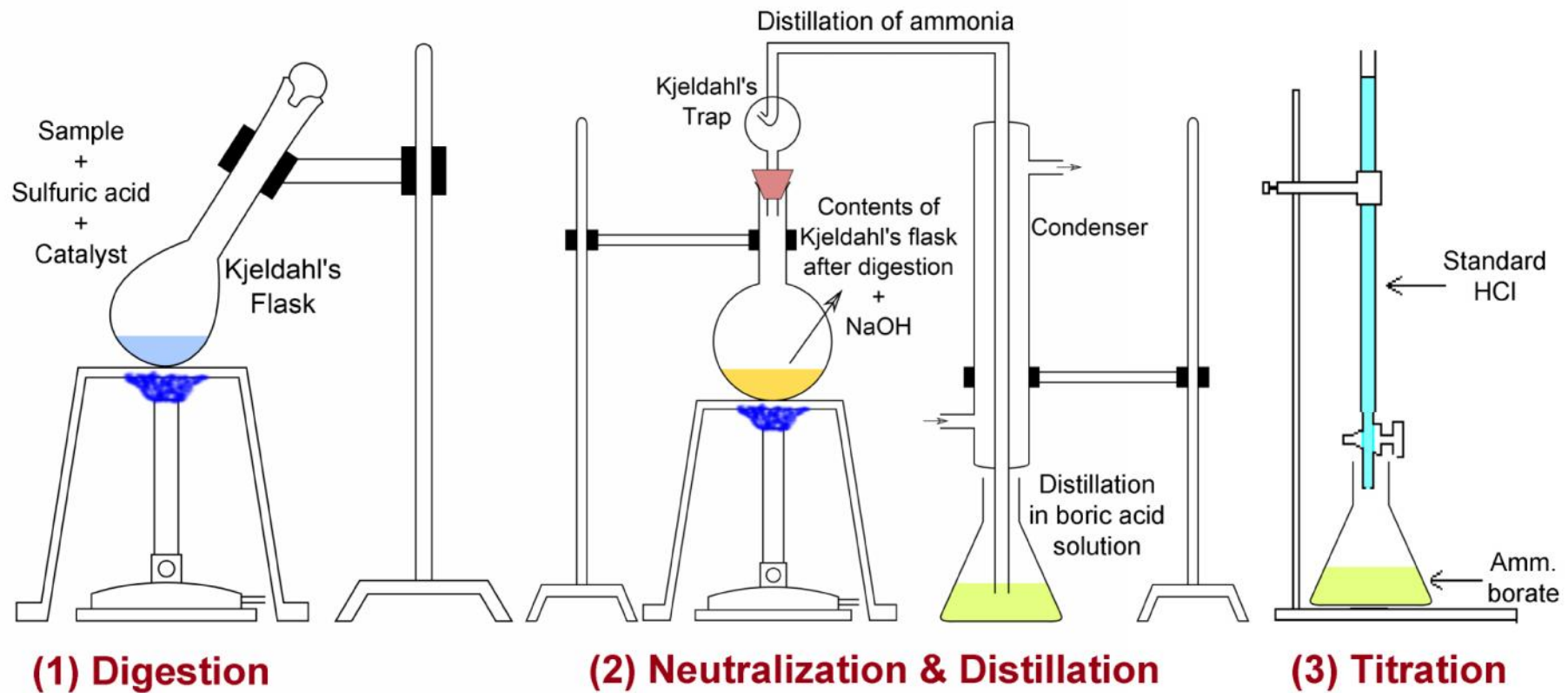
Nitrogênio Total

- Cálculo

$$\% N = [\text{HCl gasto} \times 0,14 / \text{amostra/MS} \times 100]$$

- HCl gasto mL
 - N = normalidade HCl
 - fator do ácido = 1 mL H₂SO₄ equivale a 0,014 de N
- Cuidados:
 - Aquecimento gradual dos tubos na digestão para evitar perda de material
 - Promover digestão completa da amostra
 - Ponto de viragem na titulação
 - Padronização do ácido usado na titulação

Método de Kjeldahl



Macro Kjeldahl







Micro Kjeldahl



Bloco aquecedor



Destilador



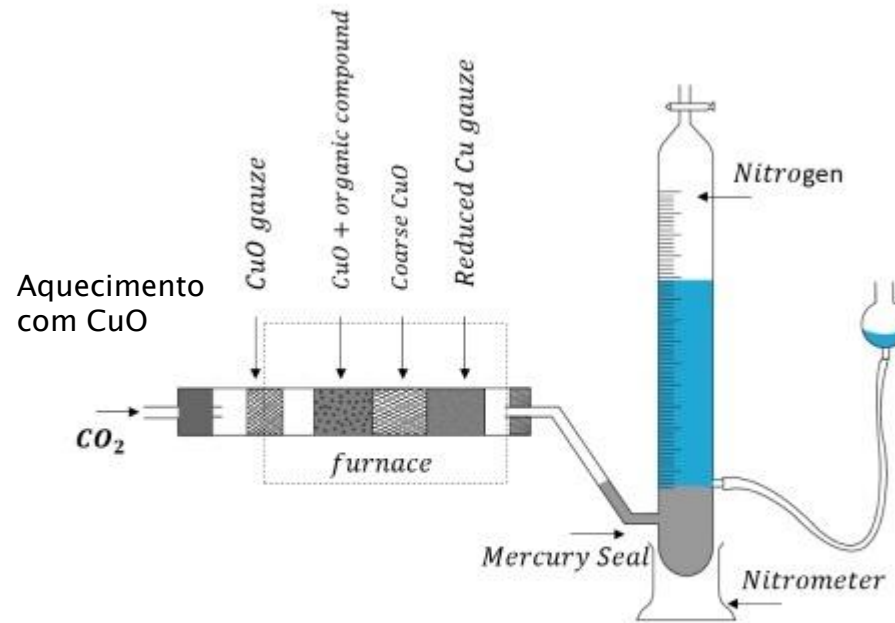
Titulador



Nitrogênio Total – Método de Dumas

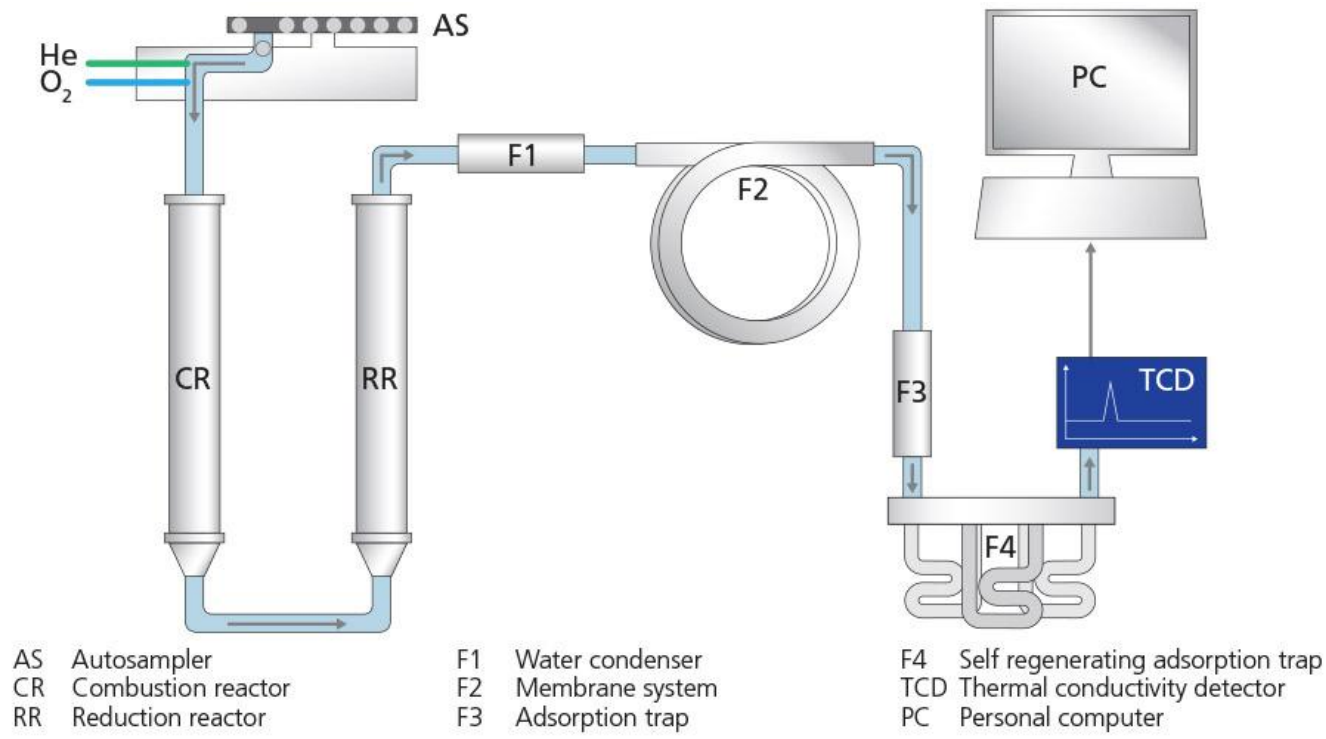


Redução de NO₂ a N₂:
 $\text{NO}_2 + \text{Cu} \rightarrow \text{N}_2 + \text{CuO}$



Estimation of Nitrogen: Dumas Method

Nitrogênio Total – Método de Dumas

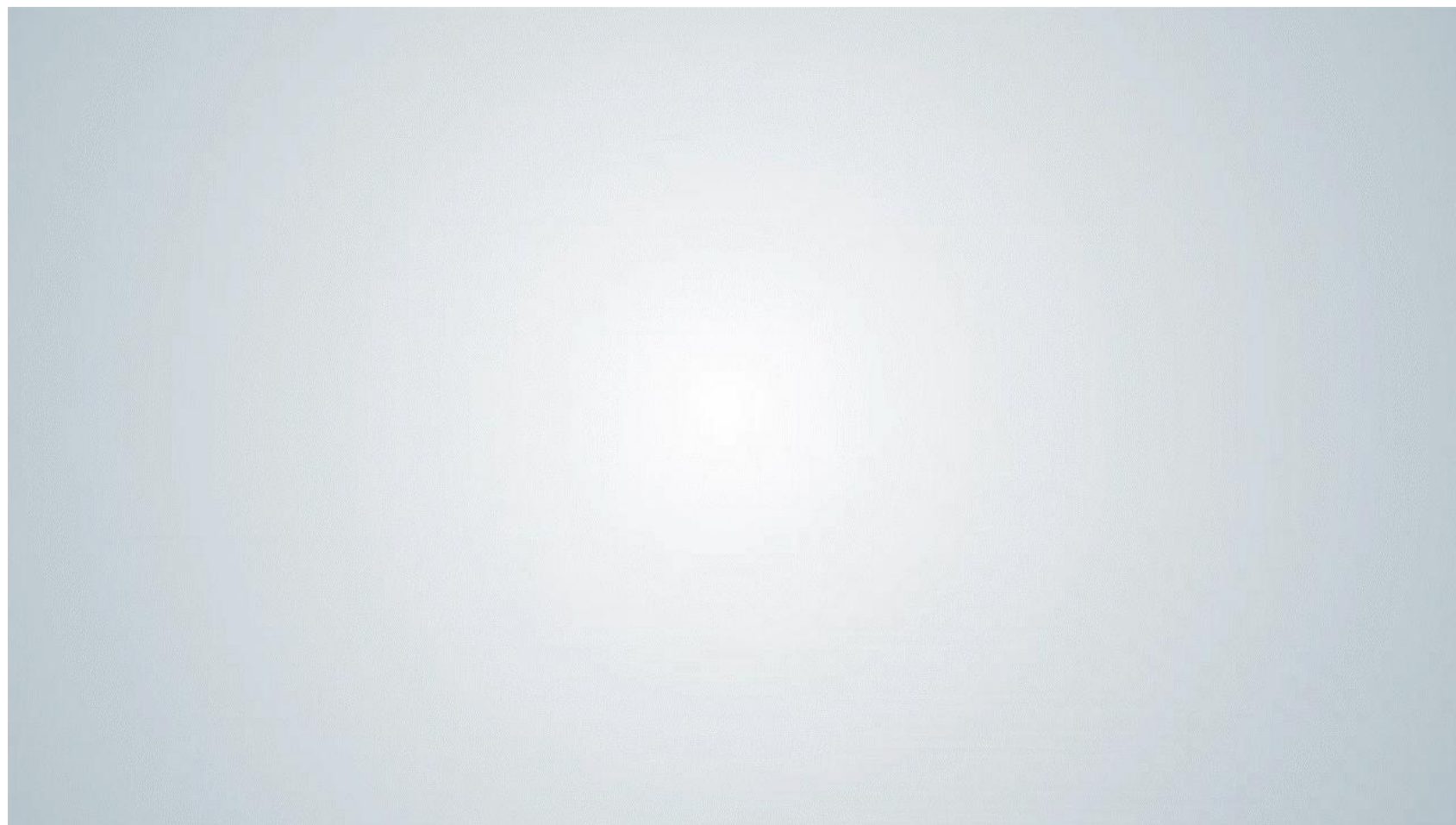
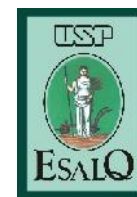


Nitrogênio Total – Método de Dumas

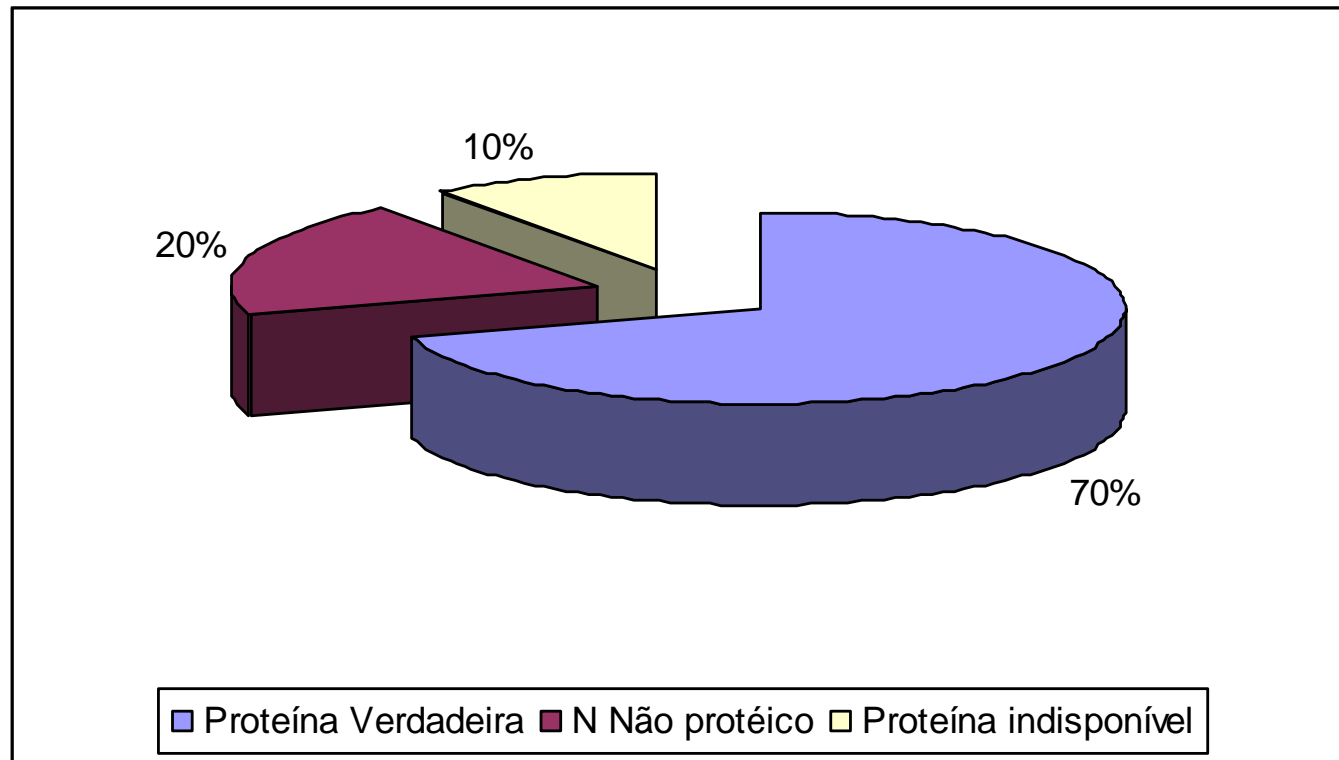


- Combustão da amostra
- LECO : Método AOAC
 - CO_2 , H_2O , NO_x , N_2
 - conversão N : célula de condutividade térmica





Frações da PB de Forragem





Degradabilidade

- PB Degradável (PDR): “desaparece” no rúmen
- Fornecimento adequado de PDR fundamental
 - PB com baixa degradabilidade:
 - falta N para os microrganismos ruminais (mesmo em dieta com excesso de PB)
 - Excesso de PDR em relação a energia fermentativa da dieta = Perda de N





Análise de PDR

Métodos mais utilizados:

- Degradabilidade *In Vitro*

Desaparecimento do N de material digerido com enzimas proteolíticas

- Grande variação

- Degradabilidade *In Situ*

Desaparecimento do N de material incubado em saquinhas de Nylon no rúmen



Ensaio de degradabilidade



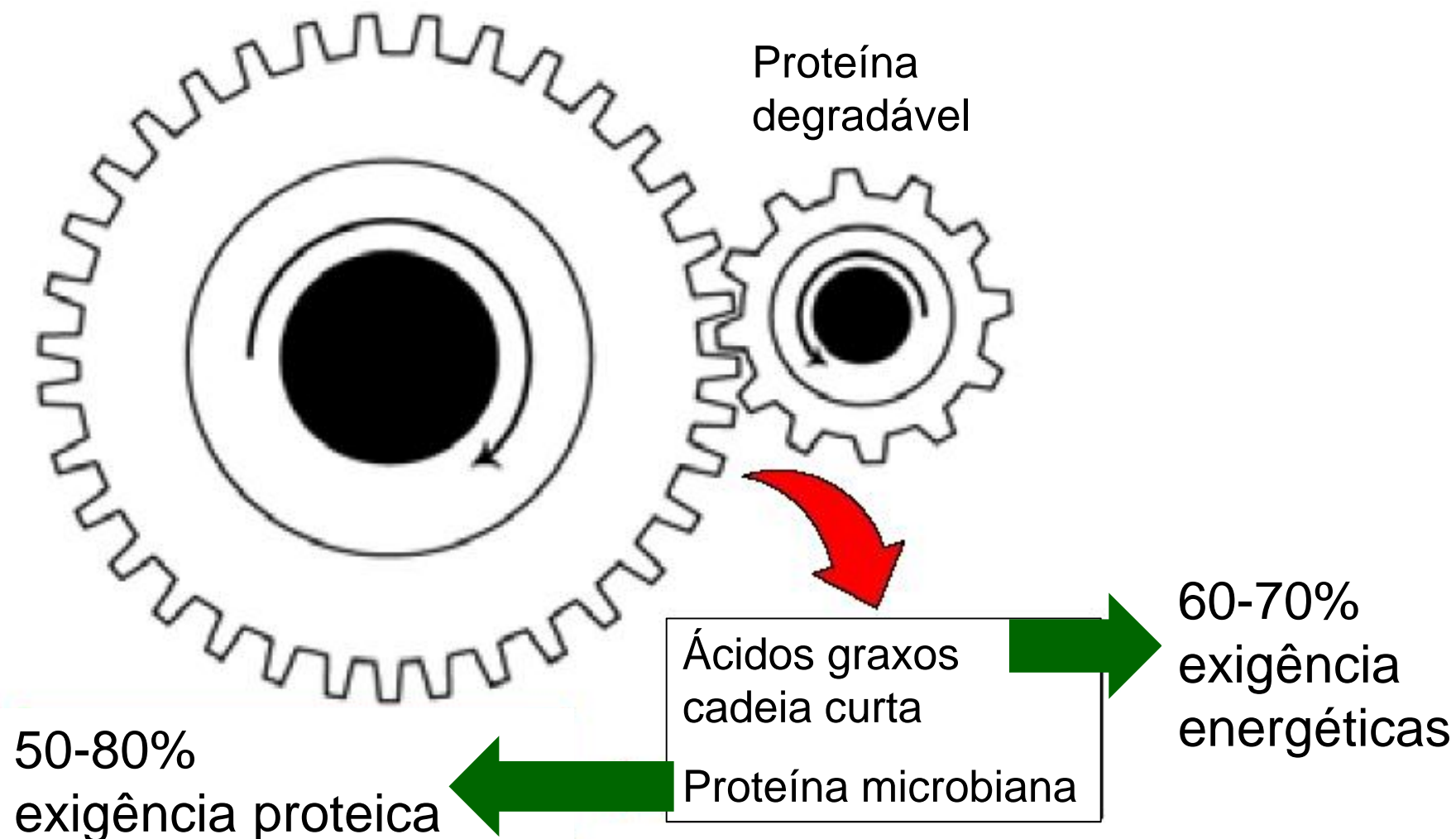




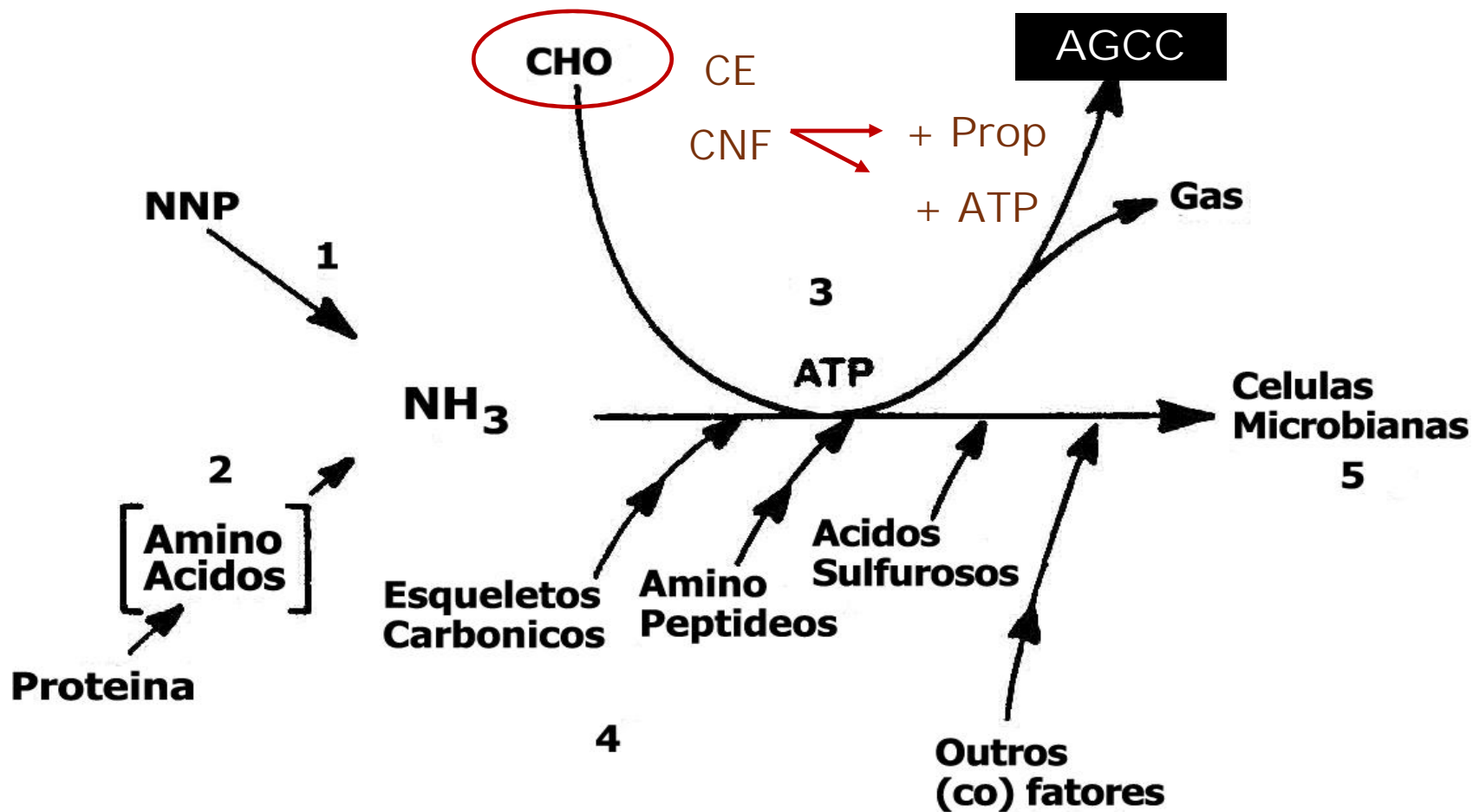
Proteína bruta, degradável e não degradável em concentrados				
Alimentos	% de MS ^a	% de PB na MS	% da proteína bruta	
			PDR	PNDR
Farelo de glúten de milho (FGM)	90,0	65,0	38,0	62,0
Soja tostada	90,0	42,0	38,0	62,0
Polpa cítrica	91,0	7,0	42,0	58,0
Milho (grão)	88,0	9,5	45,0	55,0
Farelo de algodão	90,0	45,0	57,0	43,0
Farelo de soja, 44%	90,0	50,0	65,0	35,0
Farelo de soja, 48%	90,0	54,5	65,0	35,0
Farelo de canola	92,5	41,0	72,0	28,0
Aveia (grão)	88,0	13,0	73,0	27,0
Caroço de algodão	88,0	24,0	73,0	27,0
FGM + fibra	90,0	23,0	75,0	25,0
Soja crua	90,0	42,0	75,0	25,0
Casca de soja	90,0	12,0	75,0	25,0
Trigo moído	89,0	14,0	77,0	23,0
Farelo de trigo	89,0	17,0	80,0	20,0

Carboidratos fermentescíveis

Proteína
degradável



Sincronização energia e proteína



Fração Protéica e Degradabilidade



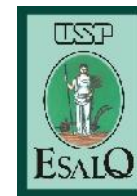
➤ NRC (2001):

$$\text{PDR} = A + B \left[\frac{K_d}{K_d + K_p} \right]$$

$$\text{PNDR} = B \left[\frac{K_p}{K_d + K_p} \right] + C$$

- K_d e frações A, B, C: determinados em ensaio in situ
- K_p : uso de fórmula ou ensaio in vivo





Fração Protéica e Degradabilidade

EQUAÇÕES P/ ESTIMATIVAS DE K_p (NRC, 2001)

$$1) K_p = 3,054 + 0,614 X_1$$

$$2) K_p = 3,362 + 0,479 X_1 - 0,007 X_2 - 0,017 X_3$$

$$3) K_p = 2,904 + 1,375 X_1 - 0,020 X_2$$

1) forragens úmidas

X_1 : CMS, em %PV

2) forragens secas

X_2 : teor de concentrado na MS

3) concentrados

X_3 : teor de FDN na MS



Fração Protéica e Degradabilidade

- CNCPS (1992) e NRC Nível 2 (1996):
 - Fração B dividida em três: B1, B2 e B3
 - Subfrações: determinadas quimicamente
 - Kp: única para cada subfração B, dentro de um mesmo ingrediente
 - Kd: cada subfração B possui seu valor



Fração Protéica e Degradabilidade

- CNCPS (1992) e NRC Nível 2 (1996):

Fração	Degr. ruminal	Constituição
A	-	NNP, prontamente disponível
B1	120 - 400 %/h	prot. verdadeira solúvel
B2	3 - 16 %/h	prot. insolúvel em det. neutro
B3	0,06 - 0,55 %/h	cálculo: PIDN-PIDA
C	-	prot. insolúvel em det. ácido *

* contém proteína associada à lignina e taninos, além de produtos da reação de Maillard





Fração Protéica e Degradabilidade

- CNCPS (1992) e NRC Nível 2 (1996):

Procedimentos analíticos:

- determinação de N total (Kjeldahl)
- determinação de N solúvel (Krishnamoorthy et al., 1983)
- fracionamento do N solúvel (A + B1) em:
 - . NPN (fração A)
 - . proteína verdadeira (fração B1)

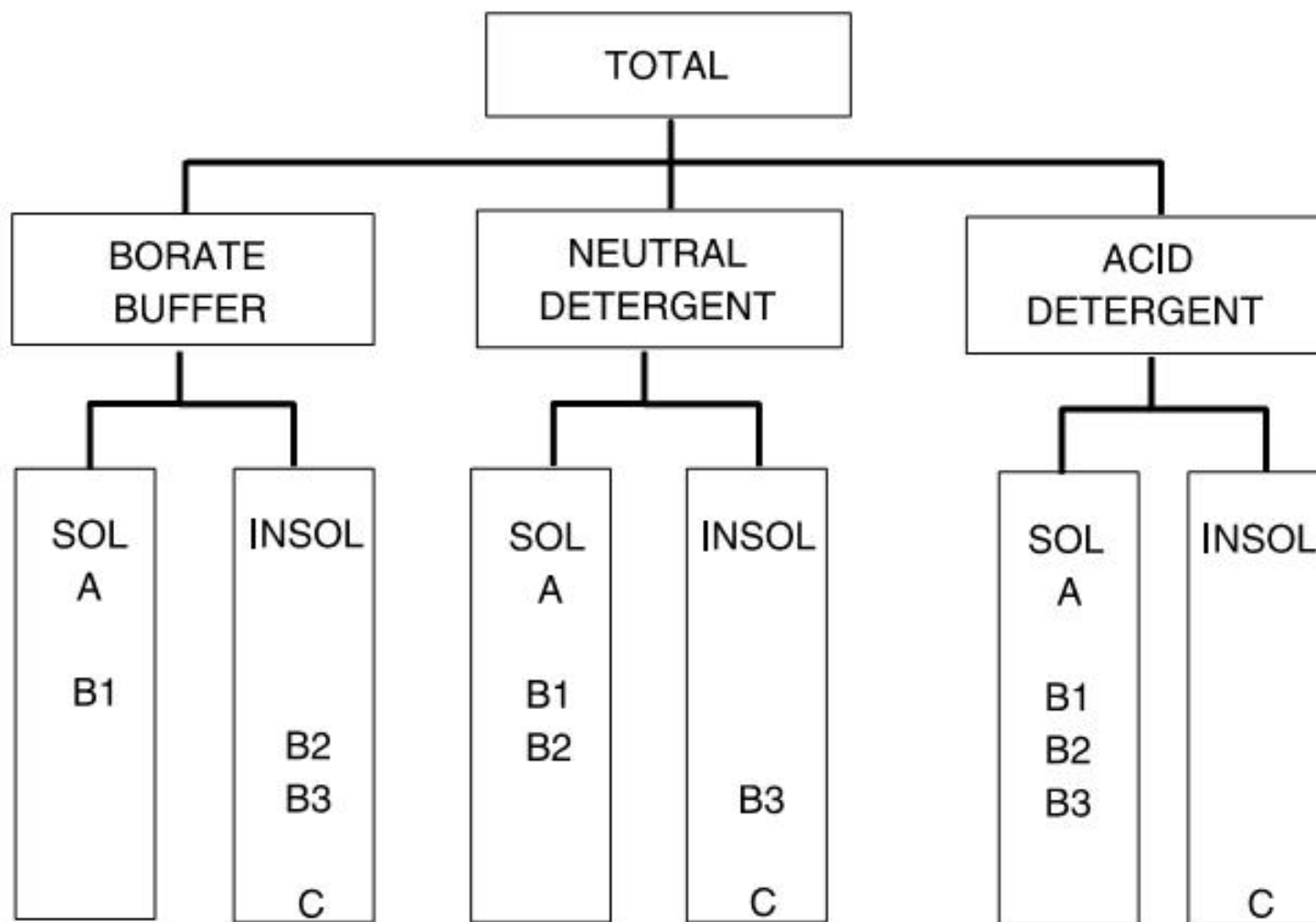


Fração Protéica e Degradabilidade

- CNCPS (1992) e NRC Nível 2 (1996):

Procedimentos analíticos:

- determinação de PIDA: fração C
- determinação de PIDN:
 - . fração B3 = PIDN - PIDA
- obtenção da fração B2 por cálculo:
 - . fração B2 = PIDN





Nitrogênio Não Protéico (NNP)

- Parte da PDR é NNP
- NNP: amônia, aminoácidos, peptídeos, aminas, ácidos nucleicos
- Dietas bem balanceadas:
 - 100% do NNP convertido em Proteína Microbiana





Nitrogênio Não Protéico (NNP)

- NNP nos alimentos (Como % da PB)
 - Forragem fresca: 14–34%
 - Fenos: 15–25%
 - Silagens: 20–65%
 - Cama de Frango: 50% (ácido úrico)
 - Uréia, biureto: 100%
 - Demais alimentos: 12% ou menos





Análise de NNP

- Não rotineira mas simples
 - Solubiliza proteína em tampão
 - Precipita PVer (ácido tricloroacético)
- $NNP = \text{Proteína solúvel} - \text{PVer Solúvel}$





Proteína Verdadeira

$$PVer = PB - (NNP + PIDA)$$

- Importância
 - Monogástricos: aminoácidos
 - Ruminantes
 - Otimiza produção microbiana
 - Exigência de bactérias que degradam carboidratos não estruturais



Comparação de valores de NNP (%MS)

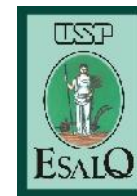


Alimento	PB, % MS	NNP por ácido tungstênico			NNP por TCA
		Método antigo	½ h ^a	3 h ^b	
Silagem alfafa	20,8	9,2	9,4	8,9	9,8
Farelo algodão	45,1	2,8	3,2	3,3	4,4
Farinha de peixe	64,3	9,8	4,4	6,5	14,4
Silagem de capim	10,9	4,2	3,9	3,7	4,3
Farelo de soja	48,4	1,4	1,1	0	1,9

^a 10 mL de 0,3M ác. Túngstico (30 min), pH=2, descanso de 30 min para filtragem

^b incubação em água e 8mL 0,3M Na₂WO₄ (30 min), pH=2, descanso 12h para filtragem

^c incubação em água e 8mL 0,3M Na₂WO₄ (3h), pH=2, descanso 12h para filtragem



Nitrogênio Solúvel

- Conceito simplista derivado da observação de que a maior parte dos compostos nitrogenados solúveis são rapidamente degradados no rúmen
 - Proteína solúvel
 - NNP
- Proteína solúvel é definida como proteína verdadeira solúvel em tampão com pH característico do rúmen
 - Bicarbonato: instáveis, aumento de pH
 - Borato-fosfato





Proteína ligada a fibra

- Parte da PB ligada a fibra (FDN e FDA)
- Ligações covalentes com polissacarídeos da parede celular
- Aquecimento do alimento
 - Leve: aumentos PB na FDN
 - Elevada: aumentos PB na FDA





PB na FDN (N-FDN)

- É a fração da PB mais dependente da taxa de passagem
- Tem alta digestibilidade
- Forragem:
 - cerca de 1,5% do FDN é N
 - 10% PB na FDN ($6,25 \times 1,5 \sim 10$)
- Resíduo de Cervejaria
 - cerca de 3,2% do FDN é N
 - 20% PB no FDN ($6,25 \times 3,2 = 20$)



PB na FDA (N-FDA)

- Considerada PB indisponível
- Valor usual de PIDA: 4 a 7%
- 96–93% da PB está disponível
- Grande variação nos valores
 - Alimentos que sofrem aquecimento



Expressão dos dados N-FDN e N-FDA



- O resultado direto da análise é % N
- Mais interessante expressar como:
 - N ligado a FDN como % da PB
 - N ligado a FDN como % da MS



Fracionamento do N baseado na solubilidade em tampão bicarbonato-fosfato



	PB (% MS)	N insolúvel	N solúvel	Proteína verdadeira solúvel	NNP solúvel
		% N total			
Milho grão	9,9	88,9	11,1	3,4	7,7
Glúten de milho	24,0	60,8	39,2	0,2	39,0
Aveia	14,0	46,9	53,1	43,3	9,8
Resíduo de destilaria	25,1	88,8	11,3	1,1	10,2
Farelo de soja	54,8	79,7	20,4	9,1	11,3
Farelo de amendoim	47,5	67,1	32,9	24,3	8,6
Silagem de milho	7,9	47,8	52,2	4,0	48,2
Feno Panicum	7,1	61,2	38,8	3,3	35,5
Palha de arroz	3,9	59,2	40,8	6,6	34,2



Frações do nitrogênio solúvel em tampão bicarbonato-fosfato

	Proteína verdadeira solúvel	NNP
	----- % do N Solúvel -----	
Milho grão	30,8	69,2
Glúten de milho	0,5	99,5
Aveia	81,5	18,5
Resíduo de destilaria	9,4	90,6
Farelo de soja	44,7	55,3
Farelo de amendoim	74,0	26,0
Silagem de milho	7,6	92,4
Feno Panicum	8,6	91,4
Palha de arroz	16,1	83,9
Média ± DP	22,3 ± 25,1	77,7 ± 25,1

Fracionamento do N baseado na solubilidade em solução detergente



	PB	FDN	NIDN	FDA	NIDA
	% MS				
Milho grão	9,9	15,5	1,5	3,7	0,5
Glúten de milho	24,0	26,3	1,9	7,3	0,5
Aveia	14,0	33,7	1,5	17,0	0,7
Resíduo de destilaria	25,1	39,1	15,8	17,0	7,8
Farelo de soja	54,8	10,1	2,4	8,1	3,0
Farelo de amendoim	47,5	13,5	4,6	6,8	0,5
Silagem de milho seca	7,9	74,2	2,7	49,3	0,7
Feno Panicum	7,9	74,2	2,7	49,3	0,7
Palha de arroz	3,9	75,2	1,1	55,2	0,5

Análise de N ligada à Fibra



- N–FDN ou N–FDA
 - Análise FDN ou FDA
 - Análise de N (Kjedhal) do resíduo
- Com a filtração há uma acomodação não aleatória das partículas com diferentes tamanhos
 - Cuidado ao se retirar alíquota do resíduo !
- Erro mais comum é na preparação das amostras
 - temperaturas acima de 65° C podem elevar os valores





Valores da fração N-FDA (% da PB), teor de PB total, PB disponível (PBD) e relação PBD/PB de vários alimentos

Alimento	PIDA, %PB	PB, % MS	PIDA, % MS	PBD, % MS	Disponibilidade
Feno de alfafa passado	20	14	2.8	11.2	80%
Feno de alfafa 100%floresc.	15	19	2.9	16.2	85%
Casca de soja	14	12.2	1.7	10.5	86%
Polpa de citrus peletizada	11	6.7	0.7	6	89%
Farelo de canola	10	40.9	4.1	36.8	90%
Resíduo de cervejaria	10	26	2.6	23.4	90%
Farelo de algodão, 38-41%	8	46.1	3.7	42.4	92%
Caroço de algodão	6	23	1.4	21.6	94%
Soja extrusada	6	42.8	2.6	40.2	94%
Farelo de soja, 49%	2	49.9	1	48.9	98%
Protenose, 60%	2	66.3	1.3	65	98%
Refinazil/Promil	2	23.8	0.5	23.3	98%

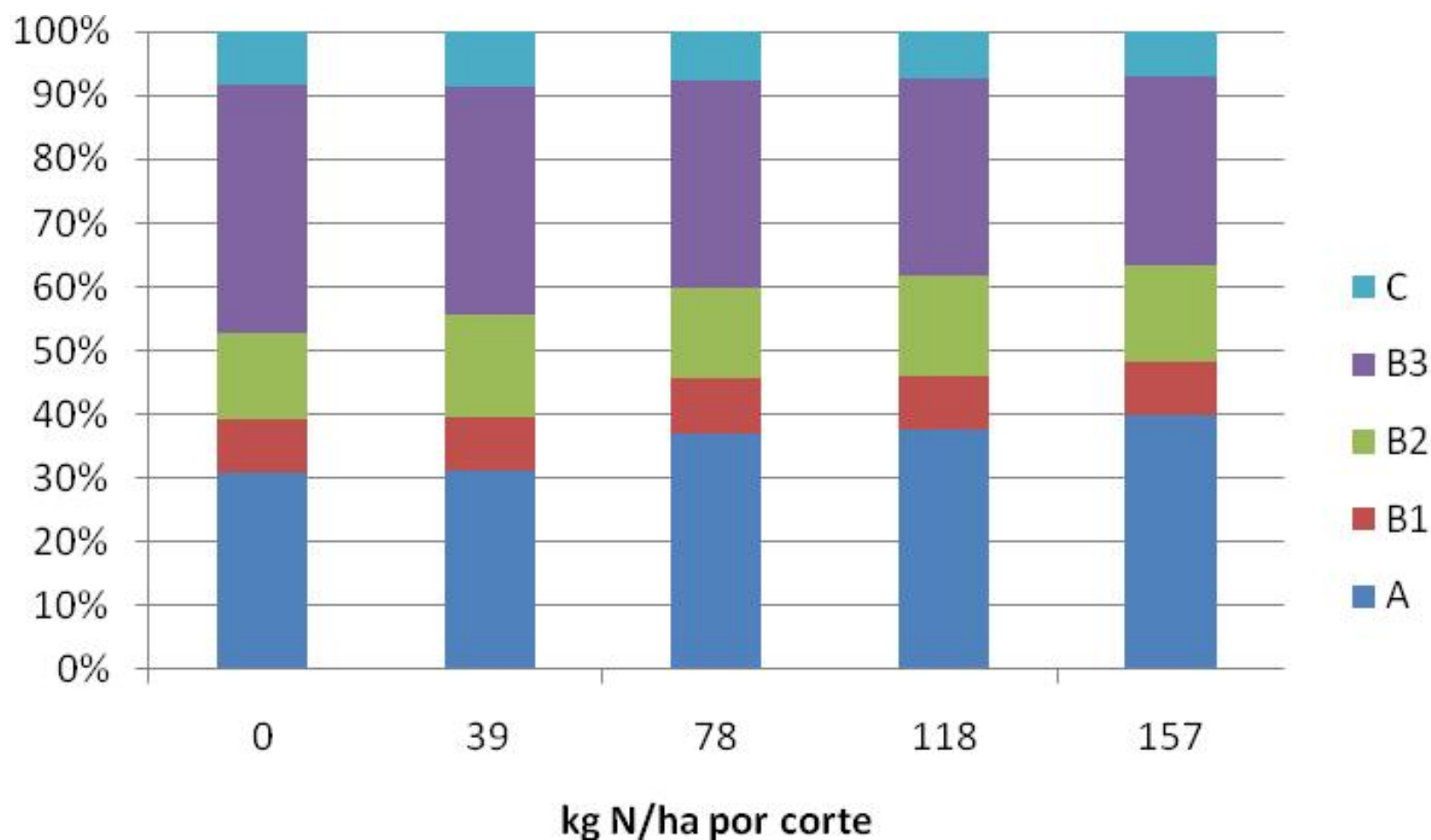




Fracionamento de compostos nitrogenados em pastagens tropicais

Autor	PB	A	B1	B2	B3	C
	%MS	----- %PB -----				
Lacerda et al., 2004; Elefante	11,7	34,0	4,6	40,4	31,2	6,7
Romero, 2008; Elefante	17	25,37	1,87	34,10	32,24	6,4
Carvalho et al., 2008; Elefante	8,4	50,7	33,7		5,0	10,6
Silva et al.,2009; Mombaça	8	33,63	1,28	24,66	30,82	9,59
Danes, 2010: Elefante	18,5	21,26	9,21	35,85	28,84	4,84





Efeito da adubação nitrogenada no fracionamento protéico no Tifton 85 cortado aos 28 dias a 7,6 cm do solo (JOHNSON et al., 2001)

