

APLICAÇÃO DA ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS PARA A DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS EM AMOSTRAS DE OVOS

Bruna G. Gomes, Vera A. Maihara e Roseane P. Avegliano

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)
Av. Professor Lineu Prestes 2242
05508-000 São Paulo, SP
brunagabrielegomes@gmail.com
vmaihara@ipen.br
pagliaro@usp.br

RESUMO

Os ovos estão entre os 20 alimentos mais consumidos pela população das 5 grandes regiões do Brasil. Dentre os tipos de ovos existentes, há diferenças de valor nutritivo, que podem variar conforme a alimentação da ave. Esse estudo teve como objetivo a avaliação dos elementos Cl, K, Mg, Mn e Na considerados micronutrientes essenciais na alimentação, por serem fundamentais em diversos processos metabólicos necessários na manutenção e formação do organismo humano. Foram analisados três tipos de ovos: ovos brancos, de codorna, e os do tipo colonial ou caipiras, na forma cozida e crua, utilizando-se o método de Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (AANI). As amostras de ovo foram liofilizadas e pulverizadas antes das análises. Para a validação da metodologia, foram analisados os materiais de referência NIST- RM 8415 Whole Egg Powder e NIST SRM 1567^a Wheat Flour. As amostras, os materiais de referência e os padrões dos elementos foram irradiados por 20 segundos sob um fluxo de nêutrons térmicos de $6,6 \times 10^{12}$ cm⁻²s⁻¹ no reator de pesquisa nuclear IEA-R1 do IPEN-CNEN/SP. Os resultados obtidos foram compatíveis aos valores da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO),

1. INTRODUÇÃO

O Estudo de Dieta Total (EDT) é baseado na avaliação de amostras de alimentos pertencentes a uma Cesta de Mercado, que representa os hábitos dietéticos de uma população [1]. A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem encorajado países a conduzir seus próprios EDTs, apontando tal método como o mais adequado para estimativa da ingestão dietética de contaminantes e nutrientes em grandes grupos populacionais [2,3].

Em razão da diferença de alimentos consumidos, a OMS incentiva os países a conduzir seus próprios EDTs. No Brasil, a nível nacional ou governamental, os EDTs são inexistentes. No entanto, o Laboratório de Análise por Ativação, LAN, do IPEN-CNEN/SP desenvolve atualmente o segundo EDT brasileiro, com dados de consumo de alimentos pela população da região Sudeste, que está inserido no projeto de pós-doutorado “Estudo de Dieta Total no Estado de São Paulo: Estimativa de Ingestão Dietética de Elementos Tóxicos (arsênio,

cádmio, mercúrio e chumbo) e Essenciais (cálcio, cobre, cromo, ferro, manganês, magnésio, potássio, sódio, selênio e zinco), segundo a Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009”.

A Cesta de Mercado deste EDT é formada por 19 grupos de alimentos, sendo um deles basicamente constituído por ovos. Os ovos estão entre os 20 alimentos mais consumidos pela população das 5 grandes regiões do Brasil. O consumo alimentar médio de ovo per capita em grama/dia é 11,7g, sendo 13,3; 16,5; 9,9; 8,9; 8,2g, respectivamente para as regiões Norte, Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste, segundo a Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil, da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) 2008-2009, do Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE) [4].

Do ponto de vista da nutrição, os ovos são alimentos de alto valor nutricional e a preço acessível, rico em proteínas de alto valor biológico; vitaminas do complexo A, B, E e K; minerais como Fe, Se e Zn; carotenóides como luteína e zeaxantina, e também destacada fonte de colina, um importante componente do cérebro humano [5]. Por se tratar de produto de origem animal, o valor nutritivo dos ovos pode ser influenciado pela raça, idade e manejo das galinhas; estação do ano e processamento do alimento [6].

Com o intuito de contribuir com dados nacionais, o presente trabalho teve como objetivo analisar a composição elementar de diferentes tipos de ovos, principalmente quanto àqueles elementos essenciais a saúde humana, cuja atenção tem se intensificado nos últimos anos, como K, Mg, Mn e Na, pois a deficiência e/ou consumo excessivo dos mesmos podem acarretar danos, mesmo sem necessariamente produzir mudanças clínicas definidas [7]. Em razão da variação de valor nutritivo, foram analisados três tipos de ovos: ovos de galinha brancos, ovos caipiras e ovos de codorna. Todos os ovos foram analisados crus e cozidos, pois métodos de preparo podem alterar a concentração de certos elementos químicos.

2. METODOLOGIA

2.1. Definição da Cesta de Mercado

Para a definição da Cesta de Mercado foram analisados os dados referentes ao consumo alimentar médio per capita da região sudeste do Brasil, disponibilizados na POF 2008-2009, em grama/dia [4]. A Cesta de Mercado corresponde a 100% dos alimentos da POF com consumo nesta região. Os alimentos dividem-se em 19 grupos pelo critério da classificação dos alimentos da POF em grupos, segundo o Anexo 1 - Classificação dos grupos segundo o cadastro de alimentos e preparações: cereais, leguminosas, hortaliças, frutas, oleaginosas (castanhas, nozes e amendoim), farinhas, massas e panificados, bolos e biscoitos, carnes, ovos, laticínios, doces, óleos e gorduras, bebidas, pizzas/salgados e sanduíches, sopas e caldos, molhos e condimentos, preparações mistas [8].

No presente estudo, foi analisado o grupo dos ovos da Cesta de Mercado.

2.2. Coleta e preparo das amostras de ovos

Adquiriram-se embalagens com uma dúzia de ovos brancos de galinha, dez unidades de ovos de codorna e mais uma dúzia de ovos de galinha caipira em mercados da cidade de São

Paulo. As amostras foram separadas de modo que metade desses ovos foi analisada na forma cozida e outra metade na forma crua.

Os ovos crus foram higienizados com água deionizada e separados por tipo. Para sua homogeneização foram utilizados utensílios de polietileno de cor branca, previamente desmineralizados (mantidos em Extran® 10% por no mínimo 12 horas, enxaguados com água deionizada, mantidos em solução de ácido nítrico PA a 10% por no mínimo 12 horas, enxaguados com água deionizada e secos ao ar).

Os ovos cozidos foram preparados separadamente segundo o tipo de ovos, sem a utilização de temperos, condimentos, óleos e gorduras de modo a não introduzir outros ingredientes, exceto a água deionizada, conforme EDTs realizados em outros países, como, no Chile [9] e na Itália [10].

Durante o preparo dos ovos cozidos usou-se exclusivamente panelas de vidro tipo pyrex® e utensílios de polietileno de cor branca, previamente desmineralizados. Os ovos foram cozidos por 10 minutos em água fervente. Após o cozimento os ovos foram cortados em pedaços pequenos e colocados em recipientes de polietileno e armazenados em freezer, para posterior liofilização.

As amostras congeladas dos ovos cozidos e crus foram submetidos ao processo de liofilização no liofilizador da Thermo Electron Corporat (Modelo ModulyD), por aproximadamente 16 horas, na temperatura de -50 ° C e à pressão de 49 µbar.

Após a liofilização, as amostras de ovos foram homogeneizadas e peneiradas, de modo a obter alíquotas representativas para as análises, com auxílio de almofariz e pistilo de ágata. As amostras são mantidas em frascos de polietileno e a 4°C em refrigerador até o momento das análises.

2.3. Metodologia Analítica: Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (INAA)

INAA é um método nuclear baseado na formação de isótopos radioativos, por meio da submissão das amostras a um fluxo de partículas ativadoras, no caso, nêutrons térmicos. É um método de análise não destrutivo que permite análises simultâneas de diversos elementos traço numa única amostra, tendo como característica alta sensibilidade, precisão e exatidão.

2.3.1. Preparação das amostras para irradiação

Como preparação para irradiações curtas, com duração de 20 segundos, foram pesadas amostras de cerca de 100 mg das amostras de ovos liofilizadas em recipientes de polietileno previamente desmineralizados.

2.3.2. Materiais de referência certificados

Para a determinação de precisão e exatidão do método de INAA foram realizadas análises de materiais de referência com características semelhantes às das amostras a serem analisadas, cuja concentração dos elementos determinados é conhecida. No presente estudo, foram utilizados os materiais de referência certificados (MRC) do NIST (National Institute of

Standards & Technology) SRM 8415 Whole Egg; SRM 1567^a Wheat Flour. Cerca de 100 mg de cada material foram pesados em recipientes de polietileno.

2.3.3. Preparação de padrões sintéticos

Os padrões dos elementos foram preparados a partir de soluções padrão da marca SPEX CERTIPREP, diluídas a concentrações apropriadas. Cerca de 25 a 100 µL dessas soluções padrão foram pipetadas sobre tiras de papel de filtro Whatman 40 e secas sob temperatura ambiente ou sob lâmpada de infravermelho. Quando secas, foram acondicionadas e devidamente seladas em recipientes de polietileno desmineralizados.

2.3.4. Irradiações das amostras e padrões

Foram realizadas irradiações de curta duração no sistema pneumático para determinação de elementos com meia-vida curta, como Cl, K, Mg, Mn e Na. No caso, as amostras, materiais de referência e padrões sintéticos foram irradiados no sistema pneumático por 20 segundos sob um fluxo de nêutrons térmicos de $6,6 \times 10^{12} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no reator de pesquisa nuclear IEA-R1 do IPEN-CNEN/SP.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise dos Materiais de Referência:

Para a determinação da precisão e exatidão da metodologia utilizada foram analisados os materiais de referência certificados SRM 8415 Whole Egg e SRM 1567^a Wheat Flour nas mesmas condições que as das amostras de ovos. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 – Concentração de elementos nos MRC

Elemento	SRM 8415 Whole Egg				SRM 1567 ^a Wheat Flour			
	X ± DP	DP rel (%)	ER rel (%)	Valor Certificado	X ± DP	DP rel (%)	ER rel (%)	Valor Certificado
Cl	5081 ± 256	5,0	0,020	5080 ± 320	583 ± 14	2,4	3,2	565*
K	3100 ± 187	6,0	2,8	3190 ± 370	1369 ± 156	11	2,9	1330 ± 30
Mg	357 ± 20	5,7	17	305 ± 27	427 ± 10	2,3	6,8	400 ± 20
Mn	1,63 ± 0,14	8,7	8,4	1,78 ± 0,38	9,32 ± 0,14	1,5	0,85	9,40 ± 0,9
Na	4050 ± 347	8,6	7,4	3770 ± 340	nd	-	-	6,10 ± 0,8

X ± DP: Média aritmética e desvio padrão de 9 determinações individuais; DP rel: Desvio padrão relativo; ER rel: Erro relativo; nd: não determinado; * Valor de referência

Foram obtidos resultados satisfatórios nas análises dos materiais de referência, a maior parte dos resultados aproximou-se dos valores certificados pelo NIST, demonstrando a viabilidade da aplicação da INAA na análise de elementos traço em alimentos. Com exceção do Mg no MRC SRM 8415, cujos erro relativo foi em torno de 17%.

3.2. Resultados obtidos para as amostras do composto de ovos:

TABELA 2 – Concentração dos elementos nas amostras de ovos ($\mu\text{g/g}$ por peso seco)

Amostra	Cl	K	Mg	Mn	Na
Ovo de galinha branco (cru)	7451 ± 768^a (10) ^b	4470 ± 375 (8,4)	331 ± 56 (18)	$0,99 \pm 0,05$ (5,4)	5866 ± 502 (8,6)
Ovo de galinha branco (cozido)	6905 ± 132 (1,9)	4826 ± 199 (4,1)	270 ± 24 (8,9)	$1,34 \pm 0,07$ (5,8)	5275 ± 113 (2,1)
Ovo de codorna (cru)	5077 ± 350 (6,9)	5611 ± 1050 (19)	393 ± 27 (6,9)	$1,49 \pm 0,29$ (19)	5645 ± 137 (2,4)
Ovo de codorna (cozido)	4434 ± 154 (4,7)	4841 ± 232 (4,8)	334 ± 16 (4,7)	$1,55 \pm 0,13$ (8,4)	4613 ± 438 (9,5)
Ovo de galinha caipira (cru)	7704 ± 344 (4,5)	6113 ± 783 (13)	380 ± 22 (5,8)	$0,56 \pm 0,10$ (18)	5562 ± 811 (15)
Ovo de galinha caipira (cozido)	6736 ± 602 (8,9)	5053 ± 177 (3,5)	317 ± 64 (20)	$1,03 \pm 0,06$ (5,9)	5803 ± 185 (3,2)

a: Média aritmética e desvio padrão de 3 determinações individuais; b: Desvio padrão relativo (%).

Os valores do teor de umidade de cada amostra, calculados após o processo de liofilização das mesmas, obtidos foram: Ovo de galinha branco cru: 75,9%; Ovo de galinha branco cozido: 75,7%; Ovo de codorna cru: 73,3%; Ovo de codorna cozido: 72,8%; Ovo de galinha caipira cru: 74,5%; Ovo de galinha caipira cozido: 75,8 %. Esses valores foram considerados para calcular as concentrações dos elementos em 100g de ovo in natura, equivalente a duas unidades de ovos de galinha em sua forma consumível. Os valores de concentração em 100g do ovo estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 – Concentração dos elementos nas amostras ovos ($\text{mg}/100\text{g}$ por peso in natura)

Amostras	Cl	K	Mg	Mn	Na
Ovo de galinha branco (cru)	174 ± 15^a (8,7%) ^b	$108 \pm 9,0$ (8,4%)	$7,49 \pm 1,0$ (18%)	$0,024 \pm 0,0013$ (5,4%)	141 ± 12 (8,6%)
Ovo de galinha branco (cozido)	$168 \pm 3,2$ (1,9%)	$117 \pm 4,8$ (4,1%)	$6,56 \pm 1,0$ (8,9%)	$0,032 \pm 0,0019$ (5,8%)	$128 \pm 2,7$ (2,1%)
Ovo de codorna (cru)	$136 \pm 9,4$ (6,9)	150 ± 28 (19%)	$10,49 \pm 1,0$ (6,9%)	$0,040 \pm 0,0076$ (19%)	$151 \pm 3,7$ (2,4)
Ovo de codorna (cozido)	$121 \pm 4,2$ (3,5%)	$132 \pm 6,3$ (4,8%)	$9,08 \pm 0,5$ (4,7%)	$0,042 \pm 0,0035$ (8,4%)	125 ± 12 (9,5%)
Ovo de galinha caipira (cru)	$196 \pm 8,5$ (4,5%)	156 ± 20 (13%)	$9,68 \pm 1,0$ (5,8%)	$0,014 \pm 0,0026$ (18%)	142 ± 21 (15%)
Ovo de galinha caipira (cozido)	163 ± 15 (8,9%)	$122 \pm 4,3$ (3,5%)	$7,67 \pm 2,0$ (20%)	$0,025 \pm 0,0015$ (5,9%)	$140 \pm 4,5$ (3,2%)

a: Média aritmética e desvio padrão de 3 determinações individuais; b: Desvio padrão relativo.

Os resultados obtidos foram comparados com valores disponíveis na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), 4a. Edição – 2011 [11].

3.2.1. Cloro

No organismo humano o cloro encontra-se predominantemente no líquido extracelular, sendo importante para a manutenção do equilíbrio ácido-base e eletrolítico, contração muscular e manutenção da acidez normal da secreção gástrica [12].

Geralmente, ovos não são considerados boas fontes de cloro. As principais fontes deste elemento são o sal de cozinha, a água potável tratada e, eventualmente certos tipos de farinhas cruas [13]. A carência de cloro no organismo pode provocar espasmos musculares, porém trata-se de um quadro raro devido ao alto consumo de cloreto de sódio por todo o mundo [12].

De acordo com os resultados presentes nas Tabelas 2 e 3, os ovos de codorna são naturalmente mais pobres em cloro que nos ovos de galinha. Os resultados também demonstram que o processo de cocção provocou a perda de aproximadamente 10% deste elemento nos três tipos de ovos. Na TACO não são apresentados valores de concentração de cloro nos ovos.

3.2.2. Potássio

Potássio é um nutriente essencial para a manutenção de fluido corporal, do equilíbrio ácido-base e eletrolítico e, para a função celular normal. O processamento de alimentos reduz a quantidade de potássio em muitos produtos alimentares. Segundo a OMS, o consumo médio de potássio em muitos países está abaixo do recomendado (70-80mmol/dia) [14].

Diversos estudos demonstram que o aumento da ingestão de potássio é benéfico em termos de pressão arterial, diminuindo o risco de doenças cardiovasculares, doenças cardíacas coronárias e, principalmente, acidente vascular cerebral [14].

Não houve grande variação na concentração desse elemento entre as amostras in natura (Tabela 3). Comparados aos valores da TACO[11] (Ovo branco cru: 150 mg/100g; Ovo branco cozido: 139 mg/100g; Ovo de codorna: 79 mg/100g), houve uma leve discrepância, a qual pode ser atribuída a variações entre os ovos analisados, como época do ano, idade e modo de criação das aves.

3.2.3. Magnésio

Magnésio é o segundo cátion intracelular mais abundante no organismo humano. Sua principal função é estabilizar a estrutura de adenosina trifosfato (ATP) em reações enzimáticas, sendo fundamental em reações metabólicas, como a síntese de ácidos graxos e proteínas, a fosforilação da glicose e seus derivados na via glicolítica e as reações de transcetolase [12].

O elemento é abundante em muitos outros alimentos, como sementes, leguminosas, cereais e hortaliças, por ser um constituinte básico da clorofila. Sendo assim, quadros de deficiência deste elemento são raros, porém, considerados fator de risco para hipertensão, doença cardíaca coronária e osteoporose, tendo como sintomas primários tremores, espasmos musculares, mudança de personalidade, anorexia, náusea e vômito [12].

Observa-se na Tabela 3 que o ovo de codorna é ligeiramente mais rico em magnésio que os ovos de galinha, contendo aproximadamente 9,08mg/100g deste elemento. Neste estudo, as amostras de ovos brancos apresentaram teores de Mg inferiores aos apresentados pela TACO (ovos branco cru: 13 mg/100g e ovos brancos cozidos : 11 mg/100g).

3.2.4. Manganês

Encontra-se manganês em maior concentração no organismo humano em tecidos ricos em mitocôndrias, pois se trata de um componente fundamental de muitas enzimas, entre elas, a piruvato carboxilase, importante no metabolismo de carboidratos [12]. O manganês está associado também ao crescimento e reprodução, participando da formação de tecidos conjuntivo e ósseo [13].

Alimentos como grãos, leguminosas e chás são ricos em manganês. Por outro lado, os alimentos de origem animal, como carnes, leite e ovos, não são considerados boas fontes desse elemento [12]. As concentrações obtidas foram baixas, de 0,014 a 0,042mg/100g. Na TACO o teor de Mn é apresentado apenas para ovos brancos cozidos (0,02mg/100g).

3.2.5. Sódio

O sódio é o principal cátion no fluido extracelular no corpo, sendo um elemento essencial para a manutenção do volume plasmático, equilíbrio ácido-base, a transmissão de impulsos nervosos e da função celular normal [12].

Sódio pode ser encontrado naturalmente em uma variedade de alimentos, tais como leite, carne e mariscos, e, muitas vezes, é encontrado em grande quantidade em alimentos processados, como pães, biscoitos, embutidos e salgadinhos. Dados sugerem que o consumo médio de sódio da população, em geral, está bem acima do mínimo fisiológico, e em muitos países está acima do valor recomendado pela Organização Mundial de Saúde, que é de 2 g de sódio/dia (equivalente a 5 g de sal/dia) [15].

Os teores de Na obtidos variaram de 125 mg/100g ovo codorna cozido a 151 mg/100g ovo codorna cru. Esses valores apresentaram ligeira variação em relação aos valores apresentados pela TACO (ovo branco cozido 146 mg/100g; ovo branco cru 168 mg/100g e ovo codorna cru 129mg/100g).

4. CONCLUSÃO

As análises dos materiais de referência indicaram precisão e exatidão aceitáveis. Quanto às análises dos ovos, os resultados obtidos foram na maioria concordantes com os apresentados pela TACO. Em relação aos tipos de ovos analisados, não houve diferença entre os teores dos elementos essenciais determinados no presente estudo. Os ovos não se mostraram ricos em nenhum dos elementos analisados, por isso para que o consumo recomendado destes seja atingido faz-se necessária uma alimentação variada, com a presença de cereais, leguminosas e hortaliças, por exemplo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Avegliano, R.P, Maihara, V.A.,Silva,F.F. A., “Brazilian Total Diet Study: Evaluation of essential elements” *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, **24**, pp.1000-1016 (2011).

- [2] WHO - World Health Organization. Food Safety Department. GEMS/Food Total Diet Studies. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON TOTAL DIET STUDIES, 4th, 23-27 October 2006, Beijing, China. **Report...** Geneva; 2006. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/TDS_Beijing_2006_en.pdf>. Acesso em: 16, julho. 2013.
- [3] WHO - World Health Organization. Regional Office for South-East Asia. REGIONAL WORKSHOP ON TOTAL DIET STUDIES, 5-7 December 2007, Jakarta-Indonesia. **Report ...**Geneva; 2007. Disponível em: <http://209.61.208.233/LinkFiles/Publications_and_Documents_Report-TDS-Reg-Workshops.pdf>. Acesso em: 16, julho. 2013.
- [4] IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003: aquisição alimentar domiciliar per capita: Brasil e Grandes Regiões. Rio de Janeiro, 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pof/2002aquisicao/pof2002aquisicao.pdf>> Acesso em: 9, julho. 2013.
- [5] Novello, D., Franceschini, P., Quintiliano, D.A., et al. "Ovo: Conceitos, análises e controvérsias na saúde humana", 2006. Disponível em: <http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222006000400001&lng=es&nrm=iso> Acesso em: 29, julho. 2013.
- [6] Torres, E., Campos, N.C., Duarte, M., et al. "Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal", 2000. Disponível em:<http://www.farmacia.ufrj.br/consumo/disciplinas/tl_compcentesimal_AlimOrigemAnimal.pdf> Acesso em: 29, julho.2013.
- [7] Gibson, R.S., Ferguson, E.L., "An interactive 24-hour recall for assessing the adequacy of iron and zinc intakes in developing countries", 2008. Disponível em: <<http://www.ifpri.org/sites/default/files/publications/tech08.pdf>> Acesso em: 9, julho. 2013
- [8] IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Tabelas de medidas referidas para os alimentos consumidos no Brasil. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaoodevida/pof/2008_2009_medidas/pofmedidas.pdf> Acesso em: 9, julho. 2013.
- [9] Munõz, O., Bastias, J.M., Araya, M., et al. "Estimation of the dietary intake of cadmium, lead mercury, and arsenic by the population of Santiago (Chile) using a Total Diet Study." *Food Chem. Toxicol.*,v. **43**, n. 11, p. 1647-1655 (2005).
- [10] Lombardi-Boccia, G., Aguzzi, A., Cappelonni, M., et al. "Total-Diet Study: dietary intakes of macro elements and trace elements in Italy." *Br. J. Nutr.*, v. **90**, n. 6, p. 1117-1121. (2003)
- [11] UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas . *Tabela Brasileira de Composição de Alimentos*. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf>. Acesso em: 2, agosto. 2013.
- [12] Mahan, L. K., Escott-Stump, S., "Krause – Alimentos, nutrição e dietoterapia" 9ª ed. São Paulo: Roca, 1998.
- [13] Azevedo, A.C.G., Oliveira, A., Baptista, L.L.S., "Diagnóstico da alimentação humana" Apostila curso técnico em nutrição e dietética, 2009.

[14] WHO - World Health Organization. Guideline: Potassium intake for adults and children, 2012.

Disponível em:

<http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/potassium_intake_printversion.pdf>.

Acesso em: 29, julho. 2013.

[15] WHO - World Health Organization. Guideline: Sodium intake for adults and children, 2012.

Disponível em:

<http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sodium_intake_printversion.pdf>.

Acesso em: 29, julho. 2013.