



Ciência e Tecnologia de Alimentos

ISSN: 0101-2061

revista@sbcta.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência e
Tecnologia de Alimentos
Brasil

Castello Branco de Andrade GONÇALVES, Édira; Junger TEODORO, Anderson;
TAKASE, Iracema

Teores de cobre em extratos de carne in natura e processada
Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol. 27, núm. 2, abril-junio, 2007, pp. 298-302
Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Campinas, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940082015>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Teores de cobre em extratos de carne in natura e processada

Copper in meat and thermal meat extracts

Édira Castello Branco de Andrade GONÇALVES^{1*}, Anderson Junger TEODORO^{1IC}, Iracema TAKASE²

Resumo

Especiação química é definida como a determinação da concentração de diferentes formas físico-químicas individuais de um elemento, que em conjunto constitui a concentração total do mesmo, permitindo avaliar o aproveitamento do elemento no processo absorvivo. As carnes bovinas e de aves são de grande importância na alimentação, assim, este trabalho tem como objetivo avaliar os teores de cobre em diferentes extratos obtidos pela aplicação da extração sequencial de carnes in natura, processadas termicamente e congeladas por 30 dias. Os teores de cobre foram determinados através de espectroscopia de absorção atômica. Os dados foram tratados estatisticamente através do teste de Grubs e *t* de Student. Verificou-se que o cobre encontra-se na maioria das amostras estudadas, em no mínimo duas espécies químicas diferentes. As frações predominantes encontradas foram as representadas pela fração iônica, a qual enfraquece a ligação do metal com compostos orgânicos e sulfetos e promove a dissolução de silicatos e minerais. Observou-se que o processo de cocção e o congelamento diminuem os teores totais e influenciam nas formas químicas do metal. Estudos posteriores que identifiquem estas formas químicas do cobre podem favorecer na avaliação da biodisponibilidade do mesmo.

Palavras-chave: cobre; processamento térmico; extração sequencial; carnes.

Abstract

Chemical specification is defined as determining the concentration of different forms of physico-chemistry individuals of an element, which together consist of the total concentration, and whereby the element in the absorbed process can be evaluated. Beef and chicken are of great importance in food, and therefore the aim of this work was to evaluate copper in different extracts obtained from applying sequential extraction of meat, thermally processed and frozen for 30 days. Copper was determined by using an atomic absorption spectroscopy. The data was dealt with statistically by using the Grubs and *t* Student test. Copper was found in most of the studied samples and at least two different chemical species. The predominant fractions found were represented by the ionic fraction, which weakens the metal with organic composites and promotes the dissolution of silicates and minerals. It was observed that the thermal and freezing process diminishes the total contents and influences the chemical species of the metal. Studies to identify these chemicals of copper can be favourable when evaluating the biodisponibility.

Keywords: copper; thermal processing; meat; sequential extraction.

1 Introdução

Os minerais constituem um grupo de elementos largamente distribuídos na natureza e que exercem papel dos mais importantes em diversas funções e setores do organismo. Eles atuam tanto na forma iônica quanto como constituintes de compostos: enzimas, hormônios, secreções e proteínas do tecido orgânico^{8,22}.

O estudo dos minerais teve um grande avanço a partir da década de 70, com o desenvolvimento de técnicas analíticas mais sensíveis e precisas, que permitiram não apenas a quantificação de elementos encontrados como traços em alimentos e fluidos biológicos, mas também desvendaram alguns dos mecanismos através dos quais estes exerceram suas funções no organismo⁴.

O cobre é um microelemento de número atômico 29 e peso atômico de 63,55, essencial para diversas funções como: mobilização do ferro para a síntese de hemoglobina, além de ser componente de várias enzimas (citocromo C-oxidase, superóxido desmutase, monoamino-oxidase, etc.). A absorção do cobre

ocorre por transporte ativo e por difusão a nível duodenal. Em média, 40 a 50% do total ingerido são absorvidos. Uma vez absorvido, o cobre é transportado para o fígado ligado à albumina e à transcupreína, incorporando-se então a ceruloplasmina e várias metaloenzimas, que permitem o transporte do cobre para os tecidos extra-hepáticos. A excreção é por via fecal, e em maior teor pela bile, assim como pela urina e suor. Sua deficiência provoca anemia, leucopenia, neutropenia, hiperuricemia e retardo no crescimento; enquanto que sua toxicidade provoca diarreia, náusea, vômitos, cirrose, anemia e bronquite^{4,8,22}.

Existem diversos fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam no aproveitamento dos nutrientes. Dentre os fatores intrínsecos podemos destacar: a espécie do nutriente, a matriz onde o nutriente está incorporado e a ligação molecular desse nutriente. Com relação aos fatores extrínsecos destacam-se: a quantidade desse nutriente na dieta associada às interações que ele pode sofrer, os atenuadores de bioconversão, o estado nutricional do indivíduo e os fatores genéticos relacionados ao indivíduo^{4,7,18}.

Dentre todos os fatores descritos, o fator interação é um dos mais importantes. Existem várias interações entre vitaminas e minerais, e o conhecimento destas permite um maior controle de algumas variáveis, para uma melhor utilização do nutriente. As interações físico-químicas entre nutrientes incluem: adsorção e formação de complexos e precipitação, com influência da estabilidade de ambos. No que diz respeito ao cobre, sabe-se que o excesso de vitamina C pode prejudicar

Recebido para publicação em 14/6/2006

Aceito para publicação em 23/4/2007 (001761)

¹ Departamento de Tecnologia dos Alimentos, Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO, Av. Xavier Sigaud, 294, Praia Vermelha, Rio de Janeiro – RJ, Brasil, E-mail: ediracba@analisedealimentos.com.br

² Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro – RJ, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

a absorção do mesmo. A interação cobre versus zinco é bastante documentada, cujo excesso de zinco diminui a absorção de cobre^{2,4,7,8,18,22}.

Através da determinação do teor total do metal ingerido, não é possível medir o quanto deste metal será absorvido. Entretanto, através da técnica de especiação dos metais, que é definida como a determinação da concentração das formas físico-químicas individuais dos elementos e que em conjunto constitui a concentração total do mesmo na amostra, podemos ter novos dados para prever sua absorção. Considerando que o cobre passa por processo de absorção através de transporte ativo e difusão, a forma química do metal irá influenciar na competição pelos sítios ativos envolvidos nos transportes e também na difusão passiva^{9,10,17,21}.

Para a especiação em amostras sólidas, inicialmente deve ser aplicado um método de extração sequencial ou seletivo. Um elemento pode estar presente em um sólido sob a forma de espécies adsorvidas na superfície, co-precipitados, ocluídos ou compostos de coordenação. A maioria dos esquemas de extração sequencial inclui diferentes grupos de extratores, já que ela se baseia na progressão de extratores fracos como a água, até um extrator forte como um ácido concentrado^{5,10-12,22}.

As carnes bovinas e de aves são de grande importância na alimentação, justamente por serem alimentos fonte de proteínas de alto valor biológico e de lipídios. As carnes, de um modo geral, são alimentos fonte de várias vitaminas lipossolúveis, assim como de elementos traço, tal como o cobre^{3,6}.

O congelamento, por empregar temperaturas mais baixas que a refrigeração, prolonga o tempo de conservação da carne. Isto possibilita o seu transporte para regiões distantes e uma distribuição mais ampla nos mercados consumidores. As temperaturas utilizadas diminuem ou paralisam as deteriorações causadas por microrganismos, enzimas ou agentes químicos como o oxigênio, devido ao fato de que algumas espécies de microrganismos são destruídas, e certos sistemas enzimáticos são inativados nas temperaturas empregadas. Além disso, o congelamento é um dos melhores métodos para manter a cor, o aroma e a aparência do alimento. Mesmo sendo favorável no que diz respeito à conservação das carnes, o processo de congelamento pode modificar fisicamente este produto^{3,6,15}.

Este trabalho tem como objetivo avaliar os teores de cobre em diferentes extratos obtidos pela aplicação da extração sequencial de carnes in natura, processadas termicamente e congeladas por 30 dias in natura e após processamento térmico.

2 Material e métodos

2.1 Tratamento das amostras

As amostras analisadas foram: carne de frango (peito), carne bovina (lagarto, alcatra e chã). Parte das amostras foi processada termicamente (em fogão convencional) e outra parte mantida in natura. Foram então congeladas por um mês em freezer convencional a -18°C em embalagens de pvc, e descongeladas em temperatura ambiente por 12 horas. As amostras foram dessecadas à temperatura de 105°C até total secagem

e armazenadas em papel alumínio, quando foram utilizadas para a extração sequencial.

2.2 Determinação total de cobre

Cerca de 1 g de amostra seca foi calcinada em mufla a 550°C por 2 horas. A dissolução do resíduo foi feita em HCl 2 M e avolumado a 25 mL. O teor total de cobre nas amostras foi determinado através de espectroscopia de absorção atômica em chama.

2.3 Extração sequencial

Cerca de 5g de amostra seca passaram por extração sequencial. Os extratores utilizados foram: solução de CaCl_2 1 M; solução de ácido acético 0,1 M; solução de ácido acético 0,5 M acetato de amônio 5% (pH = 5,0); solução de NaOH 0,1 M e solução de HCl 0,5 M. Utilizou-se 20 mL de cada extrator, que ficou em contato com a amostra durante uma hora, sendo depois filtrado. O filtrado foi utilizado para determinação do teor de cobre.

2.4 Garantia de qualidade

Para garantia da qualidade, nas análises dos teores de cobre por espectroscopia de absorção atômica em chama, foram preparadas curvas analíticas com soluções padrões dos metais. Além disso, o processo de extração foi feito em triplicata.

2.5 Tratamento estatístico

Na análise da rejeição de resultados foi aplicado o teste de Grubbs. O teste *t* de Student foi utilizado na comparação dos teores totais de cobre nas amostras e nos extratos, após os processamentos.

3 Resultados e discussão

A Tabela 1 mostra o teor total de cobre nas amostras in natura, após processamento térmico e após congelamento por 30 dias. Esses valores foram identificados por ANDRADE et al.¹ em um estudo que avaliou o comportamento do cobre em carnes cruas, processadas termicamente, resfriadas e congeladas durante 6 meses. Segundo este estudo, o processo de cocção promove perda do cobre em até 50%. Com o congelamento ocorreu a perda nas amostras in natura em média de 38% e nas processadas termicamente 26%. O teor total de cobre foi considerado para verificar a capacidade percentual de extração pelo processo de extração sequencial, conforme apresentado a seguir.

Tabela 1. Teor de cobre em mg.g^{-1} de carnes in natura (IN), processadas termicamente (PT), in natura (INC) e processadas termicamente (PTC) congeladas por 30 dias ANDRADE et al.¹.

Alimentos	IN	PT	INC	PTC
Alcatra	$0,77 \pm 0,08$	$0,61 \pm 0,04$	$0,38 \pm 0,04$	$0,27 \pm 0,02$
Chã	$0,76 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,03$	$0,48 \pm 0,02$	$0,26 \pm 0,03$
Peito de frango	$0,48 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,03$	$0,28 \pm 0,02$
Lagarto	$0,72 \pm 0,12$	$0,43 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,04$	$0,26 \pm 0,04$

A Tabela 2 e a Figura 1 apresentam os teores de cobre extraídos pelo método de extração sequencial e o percentual de extração dos extratos de cobre em carnes in natura resfriadas e congeladas por 30 dias. Valores inferiores a $0,1 \text{ mcg.g}^{-1}$ de cobre durante o processo de extração, foram considerados insignificantes.

Observando a Tabela 2, verifica-se que o cobre encontra-se nas carnes in natura resfriadas em no mínimo 2 espécies, nas frações extraídas e nas frações não-extraídas. Para as amostras de alcatra e chã, este metal se encontra no mínimo sob 4 formas químicas distintas: as extraídas pelos extratores I, II, V e a parte não-extraída.

Segundo VULKAN et al.²¹, o extrator I corresponde à fração com propriedades de troca iônica, e pode-se observar que este extrator atua em todas as amostras in natura resfriadas, apresentando extração mínima de 35% e máxima de 60%. Esta fração caracteriza compostos facilmente solúveis em meio salino, que podem não apresentar bom aproveitamento pelo organismo, pois sabe-se que compostos de cobre solúveis são aproveitados cerca de 40%^{4,18}.

O extrator II, que possui propriedades de redução ácida, foi eficiente apenas nas amostras resfriadas in natura de alcatra e chã, já que em média 15% do teor total deste metal foram extraídos^{12,16,17,21}.

O extrator V, que atua enfraquecendo a ligação do metal com compostos orgânicos e sulfetos, e promove a dissolução de silicatos e minerais, atuou nas amostras de alcatra e chã com extração mínima de 20%. Esta fração, em relação às extraídas pelos extratores I e II, pode representar uma fração de melhor aproveitamento orgânico, por não estar sob a forma de sais solúveis^{4,12,16-18, 21}.

Tabela 2. Teores de cobre em mcg.g^{-1} de extratos de carnes in natura resfriadas (IN) e congeladas (INC) por 30 dias.

Amostras	Extratores				
	I	II	III	IV	V
Alcatra IN	$0,32 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,00$	*	*	$0,22 \pm 0,01$
Chã IN	$0,46 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,02$	*	*	$0,15 \pm 0,02$
Peito de frango IN	$0,21 \pm 0,00$	*	*	*	*
Lagarto IN	$0,25 \pm 0,01$	*	*	*	*
Alcatra INC	$0,27 \pm 0,01$	*	*	*	$0,12 \pm 0,04$
Chã INC	$0,25 \pm 0,00$	*	*	*	*
Peito de frango INC	$0,22 \pm 0,01$	*	*	*	*
Lagarto INC	$0,25 \pm 0,01$	*	*	*	*

Extrator I) Solução de cloreto de cálcio – 1 M pH 7; Extrator II) Solução ácido acético – 0,1 M com Acetato de amônio - 5% pH 5,0; Extrator III) Solução de ácido acético – 1 M; Extrator IV) Solução hidróxido de sódio – 0,1 M; e Extrator V) Solução de ácido clorídrico – 0,5 M. *inferior a $0,1 \text{ mcg.g}^{-1}$.

Em relação às amostras in natura congeladas por 30 dias, é possível observar que todas as amostras apresentam no mínimo duas espécies de cobre, a fração extraída pelo extrator I de maior eficiência e as outras frações. O extrator I, de melhor eficiência, apresentou extração mínima de 52% e máxima de 71%. O extrator V atua apenas na amostra de alcatra, extraindo cerca de 32%. Observa-se que para a amostra de alcatra, a extração do cobre foi total.

Observando a Figura 1, no qual foram considerados os teores de cobre extraídos por cada extrator, em relação ao teor total deste metal nas amostras, estudados por ANDRADE et al.¹, verifica-se que com exceção da amostra de chã, o congelamento atuou facilitando a extração do cobre com o extrator I. Além disso, o congelamento influenciou no perfil da extração das amostras de alcatra e chã, que reduziram a ação dos extratores atuantes.

O processo de congelamento, além de reduzir o teor de cobre das amostras, parece influenciar na forma química deste metal.

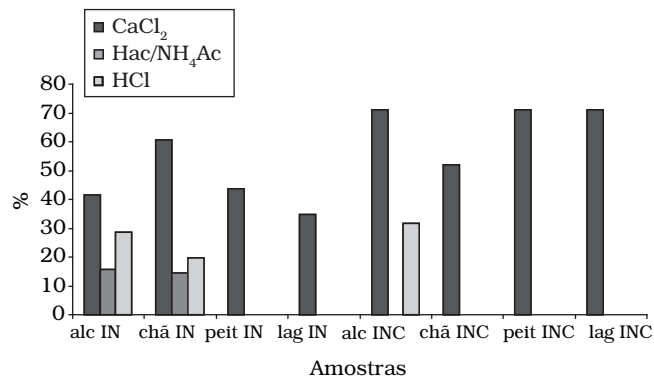


Figura 1. Teor % de extratos de cobre em carnes in natura resfriadas (IN) e carnes in natura congeladas por 30 dias (INC).

A Tabela 3 e a Figura 2 apresentam os teores de cobre extraídos pelo método de extração sequencial e o percentual de extração dos extratos de cobre em carnes processadas termicamente, resfriadas e congeladas por 30 dias. Valores inferiores a $0,1 \text{ mcg.g}^{-1}$ de cobre, durante o processo de extração, foram considerados insignificantes.

Segundo ORNELLAS¹⁵, o processamento térmico promove perdas de cobre de até 50% do teor inicial. É possível observar que as amostras estudadas apresentaram tal comportamento, além de terem ocorrido modificações no perfil de extração. O extrator I atuou em todas as amostras resfriadas, no mínimo 40% e no máximo 69% da extração. Este perfil pode caracterizar que este metal se encontra em pelo menos duas formas químicas distintas nas amostras resfriadas e processadas termicamente.

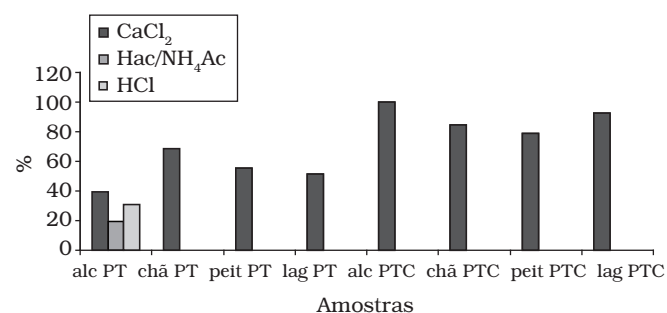
A amostra de alcatra, após o processamento térmico, foi a única que apresentou extração de cobre nos extratores II e V, além do extrator I, caracterizando que este metal, neste tipo de carne, se encontra em pelo menos quatro formas químicas distintas.

Para as amostras processadas termicamente e congeladas por 30 dias, apenas o extrator I atuou, considerando, com exceção da alcatra que apresentou 100% de extração, que este metal se encontra em pelo menos duas formas químicas distintas nestas amostras. Verifica-se que semelhante às amostras in natura, o congelamento favorece a extração do metal pelo extrator I, influenciando na forma química deste metal.

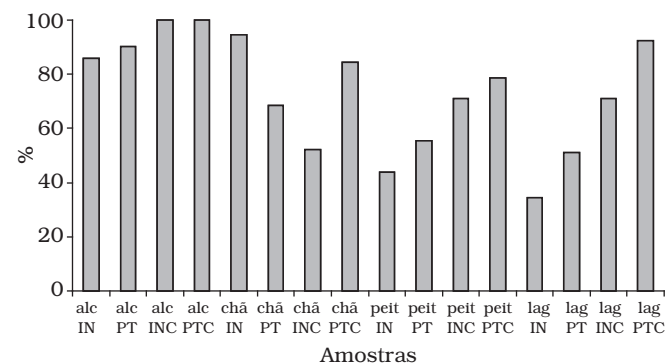
Tabela 3. Teores de cobre em mcg g^{-1} de extratos de carnes processadas termicamente resfriadas (PT) e congeladas por 30 dias (PTC).

Amostras	Extratores				
	I	II	III	IV	V
Alcatra PT	$0,24 \pm 0,00$	$0,12 \pm 0,01$	*	*	$0,19 \pm 0,02$
Chã PT	$0,24 \pm 0,01$	*	*	*	*
Peito de frango PT	$0,21 \pm 0,00$	*	*	*	*
Lagarto PT	$0,22 \pm 0,00$	*	*	*	*
Alcatra PTC	$0,27 \pm 0,00$	*	*	*	*
Chã PTC	$0,22 \pm 0,00$	*	*	*	*
Peito de frango PTC	$0,22 \pm 0,00$	*	*	*	*
Lagarto PTC	$0,24 \pm 0,01$	*	*	*	*

Extrator I) Solução de cloreto de cálcio – 1 M pH 7; Extrator II) Solução ácido acético – 0,1 M com Acetato de amônio - 5% pH 5,0; Extrator III) Solução de ácido acético – 1 M; Extrator IV) Solução hidróxido de sódio – 0,1 M; e Extrator V) Solução de ácido clorídrico – 0,5 M. *inferior a $0,1 \text{ mcg g}^{-1}$.

**Figura 2.** Teor % de extratos de cobre em carnes processadas termicamente resfriadas (PT) e congeladas por 30 dias (PTC).

A Figura 3 apresenta o teor percentual total de cobre extraído das amostras estudadas através do processo de extração sequencial. É possível observar que tanto o processamento térmico quanto o processo de congelamento influenciam aumentando o teor de extração do cobre. Como já discutido anteriormente, o processo de congelamento aumenta a extração, modificando o perfil da extração de algumas amostras, extraindo com apenas o extrator I, que caracteriza a fração de compostos iônicos facilmente solúveis, o que pode não ser favorável no que diz respeito ao aproveitamento deste metal pelo organismo.

**Figura 3.** Teor % total de cobre extraído de carnes in natura (IN), processadas termicamente (PT), in natura (INC) e processadas termicamente (PTC) congeladas por 30 dias.

Como já apresentado por ANDRADE et al.¹, o congelamento diminui o teor de cobre nas amostras, além de modificar a forma química das mesmas, nas quais, com exceção da alcatra, todas após congelamento in natura apresentaram o cobre extraído apenas por 1 extrator químico. O processamento térmico também promoveu perda do metal e influenciou na forma química do mesmo, com exceção da alcatra. Estas modificações químicas das espécies de cobre nas amostras de carne ainda podem estar influenciando na biodisponibilidade das mesmas.

4 Conclusões

As amostras de carnes estudadas mostraram que o cobre, para a maioria delas, se encontra no mínimo em duas espécies químicas distintas. O processamento térmico promove a diminuição do teor de cobre nas amostras estudadas, além de influenciar na extração deste metal com o extrator I, aumentando esta extração para a maioria das amostras.

O congelamento também influencia aumentando a extração deste metal, mas modifica o perfil de extração, mantendo para a maioria das amostras extração com apenas o extrator I.

Os resultados demonstram que o cobre passa por modificações químicas durante os processamentos aplicados, assim acredita-se que estudos posteriores que identifiquem as espécies de cobre nos diferentes extratos poderão auxiliar na avaliação do aproveitamento deste metal pelo organismo.

Referências bibliográficas

- ANDRADE, E. C. B. et al. Avaliação do teor de cobre e do zinco em carnes cruas e processadas termicamente resfriadas e congeladas no período de 1 mês, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 393-396, jul./set. 2004.
- BARCELOUX, D. G. Copper. **Journal of Toxicology Clinical Toxicology**, v. 37 n. 2, p. 217-30, 1999.
- BEN, A. M. Effect of freezing and microbial growth on myoglobin derivatives of beef. **Food Chemistry**, v. 47 n. 10, p. 4093-9, out. 1999.
- COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. São Paulo; Manole, 2005.
- DAS, K. A. et al. Metal speciation in solid matrices, **Talanta**, v. 42, n. 8, p. 1007-1030(24), 1995.
- EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**, 2. ed., São Paulo: Atheneu, 2000.
- FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Bioavailability of dietary minerals. **Biochemical Transactions Colchester**, v. 24, n. 3, p. 775-780, 1996.
- FRANCO, G. **Tabela de Composição de Alimentos**. 9. ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 239-269, 1999.
- GALLARDO-LARA, F. et al. Phytoavailability and Extractability of Copper and Zinc in Calcareous Soil Amended with Composted Urban Wastes. **Journal of Environmental Science and Health**, B v. 34, n. 6, p. 1049-1064, 1999.
- GLEYZES, C. et al. Fractionation studies of trace elements in contaminated Soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. **Trends in Analytical chemistry**, v. 21, n. 6, p. 451-467, 2002.

11. IPOLY, J.; BRUNORI, C. et al. Evaluation of performance of time saving extraction devices in the BCR-three-step sequential extraction procedure. **Journal Environmtal Monitoring**, v. 4, n. 4, p. 541-548, ago., 2002
12. LOON, J. C. V.; BAREFOOT, R. R. Overview of Analytical Methods for Elemental Speciation, **Analyst**, London, v. 3, n. 117, p.563-570, 1992.
13. MAHAN, L. K. et al. **Krause: Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. São Paulo: Editora Roca; 1998.
14. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, **Association of official analytical Chemists**, 40. ed, USA, 1984.
15. ORNELLAS, H. O. **Técnica Dietética-Seleção e Preparo de Alimentos**. 7ª. ed. Atheneu, São Paulo, 2001.
16. QIAN, J et al. Evaluation of plant availability of soil trace metals by chemical Fractionation d multiple regression analysis, **Environmental Pollution**, v. 91, n. 3, p.309-315, 1996.
17. RAMOS, L. et al. Sequential Extraction of Copper, Lead, Cadmium, and Zinc in Sediments from Ebro River (Spain): Relationship with Levels Detected in Earthworms. **Bulletin of Environmental Contamination and toxicology**, v. 62, n.3, p. 301-308, 1999.
18. SANDSTORM, B. Micronutrients interactions: effects on absorption and bioavaibility. **The British Journal of Nutrition** May, 85 Suppl 2: S181-185, 2001.
19. SCHEINOST, A. et al. Combine selective sequential extraction, X-ray absorption spectroscopy, and principal components analysis in soil. **Environmental Science & Techonology**, v. 1, n. 36, p. 5021-5028, dez. 2002.
20. SHIOWATANA, J. et al. A novel continuous flow sequential extraction procedure for metal speciation in solids. **Journal of Environmtal Quality**, v. 30, n. 4, p. 1195-1295, jul-aug, 2001.
21. VULKAN, R. et al. Copper and zinc speciation in the solution of a soil-sludge mixture. **Journal of Environmental Quality**, v. 31, n. 1, p. 193-203, jan-feb, 2002.
22. WAITZBERG, D. L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 3ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 131-134, 2002.