

RELAÇÃO ENTRE AS MASSAS ÚMIDA, SECA E DE CINZA EM MATERIAIS BIOLÓGICOS - UMA FERRAMENTA PARA AMOSTRAGENS EM CAMPO E ANÁLISE DE AMOSTRAS

Luisa Maria de Hollanda e Vasconcellos, Dejanira da Costa Lauria e Lucia Helena Costa Silva

Departamento de Proteção Radiológica Ambiental - Instituto de Radioproteção e Dosimetria - Comissão Nacional de Energia Nuclear - CP 37750 - 22642-970 - Rio de Janeiro - RJ

José Fernando Taddei

Laboratório de Controle Ambiental - Complexo Mínero Industrial do Planalto de Poços de Caldas - Indústrias Nucleares Brasileiras - CP 961 - 37701-970 - Poços de Caldas - MG

Recebido em 31/7/98; aceito em 22/2/99

FRESH, DRY AND ASH MASS RELATIONSHIP IN BIOLOGICAL MATERIALS - A TOOL FOR SAMPLING IN FIELD AND ANALYSIS OF SAMPLES. Little is known about the amount of water and ash in brazilian foodstuffs and plants. The relationships between fresh, dry and ash weight were determined in 40 different biological samples. It could be an important tool when one studies biological material containing low concentration of the chemical elements. This study address to determine these relationships and to provide the amount of biological material that one needs to collect. It aims to supply information that could be used to improve the detection limit, precision and accuracy of the analytical methodology utilized.

Keywords: sampling; biological materials; percentage of water; ash.

INTRODUÇÃO

A Avaliação de Impacto Ambiental, instrumento básico da Política Nacional do Meio Ambiente, foi instituída no Brasil em 31 de agosto de 1981 pela Lei 6938/81. Cinco anos mais tarde, a Resolução 001, de 21 de janeiro de 1986, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), definiu, entre outros, o conceito de impacto ambiental, as atividades modificadoras do meio ambiente que exigem a apresentação do EIA/RIMA (Estudos de Impactos Ambientais) e as atividades técnicas a serem desenvolvidas para a sua elaboração¹. Um dos aspectos apontados nesta regulamentação diz respeito à análise dos impactos ambientais considerando sua magnitude, verificada através de alterações quantitativas no meio físico, sócio econômico e biótico.

Como o homem se alimenta com produtos de origem vegetal e animal, a análise de alimentos constitui um instrumento importante para a identificação e previsão da magnitude dos impactos potenciais sobre a saúde do homem. A análise de alimentos de origem animal e/ou vegetal, direta ou indiretamente consumidos pelo homem, é usualmente realizada tanto com o intuito de estimar a ingestão de elementos químicos ou substâncias por indivíduos ou grupos de pessoas, quanto para fornecer, através das relações existentes entre água-solo-planta-animal², informações sobre a concentração de elementos nos compartimentos ambientais. Alguns materiais biológicos são indicadores de poluição ambiental e são também coletados e analisados para avaliar o impacto ambiental resultante de alguma atividade humana, entre eles estão as algas, *thypha*³, folhas de árvores, entre outros.

Durante os últimos vinte e cinco anos, visando avaliar o impacto ambiental decorrente das atividades das instalações nucleares no Brasil, o Departamento de Radioproteção Ambiental (DEPRA) do Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD) da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), analisou dezenas de produtos alimentícios provenientes de regiões, tais como: Angra dos Reis-RJ, Resende-RJ, Poços de Caldas-MG, Buena-RJ, entre outras. Concomitantemente, o Laboratório de Controle Ambiental das Indústrias Nucleares Brasileiras, localizado em Poços de Caldas, também realizou a

análise de inúmeras amostras biológicas em cumprimento ao programa de monitoração ambiental do Complexo Mínero Industrial do Planalto de Poços de Caldas CIPC, onde ocorre a mineração de urânio.

Este artigo apresenta uma compilação dos resultados obtidos, de forma independente, pelas duas instituições. Enfoca o aspecto quantitativo relacionado à coleta e à preparação de várias amostras biológicas, de origem vegetal e animal e, apresenta informações sobre as relações entre as massas úmida, seca e de cinzas, em diversos produtos alimentícios brasileiros, direta ou indiretamente, consumidos pelo homem. Tem como objetivo principal fornecer uma orientação a todos os pesquisadores que necessitem de uma estimativa da quantidade de material a ser coletado, com a finalidade de determinar os teores de elementos contidos nos produtos, sejam eles radioativos ou estáveis.

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

A quantidade de amostra a ser coletada é definida com base no valor da concentração do elemento que se pretende determinar, no valor do limite de detecção do equipamento utilizado ou da concentração mínima detectável do procedimento analítico adotado e no grau de incerteza admitido para o resultado.

Para estimar a quantidade de elemento ingerida em decorrência do consumo de alimentos, os resultados das determinações devem ser apresentados em relação a massa do produto fresco ou úmido. No entanto, a padronização de valores de massa fresca é difícil, uma vez que é definida como a massa da amostra limpa, lavada e seca ao ar, sofrendo portanto, a influência das condições do clima local durante o período de secagem. A umidade relativa do ar terá então, uma grande importância no teor de água da amostra. Assim sendo, para efeito de comparação, muitas vezes é preferível reportar os resultados com base na massa seca, esta sim, padronizada e definida como a massa da amostra seca em estufa, a uma temperatura de 80°C por 24 h⁴. Normalmente, para que o procedimento analítico empregado na determinação de elementos presentes em baixas concentrações apresente bom grau de precisão e exatidão analíticas, é necessária a utilização de quantidades

relativamente altas de amostra. Como os elementos que não são essenciais para o desenvolvimento do vegetal ou do animal, geralmente, estão presentes em baixas concentrações, utilizam-se meios que permitem concentrá-los, possibilitando, desta forma, a detecção de baixos teores com precisão e exatidão dentro dos padrões de qualidade requeridos.

Nos casos de determinação dos teores de elementos ou substâncias não voláteis, a calcinação é um meio eficaz para reduzir o volume da amostra, concentrando o elemento de interesse, facilitando assim, a homogeneização de grandes quantidades da mesma, além de baratear os custos das análises por redução da quantidade de reagentes utilizados. Da etapa de coleta até a análise, a amostra tem sua massa alterada ao longo de todo o processo de preparação. Logo, é necessário que se estime a quantidade de amostra a ser coletada em função da massa necessária para a análise em questão. Daí a importância de se conhecer as relações existentes entre as massas úmida, seca e de cinza para que se possa estimar a quantidade mínima de amostra que deve ser coletada para a realização da análise específica.

Para a maior parte dos materiais biológicos, a determinação da massa úmida, seca e de cinza segue o seguinte procedimento⁵: a amostra é lavada e seca ao ar para a determinação da massa fresca ou úmida. É picada e transferida para uma cápsula de porcelana com capacidade de 5 litros. É seca em estufa a 80°C por 24h⁶. Após este período, é pesada para obtenção da massa seca. Posteriormente, é transferida para um forno, no qual, durante cerca de 8 horas, a temperatura é elevada paulatinamente de 50 em 50°C até atingir 450°C⁶, permanecendo nesta temperatura durante 48h. A seguir, a amostra é resfriada, e então, pesada para obtenção da massa de cinza. Deve-se ressaltar que a temperatura de calcinação deve ser elevada gradualmente para evitar a combustão da amostra⁶, muito embora, em materiais que contém grandes quantidades de gordura, como por exemplo, o fígado, a combustão seja inevitável. Ao contrário da combustão, a oxidação de carbono que dá origem à incandescência de material carbonífero, não pode ser evitada. Embora este fenômeno não interfira na determinação subsequente de elementos não voláteis, a incandescência é responsável pela eliminação de elementos voláteis, uma vez que a temperatura do material incandescente é consideravelmente superior à da cinza⁶.

De um modo geral, as frações analisadas dos produtos alimentícios são aquelas usualmente consumidas.

Os vegetais folhosos seguem exatamente o procedimento descrito. Os tubérculos caulinários (batata, batata doce, beterraba), tubérculos radiculares (cenoura, mandioca), bulbos (alho, cebola), cana de açúcar e a banana são lavados e descascados antes da obtenção da massa úmida. Os grãos (milho, feijão, café, aveia) são debulhados e pesados para obtenção da massa úmida. Depois são secos e calcinados de acordo com o procedimento acima descrito. O leite e o vinho são evaporados, numa cápsula de porcelana, em estufa até a secagem e, calcinados de forma idêntica ao procedimento descrito. A laranja é espremida para a extração do suco que é evaporado, em cápsula de porcelana, em estufa e, posteriormente calcinada. O ovo é cozido, descascado, picado e pesado para a determinação da massa úmida, depois segue os procedimentos de secagem e calcinação descritos. O peixe, após descamação e a retirada das vísceras, é seco e calcinado quando a espécie é consumida com as espinhas, quando não, a amostra é colocada primeiramente para secar durante uma hora, após este período as espinhas são retiradas seguindo-se então o procedimento normal. A massa úmida dos moluscos (bivalvas) é obtida após a retirada da concha. Os camarões são lavados e escorridos para a retirada do excesso de umidade e, dependendo do tamanho, têm sua cabeça retirada antes da pesagem. As algas têm apenas as partes superiores do talo coletadas evitando-se retirar a sua base de fixação ao substrato, para que a espécie seja preservada.

As amostras coletadas passam por uma triagem quando são separadas outras espécies de algas e pequenos organismos que possam estar aderidos à espécie de interesse. O pasto é analisado do mesmo modo como consumido pelo animal, isto é, não deve ser lavado ou ter retiradas as partículas de solo aderidas na sua superfície. As amostras de *Thypha*, vegetal típico de brejos, são lavadas e postas para secar ao ar; após obtenção da massa úmida, a amostra segue o procedimento normal até a medição da massa de cinzas resultante. A ração e a silagem, não são lavadas e a massa úmida é determinada no produto, como adquirido. As folhas de árvores têm suas massas úmidas determinadas, após secagem ao ar, e são processadas para determinações das massas secas e de cinzas, de acordo com o procedimento descrito anteriormente. As amostras de carne, em geral são pesadas para a obtenção da massa úmida e são colocadas em cápsulas para serem submetidas ao processo de calcinação. A elevação da temperatura do forno se dá de forma ainda mais lenta devido a quantidade de gordura presente neste tipo de material.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os valores médios, mínimos e máximos da relação entre a massa úmida e a massa seca de diversos produtos, bem como a percentagem de água presente em cada um deles. Na última coluna, pode-se observar os valores destas percentagens reportados na literatura que, em geral, se referem a resultados obtidos em regiões de clima temperado^{7,9,10}. Entre os materiais analisados, a maior variação obtida na relação entre a massa úmida e seca foi encontrada na matriz alga, que variou por um fator de 3,8, desde o valor mínimo de 2,9 até o máximo de 11. Esta variação pode ser explicada pelo fato deste material ser submetido a uma triagem para a retirada manual de outros possíveis organismos aderidos em sua superfície. Portanto, a precisão do resultado, fica sujeita à meticulosidade de cada um dos técnicos envolvidos nesta limpeza. A segunda maior variabilidade na relação entre a massa úmida e seca foi obtida na matriz pasto, que variou por um fator de 3,4 (2,4 a 8,2) que pode ser devido à quantidade de solo ou poeira presente nas folhas, visto que a amostra não é lavada.

Os demais produtos apresentaram um intervalo de 3 a 1 nos valores dos fatores de variação entre a massa úmida e massa seca.

Dentre os valores do teor de água disponíveis, na literatura, pode-se observar que a maior parte dos valores está muito próximo aos valores obtidos neste trabalho.

A maior disparidade encontrada no camarão deve ser devido ao fato do valor citado na literatura, se referir à amostra do produto processado, diferindo portanto das características presentes no material fresco.

Os valores médios, mínimos e máximos da relação existente entre a massa úmida e a massa de cinza, com suas respectivas percentagens de cinzas são apresentados na Tabela 2. Os valores médios da percentagem de cinza obtidos neste trabalho são muito semelhantes àqueles encontrados na literatura. De forma semelhante aos resultados obtidos para o teor de água nos alimentos, os resultados da percentagem média de cinzas, no camarão foi o que apresentou a maior diferença entre os obtidos neste trabalho e aqueles disponíveis na literatura, as prováveis causas desta discrepância foram acima discutidas.

Por vezes, os resultados disponíveis na literatura, se referem aos resultados da percentagem de cinzas presentes dentro de uma dada categoria de alimentos, isto é, tubérculos, grãos, bulbos, carnes, frutas, peixes e alimentos de consumo animal. Neste trabalho, a percentagem média de cinzas por categoria de alimentos foi de 0,70 para os bulbos, 3,1 para os grãos, 1,5 para os vegetais folhosos e 1,05 para as carnes. Os valores encontrados na literatura para os vegetais radiculares, foram de 0,72⁷ e 0,76⁸. Neste trabalho, excluindo a batata, que devido a importância de seu consumo nos países de clima temperado tem, em

Tabela 1. Valores médios, mínimos e máximos das relações entre as massas úmidas e secas (Mu/Ms) e teores médios de água em amostras ambientais.

PRODUTO	N	RELAÇÃO ENTRE AS MASSAS			TEOR MÉDIO DE ÁGUA (%)	
		MÉDIA +/-SD	Mu/Ms		NESTE TRABALHO	LITERATURA
			MÍNIMO	MÁXIMO		
TUBÉRCULO						
Cenoura	45	10+/-2,4	6,4	17	90	88,2 ^{7,9} ;84 ⁸
Batata	61	6+/-1,4	3,8	11	84	77,8 ⁷ ;79 ⁸ ;79,8 ⁹
Batata doce	02	5+/-0,4	4,5	05	79	68,5 ⁷ ;70,6 ⁹
Mandioca	56	3+/-0,3	2,1	3,9	62	62 ⁸
Beterraba	02	10+/-1,2	9,2	11	90	87,3 ⁹
BULBOS						
Cebola	03	9,5+/-1,1	8,2	10,3	89	89 ⁷ ;89,1 ⁹
Alho	08	3,5+/-0,6	2,7	4,2	71	61,3 ⁹
GRÃOS						
Milho	15	1,2+/-0,1	1,1	1,2	14	13,8 ⁹
Feijão	11	1,2+/-0,04	1,1	1,3	15	10,9 ⁹
Café	02	1,1+/-0,05	1,0	1,0	5,1	
Aveia	02	5+/-0,9	4,3	5,6	79,5	
FRUTAS						
Banana	33	3,7+/-0,8	2,3	5,3	71	75,7 ⁹
Laranja*	06	8+/-0,3	7,9	6,6	88	88,3 ⁹
FOLIÁCEOS						
Alface	03	19+/-2	17	21	95	94,8 ⁷ ;92 ⁸ ;95,1 ⁹
Couve	10	8,5+/-1,3	7,4	12	88	
OUTROS						
Camarão	13	5+/-1	4,2	8,1	81	66,2 ⁷ ;78,2 ⁹
Leite*	47	9+/-1,2	6	12	88	87 ⁷
Pasto	104	5+/-1,5	2,4	8,2	77	87,4 ⁹
Ração	28	3,5+/-0,9	2,3	06	69	
Silagem	13	2,5+/-0,6	1,4	3,4	58	69 ⁸
Cana açúcar	06	3,7+/-0,4	3,3	4,3	73	
Alga	78	6,4+/-2	2,9	11	83	
Thypha	25	3,2+/-0,8	2,1	5	67	
Folha Eucalipto	14	2+/-0,3	1,3	2,7	50	
Folha Goiabeira	04	2,6+/-0,3	2,4	3	62	
Folha Mangueira	07	2,3+/-2	2	2,6	57	
Farinha de Mandioca	06	1,1 +/- 0,01	1,0	1,1	06	

Líquido (ml); SD= desvio padrão

geral, valores específicos, o valor calculado foi de 0,78, portanto concordante com o obtido na literatura para esta categoria de alimento⁷. Para os produtos de consumo animal, o valor médio para a percentagem de cinzas obtido neste trabalho é de 2,1 e na literatura é 2,3⁷ portanto muito próximos entre si. O valor médio da percentagem de cinzas citado na literatura para sucos de frutas é de 0,68⁷ e de 0,61⁸ sendo também concordantes com os obtidos neste trabalho para as amostras de laranja (0,6). Para carnes, a literatura cita o valor de 1,1⁷ e neste trabalho a percentagem média de cinzas para este tipo de alimento foi de 1,05.

No entanto, os resultados deste trabalho mostram diferenças significativas entre as percentagens de cinza entre membros de uma mesma categoria. Cebola(0,4) e alho(1,0) diferem em torno de 60%. Embora o feijão, café e aveia apresentem valores muito próximos, o milho apresentou um valor cerca de três vezes menor do que a média dos três outros. Até mesmo entre os peixes, os valores variaram entre 2,2 e 4,6. Estes resultados ressaltam os erros que podem ser induzidos pela utilização de um valor único de percentagem de cinza por categoria.

Tabela 2. Relação entre as massas úmidas e de cinzas e suas respectivas percentagens de cinzas.

PRODUTO	N	RELAÇÃO ENTRE AS MASSAS			TEOR MÉDIO DE CINZAS (%)	
		Mu/Mc			NESTE TRABALHO	LITERATURA
		MÉDIA +/-SD	MÍNIMO	MÁXIMO		
TUBÉRCULOS						
Cenoura	45	123+/-27	78	199	0,85	1,0 ⁷ ;0,8 ⁹
Batata	61	129+/-24	72	198	0,8	1.0 ⁷ , 9 ⁹ ;1,1 ¹⁰
Batata Doce	02	168+/-19	155	181	0,6	1,1 ⁷ ;1,0 ⁹
Mandioca	53	123+/-29	69	184	0,9	
Beterraba	02	127+/-20	113	141	0,8	1,1 ^{7,9}
BULBOS						
Cebola	03	247+/-16	229	261	0,4	0,6 ⁹
Alho	08	102+/-24	75	143	1,0	1,5 ⁹
GRÃOS						
Milho	15	86+/-11	68	112	1,2	1,2 ⁹
Feijão	11	26+/-3	21	31	3,8	3,78 ⁷
Café	02	27+/-4	25	30	3,7	3,8 ¹⁰ ;3,9 ⁹
Aveia	02	28+/-5	5,4	21	3,9	3,2 ⁹
FRUTAS						
Banana	33	108+/-18	68	140	0,95	0,8 ⁹
Laranja*	06	168+/-14	147	188	0,6	0,4 ⁹
FOLIÁCEOS						
Alface	03	83+/-13	72	97	1,2	0,9 ⁷ ;1,0 ⁹
Couve	10	54+/-9	39	71	1,9	
PEIXES						
Bagre	11	30+/-7	21	44	3,5	
Cascudo	08	45+/-13	38	54	2,2	
Corvina	19	23+/-3	19	30	4,4	
Garoupa	14	26+/-3	19	58	4,1	
Lambari	40	26+/-5	20	40	3,9	
Parati	05	25+/-4	20	30	4,1	
Piau	03	39+/-3	36	40	2,5	
Sardinha	03	24+/-2	22	26	4,2	3,9 ⁷ ;3,1 ⁹
Tilápia	03	37+/-6	30	43	2,8	
Traíra	04	23+/-4	16	27	4,6	
CARNES						
Carne de boi	02	101+/-9	95	108	0,99	0,94 ⁷ ; 0,92 ¹⁰
Rim de boi	04	96+/-12	88	114	1,05	1,1 ⁹
OUTROS						
Camarão	13	30+/-5	18	37	3,5	5,8 ⁷ ;1,4 ⁸
Molusco	04	63+/-16	49	82	1,65	1,8 ^{7,10} ;1,3 ⁹
Leite*	260	135+/-22	75	206	0,8	0,7 ^{7,9}
Vinho*	05	460+/-087	364	593	0,22	0,2 ⁹
Pasto	104	46+/-14	26	85	2,3	
Ração	28	49+/-11	38	84	2,1	
Silagem	13	53+/-14	35	80	2,0	
Cana de açúcar	06	284+/-16	239	399	0,4	
Ovo	15	97+/-16	60	112	1,1	0,94 ⁷ ;1,0 ^{9,10}
Alga	78	15+/-4	9	27	7,3	
Thypha	25	43+/-9	28	63	2,4	
Farinha Mandioca	06	92 +/- 9	63	122	1,2	

Líquido (ml); SD=desvio padrão

Tabela 3. Massa úmida (fresca) necessária para obtenção de 10 g de cinza de material.

PRODUTO	MASSA ÚMIDA +/- DESVIO (g)
TUBÉRCULO	
Cenoura	1230 +/- 270
Batata	1290 +/- 240
Batata Doce	1680 +/- 190
Mandioca	1230 +/- 290
Beterraba	1270 +/- 200
BULBOS	
Cebola	2470 +/- 160
Alho	1020 +/- 240
GRÃOS	
Milho	860 +/- 110
Feijão	260 +/- 34
Café	270 +/- 40
Aveia	260 +/- 54
FRUTAS	
Banana	1080 +/- 180
Laranja*	1680 +/- 140
FOLIÁCEOS	
Alface	830 +/- 130
Couve	540 +/- 92
PEIXES	
Bagre	300 +/- 70
Cascudo	450 +/- 130
Corvina	230 +/- 30
Garoupa	260 +/- 30
Lambari	260 +/- 50
Parati	250 +/- 40
Piau	390 +/- 30
Sardinha	240 +/- 20
Tilápia	370 +/- 60
Traíra	230 +/- 40
CARNES	
Carne de boi	1010 +/- 90
Rim de boi	960 +/- 120
OUTROS	
Camarão	300 +/- 50
Molusco	630 +/- 160
Leite*	1350 +/- 220
Vinho*	4600 +/- 870
Pasto	460 +/- 260
Ração	490 +/- 110
Silagem	530 +/- 140
Cana de açúcar	2840 +/- 610
Ovo	970 +/- 160
Alga	150 +/- 44
Thypha	430 +/- 98
Folha de Eucalipto	396 +/- 96
Farinha de Mandioca	920 +/- 240

*Líquido (ml)

Pode-se observar através das Tabelas 1 e 2 que os valores médios apresentam desvios inferiores a 25%, permitindo estabelecer uma relação prática, da quantidade de cada material a ser coletado, para a obtenção de 10 gramas de cinza, quantidade esta, usualmente suficiente para ser ter um testemunho da amostra e para se realizar as determinações de elementos presentes nos materiais biológicos. A quantidade de material necessário para obter 10 gramas de cinzas para diversos tipos de amostras é apresentada na Tabela 3.

CONCLUSÃO

Não foi encontrada uma diferença significativa tanto entre os valores do teor de água quanto entre a relação entre a massa úmida (ou fresca) e de cinza de materiais biológicos de clima temperado, citados na literatura, e os valores obtidos neste trabalho; salvo quando o produto em questão passa por um processamento industrial que altera suas características originais. A utilização de um valor único de percentagem de cinza por categoria pode induzir a uma estimativa errada da amostra a ser coletada.

REFERÊNCIAS

1. CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resoluções do International Atomic Energy Agency, CONAMA; 1984/86. Brasília, SEMA 1986.
2. IAEA *Generic models and parameters of radionuclides from routine release*. Exposure of critical groups, Safety Series nº 57, Vienna 1982.
3. Koranda, J. J. and Robison, L. W.; *Environmental Health Perspective*, V. 27, p165-179 1978.
4. IUR, International Union of Radioecologist, *VI Report of Working Group Soil to Plant Factors*, Bilthoven, The Netherlands 1989.
5. DEPR, Departamento de Radioproteção Ambiental, *Manual de Procedimentos Radioquímicos*. DEPR/IRD/CNEN, Rio de Janeiro (3ª revisão) 1996.
6. Nancy, A. C.; Donald, C. B.; Earl, O. K. In: *Environment Measurements Laboratory Procedures Manual*, EML, HASL 300. U.S. Department of Energy, New York, 27th Edition, Vol.I, 1990, pp 1-1 a 2-110.
7. Phillip W. Krey, Harold L. Beck In: *Environmental Measurements Laboratory Procedures Manual*, EML, HASL 300. U.S. Department of Energy. Edited by Nancy A Chieco, Donald C. Bogen, Earl Knutson. 29th Edition, Vol I, February 1993, 4.5.
8. IAEA, International Agency Energy Atomic. Technical Reports Series Nº 295. *Measurements of Radionuclides in Food and the Environment. A Guidebook*. 1989.
9. IAEA, International Agency Energy Atomic. Technical Reports Series Nº 364. *Handbook of parameter values for prediction of radionuclide transfer in temperate environments*. 1994.
10. Bernice, K. M. & Merrill, A. L. *Composition of foods: raw, processed, prepared*. Agriculture Handbook nº 8. United States Department of Agriculture. December 1963.