AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE GARRAFADAS COMERCIALIZADAS EM FEIRAS LIVRES NO MUNICIPIO DE REDENÇÃO-CE

Bárbara Elen Santos Stedile[1]
Francisco Guilherme Oliveira Ferreira[2]
Maria Do Socorro Moura Rufino [3]

RESUMO

A medicina popular passou a abrir caminhos na busca de novos conhecimentos no uso de plantas medicinais, para melhorar a saúde básica, produzindo o próprio remédio: a produção de garrafadas. Inicialmente foi realizada uma pesquisa exploratória e descritiva com abordagem quantitativa acerca das espécies de plantas utilizadas. Foram utilizadas quatro garrafadas G1 base de unha de gato e hortelã; G2 base de malvarisco; G3 a base de romã e cajueiro e G4 a base de chanana. Foram determinados o pH: G1 = 5,22; G2 = 5,33; G3 = 5,46 e G4 = 5,64. Teor Alcoólico: G1 = 3g/l; G2 = 3g/l; G3 = 2g/l e G4 = 4g/l. Acidez Total Titulável (ATT): G1 = 2,06%; G2 = 3,1%; G3 = 3,45% e G4 = 1,73%. Polifenóis Extraíveis Totais (PET): G1 = 5,36; DP=0,21; G2 = 5,79; DP=021; G3 = 16,30; DP=0,51 e G4 = 5,31; DP=0,12. Atividade Antioxidante (AAT): G1 = 2,06%; G2 = 3,1%; G3 = 3,45% e G4 = 1,73%. Na Análise Microbiológica de um total de quatro amostras analisadas, três apresentaram crescimento microbiano. Já com relação à contaminação por fungos, 50% das preparações estão conforme a literatura. Conclui-se que com relação aos valores do pH e acidez são aceitáveis conforme os relatos da literatura e o álcool presente nas garrafadas pode alterar parâmetros bioquímicos. Referente aos valores apresentados para PET e AAT das amostras, apenas G3 apresentou um valor maior que as outras. Embora a pesquisa tenha resultados satisfatórios, devido à limitação de trabalhos na literatura, há necessidade de mais pesquisas.

Palavras-chave: Ervas; Análise Bioquímica; Compostos Funcionais.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Ciências da Saúde , Discente, barbarastedile@aluno.unilab.edu.br[1]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Desenvolvimento Rural, Discente, guilhermeoliveiraferreira@gmail.com[2]
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Desenvolvimento Rural , Docente, marisrufino@unilab.edu.br[3]

ISSN: 2447-6161

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, utiliza-se ervas e plantas na busca por alívio e cura de doenças. Para tratar as enfermidades, com o uso das plantas medicinas, a medicina popular passou a abrir caminhos na busca de novos conhecimentos no uso dessas plantas, como forma de melhorar a saúde básica, dando margem para a população utilizar esses conhecimentos adquiridos ao longo da história, podendo produzir o próprio remédio, como por exemplo, a produção de garrafadas que são produzidas e comercializadas pelos raizeiros em feiras livres. (Passos et al., 2018) Sabe-se que a garrafada consiste na combinação entre plantas medicinais e bebidas alcoólicas. A maioria é produzida para ser utilizada de forma oral, entretanto, é possível encontrar algumas que sejam utilizadas pela via tópica e inalatória. Assim, é considerada como um produto composto por um solvente e um soluto. O soluto nesse caso seriam as partes dos vegetais, como as cascas, frutos, folhas, raízes ou flores, secas ou frescas. O solvente é a bebida alcoólica geralmente utilizando o vinho, cachaça, água, mel ou vinagre. (Griz et al., 2017). Embora exista uma grande demanda por esse produto, por parte da população local, não existe uma regulamentação da Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) para a produção e comercialização deste produto. Isso se deve ao fato de que as garrafadas não são reconhecidas pelo órgão, que tem como uma de suas funções a fiscalizar a produção e consumo de medicamentos, como sendo um medicamento nem como qualquer outro tipo de produto de saúde. (Passos et al., 2018) Esse não reconhecimento como sendo medicamento nem como produto fitoterápico nem como plantas medicinais é consequência da não submissão deste a testes de segurança, eficácia e qualidade. Entretanto, ainda é um produto com bastante procura em feiras livres e mercados populares, inclusive no município de Redenção-CE, onde são produzidas pelos raizeiros da região. (Passos et al., 2018) Este trabalho teve como objetivo geral identificar as plantas medicinais utilizadas em garrafadas, comercializadas em feiras livres no município de Redenção e avaliar a qualidade, quantificando seu aspecto físico-químico, químico e funcional. Nesse contexto, os objetivos específicos foram: identificar os aspectos botânicos das espécies de plantas e seus usos medicinais; identificar o teor alcoólico nas garrafadas; quantificar a vitamina C nas garrafadas; quantificar os polifenóis extraíveis totais nas garrafadas; quantificar a atividade antioxidante pelo método ABTS; quantificar a quantidade de microrganismos na amostra.

METODOLOGIA

A coleta do material foi realizada inicialmente com a escolha de quatro garrafadas a base de plantas medicinais, selecionadas de forma aleatória, na feira livre localizada no centro de Redenção-CE. O critério de seleção foi garrafadas com finalidades terapêuticas diversas e, de preferência, com os rótulos legíveis. As garrafadas foram nomeadas com siglas G1, G2, G3 e G4, para facilitar a identificação e elaboração das tabelas com o perfil das amostras, sendo: Garrafa G1 a base de unha de gato e hortelã; Garrafa G2 a base de malvarisco; Garrafa G3 a base de romã e cajueiro e Garrafa G4 a base de chanana. Em seguida, as garrafadas foram analisadas para a construção da tabela com a identificação do nome científico, nome popular, as partes de uso de cada espécie de planta, verificando se a finalidade de cada uma delas corresponde com a patologia descrita nos rótulos das garrafadas que foram analisadas, estabelecendo dessa forma, um perfil de utilização das mesmas e refletindo/discutindo a literatura vigente sobre o impacto destas na saúde pública. Já em relação à análise laboratorial a metodologia utilizada está descrita a seguir: A presente pesquisa foi realizada no laboratório de Bioquímica e Frutos Tropicais do Departamento de Engenharia de Alimentos – DEAL da Universidade Federal do Ceará -UFC, localizado no município de Fortaleza- CE. As análises realizadas são descritas a seguir: 1. Identificação do pH: Para a identificação do pH das garrafadas utilizou-se o pHmetro de marca (Kasui) e um Béquer de 50 ml para manuseio das amostras. Antes de utilizar o equipamento foi

ISSN: 2447-6161

utilizado as solução-tampão de pH 4 e a solução-tampão pH 7 para calibrar o pHmetro para o uso das amostras. Após esse procedimento foi adicionado 20 ml de cada garrafada para a identificação dos valores de pH que foram realizados em triplicatas. 2. Análise do teor alcoólico: o teor alcoólico (concentração de etanol) foi determinado utilizando-se o ebuliômetro. Inicialmente é feita a calibração do equipamento com água destilada, até a temperatura de ebulição, a qual serve de referência para o etanol. Com a temperatura de ebulição da água e da amostra, determinou-se a concentração de etanol, utilizando a régua de conversão que acompanha o equipamento. 3. Quantificação dos Polifenóis Extraíveis Totais (PET): A análise consiste em oxidação que ocorre nos fenolatos por meio do reagente Folin-Ciocalteau diminuindo os ácidos em um complexo de cor azul Mo-W. tornando-se o ácido gálico uma substância de utilização modelo. A finalidade dos polifenóis extraíveis totais ocorreu a princípio com testes das alíquotas. Entre as quais apresentassem absorbância por entre os pontos mínimo e máximo presentes na curva padrão especificada tendo a absorbância perto do valor mediano. Para o manuseio das amostras foram utilizados tubos de ensaio em triplicados aplicando a técnica de pipetagem nos tubos direcionados para as amostras de alíquotas com extratos preparados com base no protocolo do laboratório de frutos tropicais da UFC definido por descrito por Singleton e Straits (1999) que foram realizados nas amostras. Em tubos de ensaio, em triplicata, foi pipetado as seguintes alíquotas: G1=150 micolitros; G2=250 microlitros; G3=100 microlitros; G4=100 microlitros. Após pipetar as referidas amostras nos tubos, completou-se o volume para 0,5 ml com água destilada e se seguiu adicionando 0,5 ml de Folin-Ciocalteau, 1 ml de carbonato de sódio 20% e homogeneizado e realizado a leitura após 30 minutos com adição dos reagentes. Esses procedimentos foram efetuados ao abrigo da luz. 4. Determinação da atividade antioxidante total (AAT) pelo método ABTS: A definição da ação antioxidante ocorreu por meio do método elaborado por Miller et al. (1993), com moldagens realizadas por Rufino et al. (2007) que corresponde a captura dos radicais livres – ABTS. Através deste método é originado o ABTS+, que apresenta uma cor azul meio esverdeado, e sua reação passa-se devido a mistura de solução reserva de ABTS, acompanhada com a solução de persulfato de potássio. Da mesma forma ocorre com a junção do antioxidante, provocando um prejuízo ao ABTS+, proporcionando perda nas cores advindo do ABTS. Diante disso a percentagem ocorre devido o bloqueio de ABTS+ dos quais foi estabelecido por meio da curva padrão de Trolox. Em ambiente escuro, em tubos de ensaio, em triplicata, foi pipetado as seguintes alíquotas: G1=30 micolitros; G2=20 microlitros; G3=20 microlitros; G4=15 microlitros. Após pipetar as referidas amostras nos tubos e se seguiu adicionando 3,0 mL do radical ABTS·+ e foi homogenizado em agitador de tubos. Realizou-se a leitura (734 nm) após 6 minutos da mistura e utilizou-se o álcooletílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. A partir das absorbâncias obtidas dos extratos, registrou-se a absorbância no eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X. Em seguida, determinou-se a equação da reta. 5. Análise microbiológica: Para avaliação microbiológica das amostras foi realizado o teste por método de contagem em placa em profundidade, pour-plate, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2019). Análise das amostras foi realizada em capela de fluxo laminar e, por se tratar de soluções hidroetanólicas, a inativação da atividade antimicrobiana do etanol foi removida pelas diluições realizadas para o desenvolvimento da metodologia. A partir de 10 mL da amostra prepararam-se diluições seriadas, utilizando 90 mL de solução tampão cloreto de sódio-peptona pH 7,0. Para todas as amostras foram realizadas as seguintes diluições: 1:100 e 1:000, que foram posteriormente inoculadas em Ágar Caseína-Soja (TSA) e Ágar Sabouraud-Dextrose (ASD). Para todas as amostras analisadas, distribuíram-se alíquotas de 1 mL de cada diluição, no centro de placas de Petri (90 x 15 mm) estéreis, em seguida foram vertidos, separadamente, 18 mL de Ágar caseína-soja e Ágar Sabouraud-Dextrose fundidos, resfriados e mantidos entre 45 °C e 50 °C. Em seguida, as placas foram homogeneizadas em movimentos de “8 ou S” e incubadas conforme as condições de cultivo e incubação para análise microbiológica, sendo para bactérias o meio de

ISSN: 2447-6161

cultura TSA, temperatura 37°C e período de incubação de três a cinco dias, já para fungos o meio de cultura utilizado foi o ASD, temperatura 25°C e período de incubação de cinco a sete dias. O teste foi realizado em duplicata. A contagem das colônias foi realizada apenas nas placas que apresentaram crescimento de no máximo 300 colônias no TSA e 100 colônias no ASD. Para quantificação do número de UFC/mL, a seguinte fórmula foi utilizada: M = ((P1 + P2))/2 x D Onde: N = Nº de UFC/mL; P1 = nº de colônias na placa 1; P2 = nº de colônias na placa 2; D = Diluição; utilizada nas placas onde foi observada a ausência de crescimento, a contagem foi registrada como sendo menor que uma vez a menor diluição correspondente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação botânica obtivemos por meio do levantamento bibliográfico de cada planta medicinal contida nos rótulos das garrafadas, o nome popular, nome científico, parte utilizada de cada espécie vegetal e a indicação terapêutica. G1: nome popular-unha de gato e hortelã; Nome científico = Uncaria tomentosa e Mentha; Indicação no rótulo = inflamações gerais; indicação terapêutica = anti-inflamatório e antioxidante; indicação de uso = tomar após almoço e jantar. G2: nome popular = malvarisco; Nome científico = Hibiscus sabdariffa; indicação no rótulo = regulação da pressão arterial; indicação terapêutica = antioxidante e anti-hipertensivo; indicação de uso = tomar uma colher a cada três horas. G3: nome popular = romã e cajueiro; Nome científico = Punica granatum e Anacardium occidentale; indicação no rótulo = tratamento de resfriados; indicação terapêutica = anti-inflamatório e antioxidante; indicação de uso = tomar duas colheres a cada seis horas. G4: nome popular = chanana; Nome científico = Cymbopogon citratus; indicação no rótulo = tratamento de cólica e gases; indicação terapêutica = antimicrobiana e anti-inflamatório; indicação de uso = tomar uma colher três vezes ao dia. Por meio das análises laboratoriais obtivemos os seguintes resultados: A análise do teor alcoólico trata-se de uma característica importante, especialmente porque a maioria dos raizeiros utiliza o álcool como veículo de extração dos princípios ativos das plantas medicinais. Os resultados obtidos foram: G1 = 3g/l; G2 = 3g/l; G3 = 2g/l e G4 = 4g/l. Os dados mostraram que o álcool presente nas garrafadas pode alterar parâmetros bioquímicos. A determinação do teor alcoólico é essencial para garantir a padronização e a eficácia terapêutica das garrafadas, além de fornecer informações sobre a preservação do produto. Teores alcoólicos abaixo do esperado podem indicar diluição ou adulteração, enquanto teores muito elevados podem representar riscos à saúde dos consumidores. A identificação do pH para as garrafadas medicinais, o pH ideal pode variar dependendo dos ingredientes utilizados, mas é geralmente esperado que esteja em uma faixa específica para garantir a preservação das propriedades medicinais e a segurança microbiológica do produto. Medições de pH abaixo ou acima do esperado podem indicar possíveis problemas de formulação, ou contaminação. Os resultados obtidos foram: G1 = 5,22; G2 = 5,33; G3 = 5,46 e G4 = 5,64. Sendo assim, apresentam valores aceitáveis conforme a literatura. Em relação à análise da acidez total titulável, sabemos que a acidez das garrafadas pode influenciar tanto na estabilidade quanto no seu sabor e digestão. Uma acidez excessiva pode ser indesejável e indicar problemas de conservação ou deterioração. Portanto, a avaliação da acidez é importante para garantir a qualidade sensorial e a segurança alimentar dessa bebida. Os resultados obtidos foram: G1 = 2,06%; G2 = 3,1%; G3 = 3,45% e G4 = 1,73%. Na quantificação dos polifenóis extraíveis totais os valores obtidos foram G1: 5,36 ± 0,21; G2: 4,79 ± 0,21; G3: 16,30 ± 0,51; G4: 5,31 ± 0,12. Nota-se que eles possuem uma variabilidade entre 4,79 a 16,30 mg EAG/100g. Percebe-se que a amostra G3 foi a que demonstrou uma maior quantidade de polifenóis. Salienta-se que esse aumento na quantidade de polifenóis demonstrada na amostra G3 (16,30; DP = 0,51) em comparação as demais amostras analisadas podem ser devido a fatores como a colheita, solo, clima, o horário de coleta das plantas utilizadas para a produção das garrafadas e outros meios. Além de que se trata de uma garrafada

ISSN: 2447-6161

composta por duas ervas onde ambas possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, ao contrário das demais que possuem apenas uma erva com essa característica ou nenhuma. (Abrahão et al., 2012). Ao comparar os valores das garrafadas analisadas nesse estudo com o estudo realizado por Peçanha et al. (2018) com uma série de amostras diferentes envolvendo chá-verde nota-se que as garrafadas G1, G2 e G4 possuem uma baixa quantidade de polifenóis em comparação a quantidade de polifenóis encontrados um valor de (12,98; DP = 0,16). Na determinação da Atividade Antioxidante Total os resultados obtidos foram G1: 51,33 ± 11,96; G2: 38,00 ± 3,17; G3: 181,71 ± 10,47; G4: 38,12 ± 3,36 (mg/100g). Vale ressaltar que todas as amostras analisadas apresentaram uma boa capacidade antioxidante, destacando novamente a amostra G3 (181,71 ± 10,47) que demonstrou uma maior quantidade de polifenóis, provavelmente pela composição de duas espécies vegetais com alta concentração de compostos bioativos, destacando suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Ao comparar os valores das garrafadas analisadas nesse estudo com o estudo feito com as folhas da Catingueira (Poincianella bracteosa) temos a ver uma grande diferença entre a quantidade de atividade antioxidante, encontrado o valor de (7061,57 ± 104,50) por amostra foliar. Essa discrepância já é esperada, uma vez que ela é considerada uma excelente fonte de antioxidantes naturais. Portanto, podemos considerar que as amostras G1, G2, G3 e G4 possuem uma quantidade boa de antioxidantes, mesmo que em comparação a outras plantas descritas na literatura elas estejam em valores menores. (Freire, 2020) Por fim, na análise microbiológica de um total de quatro amostras de garrafadas analisadas, três apresentaram crescimento microbiano. Desse modo, 90% das garrafadas analisadas se encontram nos limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019) para contagem de bactérias (<10 UFC/mL). Com relação à contaminação por fungos, 50% das preparações estão conforme as recomendações (<104 UFC/mL), para produtos não estéreis, segundo as exigências preconizadas pela Farmacopeia Brasileira para esse tipo de produto, como descrito a seguir. Contagem total de bactérias aeróbias: G1: 0,6 x 104 UFC/mL; G2: >10; G3: 7,55 x 105 UFC/mL; G4: 1,53 x 104UFC/mL. Contagem total de Bolores e Leveduras: G1: 1,53 x 104 UFC/Ml; G2: 1,51 x 104 UFC/Ml; G3: 5,05 x 105UFC/mL; G4: 5,30 x 105 UFC/mL.

CONCLUSÕES

Com relação aos valores do pH e acidez, são aceitáveis conforme os relatos da literatura. O teor alcoólico presente nas garrafadas pode alterar na determinação dos parâmetros bioquímicos. Os valores apresentados para polifenóis e antioxidantes das amostras G1, G2 e G4 foram abaixo dos relatados na literatura. Apenas a amostra G3 mostrou um resultado superior, quando comparado com outros estudos. Na análise microbiológica apenas uma amostra não apresentou crescimento bacteriano e as demais estão em conformidade segundo as recomendações. Com relação à contaminação por fungos, 50% das preparações estão conforme as recomendações. Embora a pesquisa apontou resultados satisfatórios, no entanto, devido à limitação de trabalhos na literatura, há necessidade de mais estudos bioquímicos que abordem sobre os compostos presentes em garrafadas medicinais na busca da comprovação e eficácia das garrafadas medicinais, em benefício da população que utiliza para promover a saúde e bem-estar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a PIBIC, CNPQ, UNILAB e UFC que foram imprescindíveis para a execução deste projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

ISSN: 2447-6161

ABRAHÃO, S. A. et al. Atividade antioxidante in vitro e in vivo de café bebida. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 47, n. 1, p.127- 133, 2012. Disponível em: https://www.scielo.br/j/pab/a/q9TCRSB4zVRm9hDP9F9KvMh/#. Acesso em: 15 set. 2023.

ALVES, C. A. B. et al. Comercialização de plantas medicinais: um estudo etnobotânico na feira livre do Município de Guarabira, Paraíba, nordeste do Brasil. Gaia Scientia, [s.l.], v. 10, n. 4, p.390-507, 2016.

BUENO, J. C. Manual de plantas medicinais e fitoterápicos utilizados na cicatrização de feridas. Pouso Alegre- Univás, 2016.

CAMARGO, M.T.L.A. A garrafada na medicina popular: uma revisão bibliográfica. Dominguezia, v.27, p.41-9, 2011.

FREIRE, Jamilson dos Santos. Perfil fitoquímico, atividade antioxidante e citogenotoxicidade da catingueira (Poincianella bracteosa (Tul.) LP Queiroz). 2020.

GRIZ, S. A. S.; MATOS-ROCHA, T. J.; SANTOS, A. F.; COSTA, J. G.;MOUSINHO, K. C. Medicinal plants profile used by the 3rd District population ofMaceió AL. Brazilian Journal of Biology, v. 77, n. 4, p. 794-802, 2017.

HOLZ, D. T.; VOGEL-ELY, C.; MÜLLER, N. T. G.; FASOLO, D. Conhecimentoempírico versus conhecimento científico e análise fotoquímica de espéciesmedicinais cultivadas por uma associação de Santo Ângelo, Rio Grande do Sul.Revista Biociências, v. 19, n. 1, p.1223, 2013.

LARRAURI, J. A. RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. J. Agric. FoodChem. v. 45, p. 209-215. 1997.

LOPES, G.F.G.; PANTOJA, S.C.S. Levantamento das espécies de plantas medicinais utilizadas pela população de Santa Cruz – Rio de Janeiro- RJ. Revista Eletrônica Novo Enfoque, v. 16, n. 16, p. 62 – 80, 2013.

MATTOS, G.; CAMARGO, A.; SOUSA, C. A.; ZENI, A. L. B. Plantas mediciaisefototerápicas na atenção primária em saúde: percepção dos profissionais. CiêncSaúde Coletiva, v.23, n.11, p.3735-3744, 2018.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER M.A.; Microbiologiamédica. 5º ed. Rio de janeiro: Elsevier, 2006.

PASSOS, M. M. B. DOS et al. A disseminação cultural das garrafadas no Brasil: um paralelo entre medicina popular e legislação sanitária. Saúde em Debate, v. 42, p. 248–262, 1 mar. 2018.

PASSOS, M.M.B.D. et al. A disseminação cultural das garrafadas no Brasil: um paralelo entre medicina popular e legislação sanitária. Saú. Deb., v.42, n. 116, p.248-262, jan./mar. 2018.

PEÇANHA, F. et al. Análise do teor de polifenóis em diferentes amostras de Camellia sinensis. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 10., 2018. Anais Do 10º Salão Internacional De Ensino, Pesquisa E Extensão – Siepe. Brasília: Universidade Federal do Pampa, 2018.

PIRES, I. F. B.; SOUSA, A. A.; LIMA, C. A.; COSTA, J. D.; FEITOSA, M. H. A.;COSTA, S. M. Plantas medicinais: cultivo e transmissão de conhecimento em comunidade cadastrada na Estratégia Saúde da Família. Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde, Vitória, v. 18, n. 4, p. 37-45, 2016.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. Comunicado Técnico 128, EMBRAPA Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, 2007.

SILVA, M. DE S. A. et al. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de Rosmarinus officinalis Linn. sobre bactérias orais planctônicas. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, p. 236–240, 1 jun. 2008.

SOARES, P. S. Comercialização de plantas medicinais: um estudo etnobotânicona feira livre no município de Guarabira, Paraíba, Nordeste do Brasil. 2016. 38 f.Trabalho de Conclusão de Curso (GraduaçãoemGeografia) – UniversidadeEstadual da Paraíba, Guarabira, 2016.

STROHECKER, R., HENNING, H.M. Analisis de vitaminas: métodos comprobados. Madrid: Paz Montalvo,

ISSN: 2447-6161

1967. 428p.

ISSN: 2447-6161