

UNA NOVEDOSA ALTERNATIVA PARA EL USO DE EFLUENTES PROVENIENTES DE LA ELABORACIÓN DE ACEITUNAS VERDES

Labuckas, Diana Ondina UNC, FCEFYN, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA), Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV-CONICET-UNC), dilabuckas@unc.edu.ar

Álvarez, Dolores María Eugenia, CITeQ, CONICET-UTN, dalvarez@frc.utn.edu.ar

Bongianino, Agustina UNC, FCEFYN, ICTA-IMBIV-CONICET-UNC, agusbongia@gmail.com

Galíndez, Marina UNC, FCEFYN, ICTA IMBIV-CONICET-UNC, mgalindez111@gmail.com

Crivello, Mónica Elsie, CITeQ, CONICET-UTN, mcrivello@frc.utn.edu.ar

Resumen— En la provincia de Córdoba existen industrias relacionadas a la obtención de aceite, ya sea de semillas de soja como de frutos de olivo. Entre los productos que se obtienen en la industria olivícola se encuentran las aceitunas verdes en conserva. Para éstas, el principal objetivo es la remoción, al menos parcial, del amargor natural del fruto, con el objetivo de tornarlo aceptable como alimento; lo que genera efluentes con elevada carga de hidróxido de sodio y pH alcalino. Esta característica es la que se pretende aprovechar para utilizar el líquido remanente (LR) así generado. Se propone, mediante la saponificación del aceite de soja (AS), transformarlo en un producto apto para la higiene doméstica. Como otros objetivos se mencionan contribuir al estudio de alternativas a fin de minimizar el impacto ambiental en la zona olivícola de Cruz del Eje y permitir la aplicación de los contenidos desarrollados en las materias de grado de estudiantes de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba. Como consecuencia de este trabajo se esperan beneficios directos en la industria y el medio ambiente. A su vez, se presenta como un potencial aporte para la economía regional.

Palabras clave— *aceitunas verdes, efluentes, jabón.*

1. Introducción

En nuestro país, las principales provincias productoras de olivo, *Olea europea* L., son Mendoza, San Juan, Catamarca, La Rioja, Córdoba, Buenos Aires y recientemente Neuquén; entre todas concentran más de 90.000 hectáreas. Se estima que el 30% de este cultivo se destina a la producción de aceitunas de mesa, el 50% a la elaboración de aceite de oliva y el 20% pertenecen a plantaciones de doble propósito [1]. En el país, el sector olivícola ha evolucionado notablemente en las últimas décadas, por lo que, en el contexto internacional, Argentina ocupa el puesto ocho en cuanto a la producción [2].

La olivicultura constituye una actividad económica de relevancia también en la provincia de Córdoba; los frutos del olivo encuentran su principal destino en la industria aceitera, sin embargo también se los utiliza como materia prima para la elaboración de aceitunas en conserva. Entre las preparaciones industriales más importantes se pueden mencionar a las aceitunas verdes aderezadas estilo español, aceitunas negras estilo californiano (negras aderezadas) y aceitunas negras naturales [3-4].

La elaboración de aceitunas en conserva implica una serie de etapas cuya finalidad es transformar el fruto amargo en un alimento, o aperitivo, de sabor aceptado por el consumidor. Para la de remoción, al menos parcial, del amargor natural del fruto existen principalmente dos sistemas: mediante tratamiento alcalino con hidróxido de sodio (para aceitunas verdes) [5] o por dilución en la salmuera o líquido en el que se sumergen los frutos (para aceitunas negras naturales) [6].

En el caso de las aceitunas verdes, los frutos verdes a verde amarillento son tratados con una solución de hidróxido de sodio (etapa conocida como quemado o cocido), que provoca un aumento en la permeabilidad de la piel, modifica la estructura celular, reduce la textura, produce la hidrólisis de la oleuropeína (responsable del sabor amargo) y disuelve una proporción considerable de azúcares y minerales [5]. Luego de este proceso, los frutos se lavan para eliminar la mayor parte del hidróxido de sodio y, finalmente se colocan en salmuera de concentración variable en cloruro de sodio.

Estos procedimientos generan gran cantidad de líquidos o efluentes [denominados residuos del sector olivícola (RSO)] con características que varían de acuerdo al proceso de elaboración. Dado que contienen componentes nocivos para el medio ambiente es que se convierten en un problema que preocupa a los países productores. El vertido incontrolado de RSO sin tratar provoca problemas ambientales tanto a nivel regional como mundial [7]. A pesar de los antecedentes favorables en relación al sector, y en consonancia con la tendencia mundial, en Argentina es poco lo que se hace con los RSO, tanto en su tratamiento como en su empleo para la creación de subproductos [8].

Los RSO provenientes del cocido de frutos, etapa necesaria para la elaboración aceitunas verdes en conserva, se caracterizan por sus elevados valores de pH y de hidróxido de sodio, propiedades que los tornaría aptos para ser utilizados en reacciones de saponificación a fin de obtener jabón.

El jabón es un artículo principalmente usado para lavar y emulsionar; químicamente es una sal orgánica que se obtiene por la reacción entre un álcali y un ácido graso, es decir que su fórmula contiene, entre otros, sodio (o potasio) y cadenas carbonadas, de 12 a 18 átomos de carbono, provenientes del ácido graso. Se los conoce como jabones duros a los que contienen sodio y blandos cuando el catión es el potasio.

La acción limpiadora del jabón se debe a las afinidades diferentes de los extremos de sus moléculas; la cadena carbonada, larga, alifática, hidrofóbica, sin carga, es la que

interactúa disolviendo la suciedad grasa, y ambas quedarán rodeadas por la región del catión, sodio o potasio, hidrofilia, con carga, que es la que se orienta hacia el exterior, formándose así una gota. Cuando la superficie de la suciedad grasa está rodeada de moléculas de jabón se forma una micela que se dispersa fácilmente en el agua. En este proceso, se dice que la grasa ha sido emulsionada por la solución de jabón. El proceso de lavado finaliza cuando la grasa es eliminada con el agua de lavado [9].

Los jabones, por un lado, son utilizados para emulsionar sustancias grasas; por otro, se los obtiene a partir de grasas o aceites mediante la reacción de saponificación, también conocida como método frío de producción de jabón, y que consiste en una hidrólisis alcalina (solución acuosa de hidróxido de sodio o de potasio) de los triglicéridos (constituyentes principales de los aceites vegetales y de las grasas animales) para producir sales, de sodio o potasio, de los ácidos grasos libres hidrolizados, y glicerol.

Históricamente, la producción de jabón ha sido un método de reutilización y aprovechamiento de grasas animales y sebo. En la actualidad, los jabones más utilizados son los de producción industrial. Sin embargo, en regiones de bajos recursos existen familias y comunidades que producen su propio jabón de manera artesanal. De hecho, existen movimientos para promover a pequeños productores de jabón y a su vez garantizar la obtención de jabones ecológicos de buena calidad (considerados más saludables para la piel, así como menos nocivos para el medio ambiente en cuanto a su manufactura) [10].

En cuanto a los métodos de fabricación de jabón, existen, fundamentalmente, el continuo y el discontinuo. El continuo fue desarrollado en la década de 1940 para optimizar el proceso de producción, y es el empleado por las industrias en la actualidad.

El método continuo se inicia con la separación entre la grasa, los ácidos grasos y glicerina, en una columna vertical de acero inoxidable, a lo largo de la cual se encuentran bombas y medidores para el control total del proceso. La grasa fundida es bombeada en un extremo de la columna mientras, que desde el otro extremo, se introduce agua a alta temperatura y presión. Esto causa la hidrólisis de la grasa, y así los ácidos grasos y glicerina son bombeados continuamente mientras ingresa más agua. Los ácidos grasos luego son destilados para su posterior purificación; y se los mezcla con el álcali (también se pueden añadir aditivos y excipientes) para que ocurra la reacción de saponificación. El jabón formado se bate en caliente para favorecer la incorporación de aire; luego se vierte en moldes y se deja enfriar (o se puede refrigerar) para formar los panes que se cortarán en piezas de tamaño apropiado y luego serán estampadas y envasadas.

En el método discontinuo: la grasa y el álcali seleccionados y colocados en un tanque de acero inoxidable, cuya escala depende de la cantidad de jabón que se desea producir, se hierven por acción de serpentines calefaccionados con vapor de agua. Luego del hervor, la masa se espesa por la reacción y se obtienen jabón y glicerina. Luego, se procede a separarlos, para lo cual la mezcla es tratada con sal, causando que el jabón migre hacia la superficie, y la glicerina pueda ser extraída a través de válvulas dispuestas en el fondo del tanque. Nuevamente se agrega una solución cáustica para que la grasa que no haya reaccionado sea sometida a la saponificación. La masa se hierve, mientras que la grasa remanente se saponifica. En esta etapa se puede o no realizar un nuevo salado. Luego se vuelve a hervir el jabón y se agrega agua, causando la separación del contenido del tanque en dos capas. La capa superior contiene aproximadamente un 70% de jabón y un

30% de agua. La inferior contiene la mayor parte de las impurezas del jabón, y una gran cantidad de agua. Por ello, se separa la capa superior y luego se enfría [11].

Teniendo en cuenta que en la provincia de Córdoba se elaboran aceitunas verdes en conserva, proceso que genera líquidos alcalinos; y que también se cultiva soja; es que se propone buscarles usos alternativos y por ello, estudiantes del último año de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba (FCEFYN-UNC), mediante un proyecto de investigación en el que participan estudiantes, docentes e investigadores de la Universidad Tecnológica Nacional-Regional Córdoba, de la FCEFYN-UNC y la empresa Cuenca del Sol (Córdoba), se abocaron a la tarea de encontrar una respuesta mediante la saponificación del líquido remanente, del proceso de elaboración de aceitunas verdes, con aceite de soja, procedente de granos de plantas cultivadas en la provincia de Córdoba.

2. Materiales y Métodos

Material vegetal: el líquido remanente (LR) de la industria olivícola provino de la empresa Cuenca del Sol (Córdoba); los granos de soja (GS) de la campaña 2017-2018 fueron provistos por la empresa Diez S.R.L (Córdoba).

También, con fines comparativos, se trabajó con solución alcalina (LAC) preparada por simple solución de NaOH en agua destilada, con aceite de soja comercial (ASC) y con jabones comerciales (presentaciones sólidas y líquidas), todos estos productos adquiridos en comercios de la zona.

En la tabla 1 se presentan las combinaciones realizadas para la obtención de los Productos de reacción (esquema de trabajo):

Análisis realizados:

Porcentaje de hidróxido de sodio (% NaOH): el líquido remanente (LR) se tituló con solución de ácido clorhídrico (HCl, 0,5N) (método volumétrico 2320-B [12]).

pH: por potenciometría mediante la utilización de un peachímetro (Hanna HI8424) y soluciones amortiguadoras para su calibración.

Contenido de humedad: los granos de soja, previamente molidos, se colocaron en crisoles y se llevaron a estufa (105°C, por 24 h), el contenido de humedad se obtuvo por diferencia de peso (pre y posttratamiento en estufa), los valores se expresan como porcentaje (g/100g).

Contenido de aceite: los granos de soja, previamente molidos, se colocaron en un extractor sólido-líquido, equipo Soxhlet (n-hexano, 12 h) y el contenido de aceite se obtuvo por diferencia de peso (pre y post tratamiento), los valores se expresan como porcentaje, sobre base seca (g/100g, sbs).

Saponificación: para la obtención de los Productos de reacción se procedió a la saponificación, según se detalla a continuación:

Para la obtención del P1: se utilizaron 7,81mL de líquido alcalino comercial (LAC) preparado con NaOH al 32%P/V, luego se agregaron 10mL de etanol (96°); 5 g de aceite de soja comercial (ASC) y se llevó a baño de agua, termostatizado (84°C).

Una novedosa alternativa para el uso de efluentes provenientes de la elaboración de aceitunas verdes

Para el P2: 7,81mL de líquido alcalino comercial (LAC) preparado con NaOH al 32% P/V, luego se agregaron 10 mL de etanol (96°); 5 g de aceite de grano de soja (AGS) y se llevó a baño de agua, termostatzado (84°C).

Para el P3: 1 mL de aceite de aceite de grano de soja (AGS) y 5 mL de LR, luego se llevó a baño de agua, termostatzado (84°C).

Par el P4: 1mL de aceite de grano de soja (ASC) y 5mL de Líquido remanente (LR), luego se llevó a baño de agua, termostatzado (84°C).

Índice de saponificación (IS): a la muestra se le añadió 1 mL de solución indicadora de fenolftaleína con la que se tituló, en caliente, el exceso de hidróxido de sodio (NaOH) con la solución 0,5 N de ácido clorhídrico (HCl) hasta que se alcanzó el punto de equilibrio y desapareció la coloración rosada. Simultáneamente, y para cada determinación, se realizó un ensayo en blanco con todos los reactivos. El índice de saponificación se calculó mediante la Ecuación 1:

$$IS = 56,1 (1 - V2) N/m \quad (1)$$

Donde: i = índice de saponificación del producto, en mg/g. V2 = volumen de solución de ácido clorhídrico empleado en la titulación de la muestra, en mL. V1 = volumen de solución de ácido clorhídrico utilizado en la titulación del ensayo en blanco, en mL. N = normalización de la solución de ácido clorhídrico. m = masa de la muestra analizada, en gramos.

Densidad (m/V): mediante una balanza analítica, se obtuvo el valor correspondiente a la masa de 1mL de muestra.

Nivel de espuma: Se pesó un gramo de muestra, y se disolvió en 200 mL de agua destilada caliente se completó el volumen a 1000 mL con agua destilada fría. Se transfirieron 50 mL de la solución a un beacker de 250 mL, el cual se tapó y fue agitado 50 veces de manera enérgica y rápida, posteriormente se dejó reposar por 1 minuto y se anotó el volumen de agua en la parte superior; luego se restó el volumen total (agua + espuma) al volumen de agua hasta la interface. Las lecturas se repitieron a los 2, 5 y 15 minutos. El volumen de espuma se determinó utilizando la Ecuación 2:

$$V = V1 - V2 \quad (2)$$

Donde: V = volumen de la espuma, en mL V1 = volumen total (agua + espuma). V2 = volumen de agua en la interfase.

Valor de pH en el Producto de reacción: previo a las lecturas, se realizó la calibración del electrodo, así como también la dilución de las muestras (producto de reacción: agua destilada, 1:100, V/V). Se retiró una alícuota de muestra diluida.

Análisis estadístico: las determinaciones analíticas fueron promedios de mediciones realizadas por duplicado de muestras independientes para cada tratamiento. Las diferencias estadísticas se estimaron mediante el test ANOVA y el nivel de confianza fue del 95% ($p \leq 0,05$) para todos los parámetros evaluados. Cuando el ANOVA indicó diferencias significativas se realizó la comparación de las medias entre pares mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) y, en tablas, se expresan con letras distintas. Todos los análisis se realizaron con el programa InfoStat (versión 2013)

desarrollado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba [13].

3. Resultados y Discusión

En la Tabla 2 se presentan las características de las muestras (Líquido remanente y Granos de soja) según los resultados obtenidos en los respectivos análisis.

El cuanto al LR, proviene del lavado de frutos que se encuentran, dentro del tanque, en la etapa del proceso correspondiente al cocido, o quemado, y cuya finalidad es la destrucción, parcial o total, del principio amargo oleuropeína.

El valor encontrado para NaOH se corresponde con la etapa del proceso de la cual proviene. Por otra parte, se lo considera apropiado para ser utilizado como reactivo en la reacción de saponificación del aceite de soja. El elevado valor de pH, encontrado en el análisis de la muestra líquida correspondiente a esta etapa, es consecuencia del proceso de cocido que favorece la solubilidad de los compuestos polifenólicos en la solución alcalina que se utilizó con ese fin.

Estos resultados indican que el LR, líquido del lavado de la etapa de cocido, debe ser tratado a fin de disminuir los valores, ya que supera el permitido por la normativa vigente [14], y contribuir a minimizar el impacto ambiental al ser vertido en una red cloacal.

Respecto a los Granos de soja, los valores encontrados para los contenidos de Humedad y de Aceite son acordes a los que se encuentran en la base de datos del United States Department of Agriculture [15]. En cuanto al contenido de aceite se lo considera apropiado como reactivo para ser utilizado con el LR en la reacción de saponificación a fin de producir jabón.

En la Tabla 3 se presentan las características de los Productos de reacción y se las compara con las obtenidas de muestras comerciales (Jabones sólido y líquido); se puede observar un amplio rango en los valores para todas las determinaciones.

En cuanto a los Productos de reacción, presentan características comunes a los de las muestras comerciales. Los Productos de reacción (P1 y P2) que se obtuvieron a partir de solución alcalina comercial, tuvieron resultados que dependieron del aceite utilizado; con AGS hizo más ($p < 0,05$) espuma y presentó menor ($p < 0,05$) Índice de saponificación que con ASC; respecto al pH, ambos superaron las 12 unidades y no la diferencia no fue significativa.

Los Productos de reacción (P3 y P4) en los que participó el LR tuvieron resultados que dependieron del aceite utilizado, a saber: cuando el aceite se obtuvo de grano de soja (AGS) no se formó jabón; en tanto que con el comercial (ASC) se obtuvo jabón con pH alcalino y que produjo bajo nivel de espuma.

Estos resultados preliminares indican que es posible utilizar tanto el LR como el aceite obtenido a partir de granos de soja, sin embargo para lograr las condiciones óptimas se hace necesario ajustar variables relacionadas a la reacción de saponificación, entre ellas el tiempo de reacción y la proporción de solución alcalina y de aceite.

Tabla 1. Combinaciones realizadas con las muestras y sus Productos de reacción (P): Esquema de trabajo

Muestra	P1	P2	P3	P4
LR (Líquido remanente)	NC	NC	X	X
LAC (Solución alcalina comercial)	X	X	NC	NC
AGS (Aceite de granos de soja)	NC	X	X	NC
ASC (Aceite de soja comercial)	X	NC	NC	X

Referencias: NC (no corresponde)

Fuente: elaboración propia.

Tabla 2. Características de las muestras utilizadas (Líquido remanente y Granos de soja).

Parámetro	Líquido remanente	Granos de soja
pH	11,81	NC
NaOH (%)	0,56	NC
Humedad (%)	NC	10,5 ± 0,2
Aceite (%)	NC	17,5 ± 0,9

Referencias: NC (no corresponde)

Fuente: elaboración propia.

Tabla 3. Características de los Productos de reacción (P) y de muestras comerciales.

Muestra	pH	Índice de Saponificación	Densidad (g/mL)	Nivel de Espuma (cm ³)
P1 (LAC + ASC)	12,23 ^D	6,55 ^E	0,98 ^B	3 ^B
P2 (LAC + AGS)	12,05 ^D	9,82 ^D	0,97 ^D	5,23 ^C
P3 (LR + AGS)	sd	sd	sd	sd
P4 (LR + ASC)	10,08 ^B	0,40 ^B	0,97 ^B	0,5 ^A
Jabón Líquido Comercial	5,66 ^A	NC	0,95 ^A	12,35 ^D
Jabón Sólido Comercial	11,08 ^C	3,50 ^C	0,92 ^A	3,75 ^B

Fuente: elaboración propia.

4. Conclusiones y recomendaciones

El presente trabajo permitió la aplicación de los contenidos desarrollados en las materias de grado de estudiantes de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba; la interacción con estudiantes, docentes e investigadores de la Universidad Tecnológica Nacional-Regional Córdoba relacionados mediante un proyecto de investigación en el que participa la empresa Cuenca del Sol S.A. (Córdoba) que posibilitó el desarrollo de las actividades necesarias para determinar las características del líquido remanente de la industria olivícola; así

como también, estudiar una alternativa que pretende minimizar el impacto ambiental en la zona olivícola de Cruz del Eje.

Según los resultados encontrados se puede decir que el líquido remanente posee las características propias de este tipo de muestras provenientes del proceso de elaboración de aceitunas verdes, es decir que es alcalino y con elevado valor de pH; el contenido de aceite de los granos de soja se encuentra dentro de los valores informados en bibliografía; estas muestras son aptas para someterlas a reacciones de saponificación, para ello se recomienda ajustar las variables relacionadas a la reacción de saponificación a fin de lograr los valores óptimos de producto; si bien en este trabajo preliminar no se obtuvieron los valores óptimo se considera que la elaboración de jabón presenta una novedosa alternativa para disminuir la contaminación ambiental; generar beneficios directos en las industrias relacionadas; como así también contribuir al desarrollo de la economía regional.

5. Referencias

- [1] NIMO M.; GARCIARENA I. (2017). I reunión Comisión Regional cuyo 2017. Ministerio de Agroindustria, Presidencia de la Nación Argentina. http://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/ss_alimentos_y_bebidas/
- [2] CONSEJO OLEÍCOLA INTERNACIONAL (COI). (2017). Boletín del Mercado. http://www.internationaloliveoil.org/news/view/697-year-2017-news/837-market-newsletter-may-2017?lang=es_ES
- [3] FERNÁNDEZ DÍEZ, M.J.; DE CASTRO Y RAMOS, R.; GARRIDO FERNÁNDEZ, A.; GONZÁLEZ CANCHO, F.; GONZÁLEZ PELLISÓ, F.; NOSTI VEGA, M. (1985). *Biotecnología de las aceitunas de mesa. Instituto de la Grasa y sus Derivados*. Ed. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, España.
- [4] ÁLVAREZ, D.M.; LÓPEZ, A.G.; LAMARQUE, A.L. (2014). Falta. *Journal of food Processing and Preservation*. 38:106–115.
- [5] GARRIDO FERNÁNDEZ, A.; GARCÍA GARCÍA, P.; LÓPEZ LÓPEZ, A.; ARROYO LÓPEZ, F.N. (2002). Tecnología de la elaboración de aceitunas de mesa y aceite de oliva. In: *Enciclopedia del Olivo del TDC-OLIVE*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas. P. 1-26.
- [6] CHAMMEM, N.; KACHOURI, M.; MEJRI, M.; PERES, C.; BOUDABOUS, A.; HAMDI, M. (2005). Combined effect of alkali pretreatment and sodium chloride addition on the olive fermentation process. *Bioresource Technology*. 96:1311-1316
- [7] MEHMET Ş.; ANIL Y. (2016). Cero vertidos: uso de los residuos del sector olivícola como energía limpia. *Olivae*. 123:37-42.
- [8] SÁNCHEZ, P.; DE ANGELIS, J. (2013). *Análisis de Diagnóstico Tecnológico Sectorial Olivarero*. Ministro de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Presidencia de la Nación Argentina. <http://www.mincyt.gob.ar/adjuntos/archivos/000/043/0000043771.pdf>
- [9] REGLA, I., VÁZQUEZ VELEZ, E., CUERVO AMAYA, D.H., NERI, A.C. (2014). La Química del Jabón y Algunas Aplicaciones. *Revista Digital Universitaria*. 15: 1-10.

- [10] FÉLIX, S.; ARAÚJO, J.; PIRES, A.M.; SOUSA, A.C. (2017). Soap production: A green prospective. *Waste Management*. 66: 190-195.
- [11] MADEHOW (2018). How soap is made - material, manufacture, making, uses, processing, components, procedure, steps.
<http://www.madehow.com/Volume-2/Soap.html#ixzz5J6WHDPh1>.
- [12] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS-AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. Ed. Horwithz, Washington, D.C., USA
- [13] DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. (2013) InfoStat version 2013. *Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba*. Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- [14] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS-AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. Ed. Horwithz, Washington, D.C., USA
- [15] U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE. 2008. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21. Nutrient Data Laboratory Home Page, /ba/bhnrc/ndl