**DISPONIBILIDADE DE FERRO NA PRESENÇA DO β -CAROTENO E
O EFEITO DOS INTERFERENTES EM COMBINAÇÕES DE
ALIMENTOS**

ROMILDA MARIA DE ARRUDA GERMANO

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências,
Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo – Brasil

Março – 2002

**DISPONIBILIDADE DE FERRO NA PRESENÇA DO β -CAROTENO E
O EFEITO DOS INTERFERENTES EM COMBINAÇÕES DE
ALIMENTOS**

ROMILDA MARIA DE ARRUDA GERMANO

Engenheiro Agrônomo

Orientadora: Prof^a. Dr^a. **SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São
Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências,
Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo – Brasil

Março – 2002

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Germano, Romilda Maria de Arruda

Disponibilidade de ferro na presença do β -caroteno e o efeito dos
interferentes em combinações de alimentos / Romilda Maria de Arruda Germano. -
- Piracicaba, 2002.
95 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,
2002.
Bibliografia.

1. Composição de alimento 2. Desnutrição 3. Ferro (Deficiência) 4. Nutrição
humana 5. Vitamina A (Deficiência) I. Título

CDD 612.3

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

À minha mãe, Dirce

Ao meu irmão, Rodrigo

Pela família que somos,

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, pela minha formação, ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, pela acolhida, aos professores, pela amizade e aos funcionários, pelo carinho.

À Prof^a. Dr^a. Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela oportunidade, pelo incentivo e pela orientação na realização desta pesquisa.

À Técnica Maria de Lourdes Perin Storer, pela cumplicidade e pela grande colaboração nas análises laboratoriais.

Ao Corpo Técnico do Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, pela contribuição nas análises de minerais.

Às Secretárias Raquel Iracema da Silva e Regina Lúcia de Mello Lourenço, pelos momentos partilhados e pela compreensão.

À minha ilustre Banca de Qualificação: Prof^a. Dr^a. Marília Oetterer, Prof^a. Dr^a. Marina Vieira da Silva e Prof^a. Dr^a. Marta Helena Fillet Spoto, pelo entusiasmo, pelas orientações e sugestões, e pelo apoio dentro e fora do Mestrado.

Ao Prof. Dr. Jorge Horii, pela atenção e simpatia.

Ao Prof. Dr. Marcelo Corrêa Alves, pelo auxílio na área de informática.

Ao Prof. Dr. Décio Barbin, pela colaboração nas análises estatísticas.

A todas as Bibliotecárias, pela parceria nas correções das referências bibliográficas.

À CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo suporte financeiro.

À minha família, pelo estímulo, pela paciência e pela presença constante.

Aos meus colegas da pós-graduação, pelo companheirismo.

Enfim, a todos que eu não tenha mencionado e que estiveram presentes nesta caminhada, o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE QUADROS	x
LISTA DE TABELAS	xi
RESUMO	xii
SUMMARY	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Deficiências nutricionais	3
2.2 Importância do ferro na nutrição humana	5
2.2.1 Função biológica	5
2.2.2 Formas	7
2.2.3 Absorção e metabolismo	8
2.2.4 Fatores que afetam a absorção.....	13
2.2.4.1 Promotores da absorção.....	13
2.2.4.2 Inibidores da absorção.....	14
2.2.5 Biodisponibilidade.....	17
2.2.6 Recomendações nutricionais	22
2.2.7 Deficiência.....	23
2.3 Importância da vitamina A na nutrição humana.....	25
2.3.1 Função biológica	25
2.3.2 β -caroteno.....	27
2.3.3 Absorção, transporte e armazenamento.....	28

2.3.4 Biodisponibilidade de vitamina A.....	29
2.3.5 Medidas	31
2.3.6 Recomendações nutricionais	32
2.3.7 Toxicidade	34
2.3.8 Deficiência.....	34
2.4 Interações dietéticas.....	37
2.5 O efeito da cocção	40
2.6 Composição dos alimentos.....	42
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.1 Matéria-prima	44
3.2 Preparo das amostras	44
3.2.1 Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	44
3.2.2 Espinafre (<i>Spinacia oleracea</i> L.).....	45
3.2.3 Ovo	45
3.2.4 Cenoura (<i>Daucus carota</i> L.).....	45
3.2.5 Couve (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> L.).....	45
3.2.6 Abóbora (<i>Cucurbita moschata</i> var <i>Baianinha</i> L.).....	45
3.3 Misturas	46
3.4 Composição centesimal.....	46
3.5 Fatores antinutricionais	47
3.5.1 Ácido oxálico.....	47
3.5.2 Taninos.....	48
3.5.3 Ácido fítico.....	48
3.6 Minerais.....	48
3.7 β -caroteno.....	49
3.8 Diálise de ferro “ <i>in vitro</i> ”	49
3.9 Análise estatística	50
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1 Composição centesimal.....	51
4.2 Fatores antinutricionais	58

4.3 Minerais	62
4.4 β -caroteno.....	67
4.5 Diálise de ferro “ <i>in vitro</i> ”	68
5 CONCLUSÕES	72
ANEXOS.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Teor de umidade (g/100g), em base úmida.....	51
2 Teor de extrato etéreo (g/100g), em base úmida	53
3 Teor da fração cinza (g/100g), em base úmida.....	54
4 Teor de proteína (g/100g), em base úmida.....	55
5 Teor de fibra (g/100g), em base úmida	57
6 Teor de carboidrato (g/100g), em base úmida.....	58
7 Teor de ácido oxálico (%), em base úmida	59
8 Quantidade de taninos (% mEqcatequina), em base úmida	60
9 Conteúdo de ácido fítico (mg/g), em base úmida.....	61
10 Teor de β -caroteno (mg/100g), em base úmida	67
11 Porcentagem da diálise de ferro “ <i>in vitro</i> ” (%), em base úmida.....	68
12 Disponibilidade do ferro e sua biodisponibilidade “relativa”	70

LISTA DE QUADROS

	Página
1 Fatores que afetam a biodisponibilidade do ferro	20
2 Interações dietéticas que alteram a biodisponibilidade do ferro	21
3 Interações dietéticas que alteram a biodisponibilidade de vitamina A.....	30
4 Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), em base úmida (g/Kg)	63
5 Teores de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn), em base úmida (mg/Kg)	65

LISTA DE TABELAS

Página

- 1 Recomendação de ferro (mg/dia), em diferentes níveis de absorção (%) de ferro
 não heme da dieta, adaptada à população brasileira..... 23
- 2 Recomendações nutricionais de vitamina A em equivalentes de retinol..... 33

DISPONIBILIDADE DE FERRO NA PRESENÇA DO β -CAROTENO E O EFEITO DOS INTERFERENTES EM COMBINAÇÕES DE ALIMENTOS

Autora: ROMILDA MARIA DE ARRUDA GERMANO

Orientadora: Prof^a SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA

RESUMO

No mundo as deficiências de ferro e de vitamina A atingem números alarmantes, afetando tanto a população com nível sócio-econômico mais baixo quanto aqueles mais favorecidos. O presente trabalho teve por objetivos avaliar a disponibilidade de ferro na presença do β -caroteno em combinações de alimentos fontes de ferro (espinafre, feijão e ovo) e de β -caroteno (cenoura, abóbora e couve), de custo relativamente baixo, as quais originaram nove misturas, assim denominadas: M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora e M9= feijão e couve. As misturas, após cocção foram analisadas quanto à composição centesimal, teor de ácido oxálico, ácido fítico, taninos, minerais, diálise de ferro “*in vitro*” e determinação do teor de β -caroteno. Os dados foram analisados estatisticamente (Tukey 5%), pelo programa SAS. As misturas M1, M4 e M6 apresentaram o menor teor de fibra, com 1,32, 1,35 e 1,54 g/100g e os maiores resultados para proteína, 6,80, 7,13 e 6,59 g/100g respectivamente, como também para extrato etéreo 4,77, 4,79 e 5,73 g/100g. O teor de ácido oxálico variou de 0,14 a 0,27%, sendo que as misturas com espinafre apresentaram os maiores resultados; o teor de ácido fítico variou de 0,00 a 1,03 mg/g, sendo que as

maiores concentrações predominaram nas amostras com feijão; o teor de taninos variou de 0,01 a 0,14 apresentando maiores teores, nas misturas com espinafre. O β -caroteno apresentou teores variando de 4,62 a 26,10 mg/100g. Quanto aos minerais observou-se variações de 0,19 a 1,00 g/Kg para fósforo; 0,82 a 1,37 g/Kg para potássio; 0,17 a 0,92 g/Kg para cálcio; 0,03 a 0,18 g/Kg para magnésio; 0,19 a 0,93g/Kg para enxofre; 0,00 a 0,65 mg/Kg para o cobre; 6,87 a 14,99 mg/Kg para o ferro; 0,00 a 13,08 mg/Kg para manganês e 2,88 a 7,16 mg/Kg para o zinco. A diálise de ferro apresentou variações de 3,39 a 31,11% , sendo que o melhor resultado apresentou-se na M6. Pode-se concluir que a fibra atuou como fator limitante na absorção do ferro. E, misturas com ovo, principalmente a M6, aumentaram a disponibilidade do ferro, sendo que, a proteína e o extrato etéreo atuaram de forma mais significativa no aumento da absorção, quando comparados ao β -caroteno.

IRON AVAILABILITY IN THE PRESENCE OF β -CAROTENE AND THE EFFECT OF INTERFERENTS IN FOOD MIXTURES

Author: ROMILDA MARIA DE ARRUDA GERMANO

Adviser: Prof^a SOLANGE GUIDOLIN CANNIATTI BRAZACA

SUMMARY

In the world, iron deficiency and vitamin A deficiency reach alarming numbers, affecting population with level economic-social lower as well as people in better positions. This research aims to estimate the iron availability in the presence of β -carotene in food mixtures iron's sources (spinach, bean and egg) and β -carotene's sources (carrot, pumpkin and cabbage), with low prices, that have resulted nine mixtures, denominated: M1= egg and pumpkin; M2= spinach and pumpkin; M3= spinach and cabbage; M4= egg and cabbage; M5= spinach and carrot; M6= egg and carrot; M7= bean and carrot; M8= bean and pumpkin and M9= bean and cabbage. In this food mixtures, after cooking, were studied proximate composition, levels of oxalic acid, phytic acid, tannin, minerals, in vitro dialyzability of iron and levels of β -carotene. The statistical analysis was determinate (Tukey 5%) by SAS System. The food mixtures M1, M4, M6 showed low levels of dietetic fiber, 1,32, 1,35, 1,54 g/100g and the bigger results to protein 6,80, 7,13, 6,59 g/100g and to crude fat 4,77, 4,79, 5,73 g/100g, respectively. The oxalic acid ranges to 0,14 from 0,27%, with bigger results in food mixtures with spinach; phytic acid ranges to 0,00 from 1,03 mg/g, with high levels in bean's samples; the tannin ranges to 0,01 from 0,14 with high levels in spinach's

samples. β -carotene showed levels ranges to 4,62 from 26,10 mg/100g. With regard to minerals, it's ranges to 0,19 from 1,00 g/Kg in phosphorus; to 0,82 from 1,37 g/Kg in potassium; to 0,17 from 0,92 g/Kg in calcium; to 0,03 from 0,18 g/Kg in magnesium; to 0,19 from 0,93g/Kg in sulfur; to 0,00 from 0,65 mg/Kg in copper; to 6,87 from 14,99 mg/Kg in iron; 0,00 a 13,08 mg/Kg in manganese and to 2,88 from 7,16 mg/Kg in zinc. In vitro dialyzability of iron ranges to 3,39 from 31,11%, and the best result was M6. It's concluded that dietetic fiber was an inhibitor in the iron's absorption. And, food mixtures with egg, mainly M6 (egg and carrot), increased iron availability and that crude protein and crude fat were more significant in absorption's increase than β -carotene.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas ocorreram alterações sócio-econômicas, demográficas e epidemiológicas que determinaram importantes modificações no perfil da morbi-mortalidade e no estado nutricional da população brasileira (Silva, 1999).

Especificamente com relação ao padrão nutricional, pela primeira vez na história, o número de pessoas com excesso de peso equivale ao número das abaixo do peso, ambas estimadas em 1,1 bilhão. Deve-se considerar que estas alterações da composição corporal têm sido realidade mesmo em países pobres, onde o baixo peso ainda é considerado um problema mais agudo, tornando a alimentação em excesso a forma de má nutrição com crescimento mais rápido (Gardner & Halweil, 2000).

As crianças são as mais vulneráveis aos efeitos da subalimentação. No início da década de 90, cerca de 200 milhões de crianças com idade inferior a cinco anos, em países em desenvolvimento, eram raquíticas e 180 milhões tinham peso abaixo do normal. Mesmo no útero da mãe, a má nutrição pode debilitar completamente o desenvolvimento da criança. Por exemplo, a falta de vitamina A provoca a morte prematura e é a principal responsável pela cegueira infantil. A deficiência de ferro provoca anemia sendo a principal causa da mortalidade materna, e para criança, a falta desse nutriente impede a aprendizagem e induz a letargia (FAO, 1996).

Projeções feitas pelas Nações Unidas mostram que por volta do ano de 2025, um bilhão de pessoas, de uma população mundial estimada em oito bilhões, podem sofrer de desnutrição. Enquanto em termos relativos tem havido algum progresso nos últimos 40 anos, em termos absolutos o número de desnutridos tem diminuído muito pouco. A situação é particularmente preocupante na África, onde o crescimento populacional excede a capacidade de produção de alimentos. Nos países em desenvolvimento, 70% das pessoas pobres vivem no meio rural, e os problemas de segurança alimentar estão

relacionados mais com produção e preço de alimentos. Na área urbana é o poder de compra dos indivíduos o fator principal da carência nutricional (Azevedo et al., 2001).

Sabe-se que a análise da desnutrição enfatizando somente a ingestão inadequada de alimentos é bastante simplista diante dos diversos fatores sócio-econômicos e culturais envolvidos no processo. A falta de saneamento básico adequado no domicílio, o analfabetismo, o nível baixo de escolaridade dos pais, o tempo disponível para a amamentação e para cuidados com as crianças e a falta de renda são fatores extremamente importantes na determinação do estado nutricional das crianças.

Pesquisas têm demonstrado a importância de uma população bem nutrida, através dos efeitos irrecuperáveis que a má nutrição em uma fase inicial da vida pode causar. As conseqüências da desnutrição são: redução do desenvolvimento cognitivo, da inteligência, da coordenação motora, e outros. Além da tragédia humana que isso significa, a redução do desenvolvimento físico e mental pode causar grandes perdas à sociedade através da redução dos retornos aos investimentos em capital humano que ocorrerão na fase adulta do indivíduo (Nutrição..., 2000).

Portanto a importância de uma alimentação diversificada na manutenção do estado de saúde do indivíduo durante toda a sua vida é amplamente aceita e reconhecida (Bouis, 1996; Slobodianik, 1995).

No Brasil, a anemia por deficiência de ferro (anemia ferropriva) é o problema nutricional de maior magnitude no país, sobretudo em crianças menores de dois anos e gestantes, atingindo cerca de 50% e 35% desses dois grupos populacionais, respectivamente. Já a deficiência de vitamina A é problema endêmico em grandes áreas das regiões Nordeste, Norte e bolsões de pobreza da região Sudeste (Brasil, 2002).

Devido à importância do ferro e da vitamina A na nutrição humana e da alta prevalência de suas deficiências, esta pesquisa teve por objetivos quantificar a composição centesimal, os teores de ácido oxálico, ácido fítico, taninos e minerais, bem como o teor de β -caroteno e diálise de ferro. E, avaliar a disponibilidade do ferro na presença dos diversos nutrientes quantificados em combinações de alimentos (cenoura, abóbora, couve, espinafre, feijão e ovo).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Deficiências nutricionais

Perto de dois bilhões de pessoas, ou seja, 1/3 da população mundial, apresentam, atualmente, deficiência de ferro e a incidência está aumentando globalmente. A deficiência de ferro resulta em aumento nas taxas de mortalidade e morbidade, diminui a produtividade no trabalho e prejudica o desenvolvimento mental, que reduz a capacidade da pessoa para viver uma vida saudável e produtiva (Welch et al., 2000). Em adição, outro um bilhão de pessoas têm estoque subnormal de ferro, ou seja, possuem deficiência de ferro, sem, porém, serem consideradas clinicamente anêmicas (Fundação Dalmo Giaconetti / EMBRAPA / UNICEF, 1997).

A anemia é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue está abaixo do normal como resultado da carência de um ou mais nutrientes essenciais, seja qual for a causa dessa deficiência. As anemias podem ser causadas por deficiência de vários nutrientes como, por exemplo, ferro, zinco, vitamina B₁₂ e proteínas. Porém a anemia causada por deficiência de ferro, denominada anemia ferropriva, é muito mais comum que as demais (estima-se que 90% das anemias sejam causadas por carência de ferro) e afeta grande parcela da população mundial de praticamente todos os estratos sociais, dos mais privilegiados aos mais carentes, especialmente o grupo materno-infantil: lactentes, pré-escolares, escolares, gestantes e nutrízes, embora homens –adolescentes e adultos- e os idosos também possam ser afetados por ela (Brasil, 2002).

Dados do Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN) mostram que, no Brasil, a prevalência de anemia ferropriva é da ordem de 40%, afetando principalmente crianças, adolescentes e mulheres grávidas (Brasil, 1986).

A prevalência da anemia tem sido estudada no mundo inteiro nos últimos 25 anos. Informações significativas de 31 países da África, 25 da América Latina, 23 da Ásia, 16 da Europa e 4 da Oceania, assim como da América do Norte, mostram que as crianças e as mulheres aparecem como os grupos que são mais vulneráveis e, portanto, são também os que têm sido mais estudados (FAO, 1991).

Recentemente considera-se a ocorrência de anemias nutricionais como um problema de importância epidemiológica relevante. A anemia ferropriva é, atualmente, a patologia de maior prevalência em todo o mundo, principalmente em países em desenvolvimento.

Pesquisas relataram que a porcentagem de indivíduos anêmicos por deficiência de ferro em países em desenvolvimento é de 26%; maior do que a observada na Europa (10,9%) e nos Estados Unidos (8%) (Guzmán-Maldonado et al., 2000). Sendo que, nos Estados Unidos 7,8 milhões de mulheres e 700.000 crianças possuem deficiência de ferro, e, deste total, 3,3 milhões de mulheres e 240.000 crianças têm anemia por deficiência de ferro na dieta (Sandstead, 2000).

Outra carência nutricional de grande importância em nível de saúde pública é a hipovitaminose A. Calcula-se que atinge cerca de 254 milhões de crianças em todo o mundo; além de gestantes e puérperas, grupos reconhecidamente de risco para essa carência. O Brasil está incluído entre os países, onde a hipovitaminose A é considerada como grave (Saunders et al., 2000).

Essa deficiência é a principal causa de cegueira evitável no mundo, estando também associada a 23% das mortes por diarreias, em crianças, além de contribuir para o aumento das doenças infecciosas. Estudos promovidos pelo UNICEF, em 1980, indicaram que cerca de 25% dos sobreviventes à xeroftalmia grave perderam completamente a visão e que sinais clínicos estão quase sempre acompanhados de manifestações de deficiência energético-protéica. Nos dois casos, as infecções desempenharam papel relevante. No Brasil, a deficiência de vitamina A é um problema endêmico em grandes áreas das regiões Norte, Nordeste e Sudeste (Brasil, 2002).

Quanto à magnitude do problema, as estimativas mundiais indicam que 5 a 6 milhões de crianças apresentam manifestações visíveis (clínicas, fisiológicas ou

funcionais) de deficiência de vitamina A. Ainda, calcula-se que um número 5 a 10 vezes maior têm reservas orgânicas inadequadas, que caracterizam as deficiências marginais. Estima-se que 1,5 a 2,5 milhões de mortes poderiam ser evitadas a cada ano, neste grupo etário, com base em estudos de mortalidade ou morbidade (Flores et al., 1996).

2.2 Importância do ferro na nutrição humana

2.2.1 Função biológica

Boussingault, em 1860, foi o primeiro a admitir o ferro como nutriente essencial para animais e até hoje o interesse pelo ferro e pela anemia ferropriva continua imbatível. O ferro é o mineral mais estudado e descrito na história. É encontrado em todas as células dos seres vivos, tanto vegetais como animais e está distribuído por todos os alimentos. As principais fontes são as carnes e vísceras, mas está presente também em muitos alimentos de origem vegetal como leguminosas e nozes, grãos, cereais, vagens e folhas (Mahan & Escott-Stump, 1998).

As funções do ferro resultam de suas propriedades físicas e químicas, principalmente de sua habilidade de participar das reações de oxidação e redução, como é o caso das enzimas envolvidas no processo de respiração celular (Mahan & Escott-Stump, 1998). Na hemoglobina, suas funções principais são: atuar como vetor de oxigênio, formando com ele uma combinação facilmente dissociável, permitindo que o oxigênio transportado seja cedido aos tecidos na medida das suas necessidades; servir de catalisador da oxidação, nas células e nas moléculas livres de hemina e como constituinte das diástases oxidantes (catalase, peroxidase, citocromos), intervindo em numerosas reações de oxidação, por meio das quais se libera energia dos constituintes alimentares (Guyton & Hall, 1997). A atividade de muitas enzimas envolvidas nestas reações bioquímicas diminui durante a deficiência de ferro nos tecidos (Beard et al., 1996).

Existem evidências consideráveis de que o ferro pode desempenhar um papel na conversão de β -caroteno em vitamina A, na síntese de purinas e na detoxificação de drogas no fígado. A resposta à questão de se o estado do ferro tem efeito sobre a

imunocompetência e assim sobre a susceptibilidade à infecção ainda não é clara. Apesar do ferro ser essencial ao crescimento de microorganismos, ele também é uma parte integrante de enzimas e imunoproteínas necessárias para a destruição de organismos infecciosos (Mahan & Escott-Stump, 1998).

No homem, o ferro é encontrado em inúmeras proteínas como as flavoproteínas, hemeproteínas, participando como um componente essencial destas ou como co-fator, principalmente em enzimas como os citocromos, que atuam na cadeia respiratória, fazendo a transferência de elétrons (Beard et al., 1996). As hemeproteínas mais importantes são: hemoglobina, mioglobina, citocromos, peroxidases e catalases. A maior parte do ferro, cerca de 65%, é integrante da hemoglobina, transportadora de oxigênio nos glóbulos vermelhos. Do restante 4% estão na mioglobina, 1% sob a forma de diversos compostos hêmicos que promovem a oxidação celular, 0,1% combinado à proteína transferrina no plasma sanguíneo e 15% a 30% armazenados, principalmente no fígado, medula óssea e baço, sob a forma de ferritina ou hemossiderina (Guyton & Hall, 1997; Oliveira, 1989).

O organismo humano adulto contém cerca de 3 a 5 g de ferro, ou ainda, de 30 a 40 mg/kg de peso corporal, variando de acordo com a idade, o tipo de tecido específico e órgãos examinados. Outro tipo importante de proteína que contém ferro é a lactoferrina, uma glicoproteína que está presente em altas concentrações no leite materno e é a principal fonte de ferro para lactentes, auxiliando na prevenção da anemia no período de amamentação (British Nutrition Foundation, 1995).

2.2.2 Formas

O ferro dietético é classificado em 2 formas, de acordo com o seu mecanismo de absorção: ferro heme e ferro não heme. O ferro heme encontra-se na estrutura do anel protoporfirina das hemeproteínas. Ele é encontrado nos alimentos de origem animal sob a forma de hemoglobina e mioglobina, representando cerca de 40% do ferro do tecido animal. Esta forma tem elevada absorção e não é influenciada pelos fatores que interferem na absorção do não heme, como a ionização e a capacidade de se ligar a outras substâncias (Carpenter & Mahoney, 1992).

O ferro heme é solúvel no meio alcalino da luz intestinal, sendo facilmente absorvido, como um complexo de ferro-porfirina intacto, diretamente para as paredes da mucosa, por vias diferentes do não heme. É interessante o fato de que, embora existam transportadores específicos para o ferro heme nas mucosas dos ratos, estes não absorvem tão eficientemente o ferro heme quanto os humanos (Beard et al., 1996; Bianchi et al., 1992; Carpenter & Mahoney, 1992).

A absorção do ferro heme é alta: cerca de 15 a 30 % no indivíduo normal e 35 a 50 % naqueles com baixa reserva de ferro. Dado que a absorção de ferro heme é relativamente independente da combinação com os alimentos e está só ligeiramente influenciada pelo estado nutricional do indivíduo, sua contribuição na dieta pode ser estimada medindo-se quimicamente seu conteúdo na dieta, supondo uma absorção de 25 % (Bianchi et al., 1992; Elpo et al., 1998; FAO, 1991). Já a absorção do ferro não heme é muito menor que a do heme: cerca de 0 a 10 %, dependendo muito de fatores químicos, como o estado de oxidação, a solubilidade, o pH do meio e, ainda, dos componentes dietéticos. O ferro heme pode ser absorvido tanto ligado com a proteína transferrina na mucosa ou pode atravessar a membrana por difusão (Bianchi et al., 1992; Elpo et al., 1998).

Cerca de 80 a 90 % do ferro presente nas dietas ocidentais estão na forma de ferro não heme, precedentes em sua maior parte, dos alimentos de origem vegetal e dos compostos utilizados no enriquecimento de alimentos. Os alimentos de origem vegetal contribuem com 90 % do total de ferro ingerido nos países desenvolvidos e até 100 % nos países em desenvolvimento (Bianchi et al., 1992).

2.2.3 Absorção e metabolismo

Os mecanismos pelos quais o ferro é absorvido, tanto os mecanismos bioquímicos específicos, quanto os de transporte e sua regulação, não estão completamente esclarecidos. Porém a maioria dos autores relatou que a maior parte da absorção do ferro ocorre no duodeno e na parte superior do jejuno (Beard et al., 1996; Bianchi et al., 1992; British Nutrition Foundation, 1995; García-Casal et al., 1998; Lynch, 1997; Mahan & Escott- Stump, 1998).

Durante a fase intestinal da digestão, quando ocorre a captação, o ferro se liga a sítios específicos da membrana da mucosa, é interiorizado e pode tanto ser retido pelas células da mucosa (enterócitos) quanto transportado à membrana basolateral, onde é ligado à transferrina no “pool” plasmático (Beard et al., 1996).

Existem dois mecanismos de absorção do ferro que ocorrem simultaneamente. O primeiro é um processo de difusão passiva, na qual a quantidade de ferro absorvida é proporcional à concentração de ferro no lúmen intestinal. Essa via absorptiva é predominante somente em indivíduos com reservas normais de ferro. O segundo processo de absorção é limitado, mediado por um transportador dependente de energia, passível de saturação cinética e inibição competitiva. Esse processo predomina quando os estoques de ferro orgânico estão depletados (Carpenter & Mahoney, 1992).

Durante a fase intestinal da digestão, o ferro está presente no lúmen, tanto como ferro heme, como quelatos de ferro não heme. O grupamento heme ou é levado diretamente, por difusão ou pelo receptor de membrana para o interior do enterócito. Dentro da célula, o ferro é separado do heme pela enzima hemoxygenase, entrando para o “pool” celular comum, processando-se de maneira análoga ao ferro não heme. O receptor intestinal para o grupamento heme tem sido parcialmente caracterizado na membrana da borda em escova, indicando que a molécula do heme é absorvida intacta (Beard et al., 1996; British Nutrition Foundation, 1995; Mahan & Escott-Stump, 1998).

Antes da captação pelas células intestinais da borda em escova, o ferro deve atravessar a camada mucosa. A passagem do ferro por esta camada pode ser facilitada por ácidos orgânicos ou por polipeptídeos, como aqueles derivados da digestão de

carnes. O ferro não heme, ao chegar ao intestino, sofre a ação do meio alcalino e poderia ser completamente oxidado à forma férrica, se não houvessem fatores luminiais que o mantivessem solúvel. Moléculas ligantes de ferro, além dos fatores dietéticos, atuam para manter o ferro solúvel, sendo que muitas podem ser proteínas produzidas pelo estômago e fígado, porém não são completamente conhecidas (Beard et al., 1996; British Nutrition Foundation, 1995; Guyton & Hall, 1997).

Outra via de captação é a lactoferrina. Existem nas células da mucosa intestinal receptores específicos para a lactoferrina, os quais têm sido isolados nas membranas da borda em escova, porém, seu papel na absorção do ferro necessita de diversos esclarecimentos (British Nutrition Foundation, 1995).

Há ainda, outras propostas para a absorção do ferro não heme, por meio da ligação com proteínas carreadoras. Uma delas é a de que outra proteína, a mucina, se ligaria ao ferro férrico, solubilizando-o e tornando-o mais biodisponível para o organismo (Benito & Miller, 1998).

Apesar do mecanismo de passagem do ferro pelo enterócito não ser ainda muito claro, o processo de liberação na célula da mucosa intestinal também parece ser realizado com a participação de uma proteína ligante, pois o ferro não pode existir de forma iônica dentro da célula, então, depois de liberado pela proteína carreadora é imediatamente ligado a uma proteína já presente na célula (British Nutrition Foundation, 1995).

Muito do ferro captado nas células da mucosa é transferido para o sangue quase que imediatamente, mas, depois desta rápida fase de absorção, a transferência continua em uma razão muito mais baixa durante 24 horas, devido à estocagem temporária de ferro na célula, como ferritina. Nem todo o ferro que entra na mucosa do trato gastrointestinal é transferido para o plasma. Isto pode ser devido às perdas por espoliação das células do epitélio intestinal com conseqüente descarga de ferro na forma de ferritina (British Nutrition Foundation, 1995).

A absorção de ferro correlaciona-se de forma inversamente proporcional com o *status* de ferro no indivíduo. Em condições normais, a taxa de absorção em humanos adultos é de 5% a 15% do ferro dos alimentos. Já em condições de deficiência de ferro,

esta taxa pode chegar a 50%. Os mecanismos para esta indução são em grande parte desconhecidos. Com relação ao ferro heme, um fator que possivelmente contribua para o aumento de sua absorção, é a hemoxygenase intestinal que é ativada pela deficiência somática de ferro. Em um experimento com humanos, esta enzima não foi influenciada pela administração oral de hemoglobina, mas foi influenciada pela deficiência de ferro. Sua distribuição no intestino era idêntica às áreas de absorção máxima de ferro heme (Beard et al., 1996; Mahan & Escott-Stump, 1998).

Quando o organismo se torna saturado de ferro de modo que toda a apoferritina das áreas de estoque de ferro já esteja combinada com o mesmo, a velocidade de absorção deste mineral, pelas células da borda em escova, diminui consideravelmente (Guyton & Hall, 1997).

A hemoglobina e a ferritina sérica têm papéis aparentemente limitados no estabelecimento da necessidade de se absorver ferro. Tem sido sugerido que a presença no plasma do complexo transferrina-ferro permitiria ao enterócito monitorar a quantidade de ferro corporal e regular sua absorção. A exposição da célula da mucosa intestinal a baixas quantidades de transferrina-ferro sinalizaria à mesma sobre a necessidade de fazer entrar mais ferro para o corpo (Beard et al., 1996).

Quando toda a apoferritina do corpo se liga com o ferro, torna-se difícil para a transferrina liberar ferro para os tecidos. Como consequência, a transferrina, que normalmente está apenas um terço saturada com ferro, torna-se completamente saturada e não aceita ferro suplementar das células mucosas. Por outro lado, quando o organismo tem depósitos excessivos de ferro, o fígado diminui a velocidade de formação de apotransferrina e, portanto reduz a concentração desta molécula no plasma e na bile (Guyton & Hall, 1997).

Outro mecanismo de controle da absorção de ferro decorre de estados de hipóxia e pela produção de eritrócitos. Qualquer condição que cause a diminuição da quantidade de oxigênio transportada para os tecidos normalmente aumenta a velocidade de produção das hemácias. Assim, quando uma pessoa se torna extremamente anêmica em virtude de uma hemorragia ou outra condição, a medula óssea começa imediatamente a produzir grandes quantidades de hemácias. O principal fator que estimula a produção de

hemácias é um hormônio circulante chamado eritropoetina. Na ausência de eritropoetina, a hipóxia tem pouco ou nenhum efeito sobre a estimulação da produção de hemácias. No outro extremo, quando grandes quantidades de eritropoetina são produzidas e se há ferro abundante e disponível e outros nutrientes necessários, a velocidade de produção de hemácias aumenta dez vezes ou mais em relação ao normal (Guyton & Hall, 1997).

Ambas as situações aumentam a mobilização de ferro para a produção de hemácias, tanto dos estoques corporais, quanto da transferrina circulante no plasma. Esta, por sua vez, acaba por liberar o ferro preso à molécula, deixando mais apoferritina livre, sinalizando aos enterócitos sobre a necessidade de aumento da absorção (Guyton & Hall, 1997).

Após a absorção, este ferro captado nas vilosidades intestinais chega enfim à membrana basolateral do enterócito e é finalmente liberado para o plasma sangüíneo. Aí combina-se com a apotransferrina para formar a transferrina, que é então transportada no plasma até os tecidos corporais, onde liberará o ferro que poderá ser estocado ou utilizado pelas células. A transferrina não somente é responsável pela liberação do ferro da superfície basolateral dos enterócitos para os tecidos, mas também pela redistribuição do ferro aos vários compartimentos do corpo e pela proteção ao ferro durante a filtração glomerular (Beard et al., 1996).

Quando o ferro está presente em grandes quantidades no sangue, ele é armazenado. Cerca de 200 a 1.500 mg de ferro podem ser armazenados no organismo, como ferritina e hemossiderina, duas proteínas especializadas na estocagem deste mineral. A hemossiderina é semelhante à ferritina, mas contém mais ferro e é muito insolúvel. Certos indivíduos com um defeito genético absorvem quantidades maiores de ferro do que as habituais e desenvolvem hemossiderose, uma doença de armazenamento de ferro. Se a hemossiderose estiver associada a lesão tecidual, ela é chamada hemocromatose (Mahan & Escott-Stump, 1998). Embora a regulação dos estoques possa ser mantida, mesmo em situações de ingestão aumentada, parece que os mecanismos de controle não são efetivos em todos os indivíduos (Lynch & Baynes, 1996).

Quantidades mínimas de ferritina circulante, detectáveis pelo uso de técnicas de imunoensaio sensitivas, estão correlacionadas proximamente com os estoques de ferro do organismo. Cerca de 30% deste ferro de reserva se encontram no fígado, outros 30% na medula óssea e o restante no baço e músculos. A medida da ferritina sérica é uma ferramenta inestimável para a avaliação do estado clínico do ferro (Mahan & Escott-Stump, 1998).

A maneira como o organismo conserva e reutiliza o ferro é uma importante característica do metabolismo desse mineral. Mais de 90% do ferro da hemoglobina são repetidamente reciclados. A hemoglobina possui uma vida média de 120 dias; passado este período, o mecanismo de reciclagem é feito através da fagocitose dos eritrócitos velhos, um processo que ocorre principalmente nos macrófagos do fígado e baço. A destruição normal da hemoglobina das hemácias libera, por dia, 90 miligramas de ferro, que são reaproveitadas pelo organismo quase que totalmente (Ferreira, 1993).

Normalmente somente pequenas quantidades de ferro são excretadas pelo organismo. A maior parte do ferro perdido nas fezes consiste de ferro não absorvido da dieta. O restante representa o ferro contido nas células descamadas do epitélio gastrointestinal, excreção de bile, descamação normal das células da pele e sangramentos. Praticamente nenhuma quantidade de ferro é excretada na urina e no suor. O homem normal perde ao redor de 1 mg de ferro diariamente. Na mulher existe uma perda adicional de ferro que acompanha a menstruação, ao redor de 0,5 mg por dia (Mahan & Escott-Stump, 1998; Oliveira, 1989). No **anexo A**, pode-se observar o esquema do metabolismo de ferro em adultos.

O ferro para o metabolismo provém de três fontes: o reutilizado da degradação da hemoglobina, o liberado dos depósitos do corpo e o absorvido do aparelho gastrointestinal. Dessas três fontes, a maior contribuição provém da hemólise (destruição normal dos eritrócitos) (Oliveira, 1989).

2.2.4 Fatores que afetam a absorção

O processo de absorção de ferro é controlado por fatores intraluminais, da mucosa e fatores somáticos. Os fatores intraluminais que afetam a quantidade de ferro disponível para absorção, tanto inibindo-a ou promovendo-a, são inúmeros, como o pH intestinal, componentes da dieta (fatores antinutricionais, presença de outros minerais, ingestão de antiácidos), entre outros. Os fatores da mucosa incluem a quantidade de superfície de mucosa e a motilidade intestinal. Os fatores somáticos que influenciam a absorção incluem a eritropoiese e a hipóxia (Beard et al., 1996; British Nutrition Foundation, 1995). A quantidade e forma química do ferro presente no lúmen intestinal, a secreção estomacal e a bile (que aumenta a absorção do ferro pela ação de substâncias redutoras) são outros fatores interferentes (Bianchi et al., 1992).

Há ampla variação na quantidade de ferro que pode ser absorvida. A absorção de ferro é afetada por fatores fisiológicos e por fatores que afetam a disponibilidade de ferro em sua fonte. As formas inorgânicas de ferro (FeSO_4) são prontamente absorvidas pela mucosa do intestino delgado. Os sais ferrosos (Fe^{++}) são mais prontamente absorvidos que os sais férricos (Fe^{+++}). A maior absorção ocorre no duodeno superior devido ao ambiente ácido. A taxa de absorção de ferro é controlada pela quantidade captada pela mucosa intestinal em resposta às necessidades corporais de ferro, que são refletidas pela quantidade disponível no sangue para atingir as necessidades das células recém-formadas (Mahan & Escott-Stump, 1998).

Na presença de substâncias dietéticas inibidoras, a capacidade aumentada de absorção pode não ser suficiente para fornecer todo o ferro necessário ao organismo (Carpenter & Mahoney, 1992).

2.2.4.1 Promotores da absorção

Apesar da absorção do ferro não ocorrer no estômago, este contribui com o ácido clorídrico, que não só ajuda a remover o ferro, por desnaturação, caso esteja ligado a uma proteína, como também a solubilizá-lo, promovendo sua redução do estado férrico (pouco solúvel) para o estado ferroso (mais solúvel) (Beard et al., 1996).

As secreções gástricas contribuem, ainda, com a produção de uma substância chamada fator intrínseco, que aumenta a absorção do ferro ao se ligar ao mesmo (Mahan & Escott-Stump, 1998).

O ácido ascórbico e a carne ou tecido animal são os dois maiores promotores dietéticos, conhecidos, da biodisponibilidade de ferro. O ácido ascórbico, como agente redutor, mantém o ferro dos alimentos no estado ferroso, que é mais solúvel. Também, forma quelato ferro-ascorbato, que se mantém solúvel mesmo com o aumento do pH no intestino delgado proximal (García-Casal & Layrisse, 1998). O ferro da alimentação que contém frutas e vegetais, que são ricos em ácido ascórbico, normalmente, é altamente disponível. A absorção do ferro aumenta de 3,7 para 10,4 % em refeições com pão, ovo e chá depois da adição de 40 a 50 mg de ácido ascórbico (Bianchi et al., 1992).

Com relação às carnes, elas não são importantes somente pelo fornecimento do ferro heme, mas também porque aumentam de duas a quatro vezes a absorção do ferro não heme. O mecanismo exato pelo qual os tecidos animais facilitam a absorção do ferro não heme é ainda desconhecido, mas tem sido proposto que aminoácidos livres na luz intestinal, como a histidina, lisina e cisteína, aumentam a absorção da espécie férrica, por formarem quelatos solúveis com o ferro (Bianchi et al., 1992).

Outros fatores, como alguns açúcares (frutose) e os aminoácidos sulfurados, formam complexos com o ferro não heme, tornando-o solúvel no pH do lúmen intestinal, favorecendo sua absorção (García-Casal & Layrisse, 1998; Mahan & Escott-Stump, 1998). Também, os ácidos orgânicos, tais como, cítrico, málico, láctico, succínico e tartárico, promovem a absorção do ferro (Latunde-Dada & Neale, 1986).

2.2.4.2 Inibidores da absorção

Alguns componentes dos alimentos podem inibir a absorção do ferro, por formarem precipitados, quelatos insolúveis ou macromoléculas de baixa biodisponibilidade (Bianchi et al., 1992). Outros chegam a competir com os sítios de ligação das células da mucosa intestinal para a absorção, ou mesmo com as proteínas ligantes presentes na luz intestinal que o tornariam mais solúvel (Clydesdale, 1983).

Entre os fatores intraluminais extrínsecos citados na literatura como inibidores da absorção do ferro estão alguns dos componentes das fibras, o ácido oxálico, o ácido fítico e outros polifenóis. Porém, os relatos sobre o efeito exato e o mecanismo de ação destes fatores são ainda muito controvertidos.

O ácido oxálico, um ácido dicarboxílico, e seus sais são considerados como antinutricionais; eles podem tornar certos nutrientes minerais indisponíveis por ligarem-se a eles formando sais insolúveis que não são absorvidos no intestino (Vitakon, 1986), entretanto alguns estudos têm demonstrado um efeito neutro e até positivo na absorção do ferro, tanto em ratos quanto em humanos (Gordon & Chao, 1984; Hallberg, 1981).

O ácido fítico é um constituinte de muitos alimentos de origem vegetal, é um excelente quelante de íons minerais. Desde que o fitato não pode ser absorvido e os seres humanos têm limitada capacidade de hidrolisar a molécula de fitato, um efeito prejudicial do ácido fítico na biodisponibilidade de minerais é esperado (Lonnertdal, 1980).

Porém, o efeito inibitório do ácido fítico é ainda muito contraditório. Em 1976, Morris & Ellis (1976) demonstraram que o fitato monoférrico complexado ao ferro permanece solúvel e, portanto, biodisponível. Este tipo de fitato corresponde a cerca de 60 % no trigo. Quando se associa a mais moléculas de ferro, como o caso do fitato férrico (com 3 ou 4 moles de ferro/ molécula), torna-se insolúvel e portanto com baixa biodisponibilidade. Em outro estudo, os mesmos autores descreveram que há razões para acreditar que os fitatos inibam a absorção já que ambos, fitato diférrico e tetraférrico foram pobremente biodisponíveis (Morris & Ellis, 1976) e estas são as formas encontradas em vários vegetais como no gérmen de trigo e nas lentilhas (Gillooly et al., 1984).

Os polifenóis, incluindo os taninos e fitatos, dificultam a absorção do ferro. Quimicamente os taninos são classificados em dois grupos principais, cujas estruturas são muito diferentes entre si, embora todos tenham moléculas de poli-hidróxifenóis ou seus derivados. O primeiro grupo é composto pelos chamados taninos hidrolisáveis (como o ácido tânico), mais usados para a curtição de couros. O segundo grupo contém

outros tipos de taninos, encontrados em maior quantidade e de maior importância em alimentos, sendo denominados taninos condensados. A estrutura básica dos taninos condensados é relacionada à estrutura da catequina e dos 3', 4', 5, 7-hidroxiflavonóides (Bobbio & Bobbio, 1995).

Os principais efeitos antinutricionais dos taninos são: a inativação de enzimas digestivas, pela sua ligação seletiva às mesmas, formando complexos insolúveis e a capacidade de complexação com minerais, diminuindo a absorção principalmente de ferro, pois são quelantes naturais desse mineral (Geil & Anderson, 1994; Goycoolea et al., 1990; Proulx et al., 1993).

O tanino, presente no chá e no café é um inquestionável inibidor da absorção do ferro. O alto conteúdo do antinutricional, nestas bebidas, formaria um complexo insolúvel com o ferro, inviabilizando sua absorção (García-Casal & Layrisse, 1998). Outros experimentos demonstraram que o café reduziu cerca de 33 % da absorção do ferro contido na carne de hambúrguer. Já com uma xícara de chá preto, essa redução foi de aproximadamente 64 % (Morck et al., 1983). Os taninos presentes em feijões (*Phaseolus vulgaris* e *Phaseolus acutifolius*) também são citados como os maiores fatores inibidores da solubilidade do ferro (Benitez et al., 1994), entretanto Amaya et al. (1991) constataram que o conteúdo de taninos não tem correlação com a disponibilidade do ferro em feijões.

A questão da fibra como fator interferente ainda é discutível. Reinhold et al. (1981) demonstram que componentes da fibra do trigo e do milho ligam-se ao ferro *in vitro*. Entretanto, a adição de farelo de trigo a pães com a mesma quantidade de fitato não teve nenhum efeito sobre a absorção do ferro em ratos (Fairweather-Tait, 1982). Já, Gillooly et al. (1984), em seu estudo sobre a absorção de cereais, concluíram que embora a lignina e a hemicelulose inibiram a absorção do ferro em humanos, a pectina e a celulose, mostraram efeito oposto.

Interações com outros íons metálicos ou minerais também afetam a absorção de ferro. Geralmente, grandes quantidades de cátions divalentes na dieta inibem a absorção do ferro, assim como a absorção de outros íons é afetada, do mesmo modo, pelo ferro. A competição entre cátions similares na captação das células da mucosa intestinal tem sido

descrita entre cobre, zinco, manganês e cobalto, porém, os mecanismos para esta interação não foram ainda esclarecidos (British Nutrition Foundation, 1995).

No caso do ferro, pesquisadores afirmaram que o magnésio pode inibir a absorção do ferro, quando a proporção de magnésio em uma refeição é de trezentas vezes a de ferro. O zinco reduz a absorção de ferro quando o seu conteúdo na refeição é cinco vezes maior que o ferro, e, quando o consumo de cálcio é superior a 500 mg, ocorre inibição da absorção do ferro (García-Casal & Layrisse, 1998; Layrisse et al., 1997). Porém a inibição provocada pelo cálcio é ainda controversa. Wauben & Atkinson (1999) não detectaram o comprometimento do *status* de ferro, quando se ofereciam dietas com altas quantidades de cálcio.

Aditivos e quelantes sintéticos como o alginato de sódio em sorvetes, marmelada e maionese, a tetraciclina, o EDTA (ácido etileno diaminotetracético) entre outros, podem diminuir a biodisponibilidade do ferro (Latunde-Dada & Neale, 1986).

2.2.5 Biodisponibilidade

O termo biodisponibilidade ou disponibilidade biológica tem sido extensivamente usado na área de alimentos e nutrição. Sua origem conceitual, entretanto, foi no campo da farmacologia experimental, especificamente em relação às drogas (Bianchi et al., 1992). Define-se, portanto, biodisponibilidade como a proporção do nutriente nos alimentos que é efetivamente absorvida e utilizada. Tal conceito engloba o processo de assimilação, transporte e conversão de um nutriente para suas formas biologicamente ativas. Biodisponibilidade, portanto, não é propriedade de dieta ou alimento por si, mas do indivíduo em relação ao alimento ou dieta (Cozzolino & Pedrosa, 1995).

No caso de minerais, biodisponibilidade é determinada, principalmente, pela eficiência de absorção a partir do lúmen intestinal para o sangue. Em alguns casos, entretanto, os nutrientes absorvidos podem estar na forma que não são utilizados. Por exemplo, os quelatos de ferro são absorvidos, mas o ferro não está disponível para incorporar-se às proteínas (Carrazza, 1988).

O termo biodisponibilidade, relacionado ao ferro, é a medida daquela fração do ferro alimentar capaz de ser absorvida pelo trato gastrointestinal e, subsequentemente armazenada e incorporada ao heme (Bianchi et al., 1992).

Uma característica importante dos minerais, é que compostos, quando metabolizados, liberam os respectivos íons que são reutilizados pelo organismo. Desta maneira, suas necessidades são sempre iguais às perdas obrigatórias adicionadas às quantidades para formação de tecidos novos ou de crescimento. Nas recomendações de minerais tem que se levar em conta também, a sua biodisponibilidade, absorção intestinal e inter-relações com outros nutrientes que interferem com a absorção (Carrazza, 1988).

Com o conhecimento da biodisponibilidade dos minerais, considerando os fatores da dieta e do indivíduo, as recomendações destes nutrientes poderão ser estabelecidas com maior precisão e desta forma poderão ser elaborados guias de alimentação específicos para cada país (Cuzzolino, 1997).

A deficiência, pelo menos para o ferro, quase sempre não é somente causada pela baixa ingestão deste mineral na dieta, mas também por uma série de fatores que afetam a sua biodisponibilidade nos alimentos. Exemplo disso são os muitos alimentos que são aparentemente boas fontes de ferro, mas são limitados pela sua disponibilidade biológica; que se dá em função de sua forma química e da presença de itens alimentares que promovam ou inibam sua absorção (De Angelis, 1999; Latunde-Dada & Neale, 1986).

A biodisponibilidade do ferro é ainda influenciada por diversos fatores (que também afetam a absorção de minerais, como cálcio, zinco, cobre e magnésio), como as necessidades nutricionais individuais, a adequação das secreções intestinais, a integridade e bom funcionamento de todo o trato gastrointestinal, os estados fisiológicos, como o de crescimento e gravidez, e, doenças nutricionais (De Angelis, 1999; Latunde-Dada & Neale, 1986).

A forma de ferro alimentar também pode afetar sua biodisponibilidade. A absorção do ferro não heme depende do sal ou quelato usado, que podem aumentar ou

reduzir a absorção do ferro, dependendo das suas constantes de estabilidade e solubilidade no pH intraluminal (Chaud & Freitas, 1994).

Em relação aos fatores químicos (estado de oxidação, solubilidade e pH) que afetam a biodisponibilidade do ferro não heme, sabe-se que o estado de oxidação do ferro varia dependendo do ambiente químico. Na água, bem como nos alimentos, observam-se os estados de oxidação do ferro: Fe^{2+} (ferroso) e Fe^{3+} (férico), que são os mais estáveis nestes meios. A maior solubilidade dos sais ferrosos (Fe^{2+}) sobre os sais férricos (Fe^{3+}) é, em parte, responsável pela maior biodisponibilidade dos íons ferrosos no trato gastrointestinal que os íons férricos (Bianchi et al., 1992).

No meio ácido, os íons ferrosos e férricos não ocorrem em estado livre e são hidratados, respectivamente para $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ e $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$. Com o aumento do pH, as moléculas de água doam prótons para formar hidróxidos insolúveis de ferro: o $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ forma $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e o $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ forma $\text{Fe}(\text{OH})_2$. No pH =1, do estômago, o ferro é solúvel e está na forma hidratada. Quando o pH aumenta, o ferro torna-se um hidróxido insolúvel e, como a solubilidade é pré-requisito para a sua captação pelo intestino, a insolubilidade do ferro é o fator que, neste caso, dificulta sua absorção. Íons férricos no meio alcalino intestinal precipitam-se irreversivelmente e as macromoléculas resultantes de hidróxido férrico são muito grandes para serem absorvidas (Bianchi et al., 1992; Guyton & Hall, 1997).

Vários fatores (Quadro 1) e interações dietéticas (Quadro 2) podem influenciar a biodisponibilidade do ferro não heme.

Corpo	<ul style="list-style-type: none"> -estado fisiológico -estado nutricional -estado patológico
Secreções	<ul style="list-style-type: none"> -suco gástrico -secreções pancreáticas -bile
Fatores Químicos	<ul style="list-style-type: none"> -forma química: heme e não heme -estado de oxidação -solubilidade -pH -capacidade de complexação
Fatores Dietéticos	<ul style="list-style-type: none"> -constituintes da dieta -facilitadores (ácido ascórbico, tecido animal, frutose) -inibidores (oxalatos, taninos, fibras, outros)

Quadro 1 - Fatores que afetam a biodisponibilidade do ferro.

Fonte: Bianchi et al., 1992.

NUTRIENTE QUE INTERAGE	EFEITOS
Proteínas	Aumentam a absorção do ferro não heme
Aminoácidos	Mistura de aminoácidos favorecem a absorção do ferro, sendo a cisteína um dos mais ativos
Ácidos orgânicos	Dietas com pH relativamente alto ou com alto conteúdo de ácido láctico, facilitam a absorção
Fosfatos de cálcio	Diminuem a absorção
Zinco	A administração de suplementos de zinco inibem a absorção do ferro. Se o suplemento contiver os 2 elementos, a biodisponibilidade de ferro é menor quanto maior a proporção Zn:Fe
Vitamina C	Favorece a absorção do ferro não heme ao mantê-lo solúvel no pH intestinal. Facilita a mobilização de ferro ao inibir a degradação de ferritina por enzimas lisossômicas. Sua deficiência causa acumulação de Fe-hemossiderina
Vitamina A	Sua deficiência inibe a utilização do ferro e acelera a aparição de anemia. A deficiência de ferro se associa epidemiologicamente com a deficiência de vitamina A
Chá, café	Ao se tomar chá simultaneamente com fonte de ferro, sua absorção cai de 10,4 para 3,3 %, devido à formação de complexos com taninos na luz intestinal. O café também inibe a absorção de ferro
Polifenóis	Ligam e insolubilizam o ferro

Quadro 2 - Interações dietéticas que alteram a biodisponibilidade do ferro.

Fonte: Caballero, 1988.

A biodisponibilidade do ferro não heme depende ainda do meio químico gerado no intestino pelos alimentos e a proporção dos fatores dietéticos, que podem inibir ou facilitar sua absorção (Bianchi et al., 1992).

2.2.6 Recomendações nutricionais

Recomendações nutricionais são as quantidades de energia e nutrientes que devem conter os alimentos consumidos para satisfazer as necessidades de quase todos os indivíduos de uma população sadia. Baseiam-se nas cifras das necessidades, corrigidas pela biodisponibilidade às quais se adiciona a quantidade necessária para cobrir a variabilidade individual e, no caso de alguns nutrientes, acrescenta-se também uma quantidade adicional como margem de segurança (Vannuchi et al., 1990).

As necessidades de ferro podem ser determinadas em termos da quantidade que se deve absorver para repor as perdas do organismo e que seja suficiente para cobrir o aumento normal da necessidade durante o crescimento e a gestação (FAO, 1991).

A necessidade durante a infância é a maior em relação à ingestão alimentar. A fase de crescimento rápido durante a adolescência representa um outro período de necessidades aumentadas, maiores no homem que na mulher; entretanto, com o início das menstruações, as necessidades da mulher excedem às do homem. Devido à variação individual da capacidade de absorção, as diferenças entre os alimentos quanto à disponibilidade de ferro para absorção, e a capacidade do organismo em aumentar a absorção de ferro durante os períodos de deficiência, é difícil converter as necessidades fisiológicas de ferro em necessidades dietéticas. As recomendações nos Estados Unidos para ferro estabelecidas pelo “Food and Nutrition Board” do “National Research Council” e os estabelecidos pela junta “FAO/WHO Expert Group” diferem, apesar de estarem baseadas nas mesmas considerações (FAO, 1991; Mahan & Escott-Stump, 1998).

As recomendações diárias de ferro para a população brasileira, adaptadas das recomendações para a população dos Estados Unidos, por Vannucchi et al. (1990), são mostradas na tabela 1:

Tabela 1. Recomendação de ferro (mg/dia), em diferentes níveis de absorção (%) de ferro não heme da dieta, adaptada à população brasileira.

Grupo	Idade (anos)	Alta (8%) ¹	Média (5%) ²	Baixa (3%) ³
Criança*	0,5 a 1,0	4	6	12
	1,1 a 3	6	8	17
	3,1 a 5	7	10	21
	5,1 a 7	8	12	24
	7,1 a 10	9	13	26
	10,1 a 12	9	14	28
Sexo masculino	12,1 a 14	11	16	32
	14,1 a 18	12	18	37
	18,1 a 65	14	20	41
	>65	10	15	30
Sexo feminino	12,1 a 14	9	13	27
	14,1 a 18	10	14	29
	18,1 a 65	9	14	28
	>65	8	12	25
Quantidade adicional na Gravidez	-	1	2	4
Quantidade adicional na Lactação	-	2	3	7

*de zero a seis meses de idade, o aleitamento materno exclusivo supre todas as necessidades do grupo

¹ ingestão < 25g de carne ou mg de ácido ascórbico; ² ingestão de 25 a 75 g de carne ou mg de ácido ascórbico; ³ ingestão > 75 g de carne ou mg de ácido ascórbico.

Fonte: Vannucchi et al. (1990).

2.2.7 Deficiência

A deficiência nutricional de ferro ocorre quando a quantidade absorvida da dieta é insuficiente para alcançar as necessidades normais. Elas abrangem as perdas obrigatórias do organismo e os requerimentos nutricionais para o crescimento. Se essa

deficiência persiste, os estoques orgânicos de ferro são exauridos e a anemia ferropriva se instala, afetando os níveis de hemoglobina sanguínea. A deficiência pode ser causada por ingestão inadequada, absorção deficiente, metabolização imperfeita, perda sanguínea crônica ou aumento das necessidades como na infância, adolescência e gravidez (Brasil, 2002; Carpenter & Mahoney, 1992).

Quando o estoque de ferro do organismo é depletado, o corpo sofre consequências funcionais, tais como a ineficiência do transporte de oxigênio e prejuízos no metabolismo oxidativo, no metabolismo nuclear e na transcrição gênica. As seqüelas clínicas incluem a anemia em si, a redução da atividade física, do rendimento do aprendizado e da diminuição da performance no trabalho e a diminuição de eficiência da função imune (Beard et al., 1996; Brasil, 2002; Carpenter & Mahoney, 1992). A imunocompetência reduzida é um possível sinal de deficiência precoce de ferro, notada particularmente por defeitos na imunidade mediada por células e na atividade fagocítica dos neutrófilos, que podem levar a uma propensão aumentada para infecção (Mahan & Escott-Stump, 1998).

Geralmente a deficiência de ferro é caracterizada por 3 estágios, a saber:

- (a) depleção de ferro: o armazenamento de ferro é baixo (baixos níveis de ferritina e hemossiderina), pequeno aumento da transferrina livre e valores normais de hemoglobina;
- (b) eritropoese deficiente: o nível de saturação da transferrina cai e torna-se insuficiente para a manutenção de uma taxa ótima de eritropoiese; a concentração de protoporfirina dos eritrócitos torna-se elevada, indicando um desequilíbrio entre a produção de protoporfirina e o suprimento intracelular de ferro. Contudo, o suprimento de ferro ainda é suficiente para manter 95% do nível normal de hemoglobina;
- (c) anemia ferropriva: o terceiro estágio é caracterizado pelo esgotamento total das reservas de ferro, levando à uma produção insuficiente de hemoglobina, com o desenvolvimento de anemia microcítica e hipocrômica (Carpenter & Mahoney, 1992).

A maioria dos sintomas, comuns em anemias são: cansaço, fadiga, palidez, diminuição da capacidade de trabalho físico, alteração da termorregulação e menor capacidade de concentração. O tempo de restabelecimento das funções cardiorespiratórias normais em indivíduos anêmicos, após esforço, é prolongado. Sintomas gastrointestinais como falta de apetite, flatulência, incômodo epigástrico, náuseas, vômitos, constipação ou diarreia são comuns. Quando a anemia por deficiência de ferro se torna mais severa, os defeitos se desenvolvem na estrutura e função dos tecidos epiteliais, especialmente da língua, unhas (**anexo B**), boca e estômago. As mudanças bucais incluem atrofia das papilas linguais, queimadura, vermelhidão e, em casos severos, uma aparência completamente lisa, cerácea e brilhante da língua (glossite). A gastrite ocorre frequentemente e pode resultar em acloridria. A anemia não tratada pode resultar em alterações cardiovasculares e respiratórias que podem eventualmente provocar uma insuficiência cardíaca (Mahan & Escott-Stump, 1998).

Alguns sintomas comportamentais de deficiência de ferro parecem responder à terapia antes que a anemia seja curada, sugerindo que elas podem ser o resultado da depleção tecidual de enzimas que contém ferro, em vez de um nível diminuído de hemoglobina (Mahan & Escott-Stump, 1998).

2.3 Importância da vitamina A na nutrição humana

2.3.1 Função biológica

A primeira vitamina lipossolúvel a ser reconhecida foi a vitamina A. Dois grupos de pesquisadores Mc Collum & Davis na Universidade de Wisconsin e Osborne & Mendel na Universidade de Yale, fizeram a descoberta quase que simultaneamente em 1913 (Mahan & Arlin, 1995).

A vitamina A, nutriente essencial ao organismo, desempenha importante papel em diversos processos vitais, atuando na manutenção da visão, na integridade do sistema imunológico (vitamina anti-infecciosa), na formação e manutenção do tecido epitelial e das estruturas ósseas e dentes; na diferenciação e proliferação celular, na reprodução e no crescimento (Brasil, 2002; Food and Nutrition Board - National Research Council,

1989; Layrisse et al., 1997). Tem sido sugerido que a vitamina A é também essencial para a eritropoiese (García-Casal et al., 1998; Layrisse et al., 1997).

A deficiência de vitamina A resulta em anemia em humanos e animais, a qual é somente revertida com a suplementação de vitamina A (Layrisse et al., 1997).

Estudos mais recentes vêm mostrando que a vitamina A atua como antioxidante. Porém, recomenda-se cautela no uso de vitamina A, mediante o uso de suplementos medicamentosos, por exemplo, uma vez que, em excesso, ela também é prejudicial ao organismo (Brasil, 2002).

A educação nutricional é muito importante, pois esclarece que é possível suprir as necessidades orgânicas de vitamina A através do consumo de alimentos ricos em β -caroteno, os quais estão mais disponíveis do que as fontes de vitamina A pré-formada e são economicamente mais acessíveis (Roncada et al., 1981).

O termo vitamina A abrange tanto o retinol (vitamina pré-formada) e seus análogos sintéticos e naturais, denominados retinóides, como certos carotenóides (pró-vitamina A), que podem ser metabolizados à retinol (Fausto, 1991).

O termo carotenóide refere-se a um grupo de pigmentos de cor variável entre o amarelo e o vermelho escuro, largamente distribuídos no reino animal e vegetal. Quimicamente os carotenóides são substâncias tetrapênicas, formadas por oito unidades de isopreno; a ligação isoprênica é invertida na parte central da molécula de forma que os dois grupos metílicos ficam separados por três carbonos (Bobbio & Bobbio, 1995).

A vitamina A pré-formada (retinol) é encontrada somente em alimentos de origem animal (carnes, principalmente fígado, peixes, ovos, leite integral e derivados). Nos vegetais, se apresentam na forma de precursores da vitamina. Em geral, frutas e legumes amarelos e alaranjados e vegetais verde-escuros são ricos em carotenóides (Brasil, 2002).

A vitamina A proveniente de fontes de origem animal é ingerida sob a forma de ésteres de retinila (geralmente palmitato) que são hidrolisados a retinol pela enzima retinil-ester-hidrolase e que, conjuntamente com os carotenóides dietéticos, são absorvidos pela mucosa intestinal e transportados pela circulação entero-hepática para seu armazenamento no fígado (Velásquez-Meléndez & Roncada, 1994).

Os precursores de vitamina A proporcionam a maior parte da vitamina ingerida à preço mais baixo que as fontes de origem animal com vitamina pré-formada (Rodriguez-Amaya & Amaya-Farfán, 1992).

Em populações de baixa renda, o consumo de vitamina A é, via de regra, predominantemente de fontes de origem vegetal, podendo representar 80 % ou mais do total de vitamina A ingerida (Saunders et al., 2000).

2.3.2 **β -caroteno**

O β -caroteno é a mais abundante fonte de pró-vitamina A presente nos alimentos. Cerca de 10 a 50 % do total de β -caroteno consumido é absorvido pelo trato gastrointestinal, e, dentro da parede do intestino, é parcialmente convertido em vitamina A (García-Casal et al., 1998).

Segundo Rodriguez-Amaya (1985), pelo menos quatro funções dos carotenóides, já foram identificados: (1) corante natural responsável pela coloração atraente de muitos alimentos, seja como constituinte natural ou como aditivo; (2) precursor de vitamina A; (3) seqüestrador de oxigênio, propriedade que os torna protetores dos lípidos contra a oxidação e (4) inibidor de determinados tipos de câncer.

Do ponto de vista nutricional, os carotenóides são classificados como pró-vitaminas e carotenóides inativos. Os primeiros são muito importantes, pois alguns deles se convertem em vitamina A na mucosa intestinal e no fígado. Para atuar como precursor de vitamina A, um carotenóide deve possuir pelo menos um anel β -ionona com cadeia lateral poliênica de pelo menos 11 carbonos. Quimicamente os carotenóides são divididos em 2 grupos: os hidrocarbonatados e os derivados oxigenados. O primeiro grupo é conhecido como carotenos e o segundo tem sido chamado pela maioria dos autores de xantofilas (Minazzi-Rodrigues & Penteado, 1989; Rodrigues, 1988; Rodriguez-Amaya, 1985; Sant'Ana, 1995).

De todos os carotenóides conhecidos, o β -caroteno, além de ser o mais comum entre os alimentos, é o que possui maior atividade de pró-vitamina A, pois possui 2 anéis

β -ionona ligados por uma cadeia poliênica de 22 carbonos com 100 % de atividade vitamínica (Kurilich et al., 1999; Rodriguez-Amaya, 1985).

Ao lado de sua função como precursor de vitamina A, o β -caroteno protege o organismo da ação dos radicais livres, os quais são potencialmente perigosos à saúde humana. A alta reatividade do β -caroteno é uma característica importante que dá à molécula a capacidade antioxidante (Burton, 1989; Krinsky, 1991; Pryor, 1991).

Numerosos estudos epidemiológicos encontraram uma relação inversa entre ocorrência de catarata, de cânceres de pulmão, intestino, rim e cólon, e o consumo de vegetais ricos em carotenóides (Jacques & Chylack, 1991; Kromhout, 1987; Robertson et al., 1991; Ziegler, 1991).

Estima-se que os carotenóides provenientes de vegetais contribuam, em termos mundiais, com cerca de 68 % de vitamina A da dieta e, nos países em desenvolvimento, com 82 %. Em muitos países onde a deficiência de vitamina A é considerada um problema nutricional, a contribuição dos precursores de vitamina A é ainda mais significativa (Minazzi-Rodrigues & Penteado, 1989; Rodrigues, 1988; Rodriguez-Amaya, 1985).

2.3.3 Absorção, transporte e armazenamento

A vitamina A é necessária aos seres humanos em quantidade inferior a 1 mg/dia. Fatores dietéticos que afetam a absorção de carotenóides incluem o nível e origem de gordura na dieta, a quantidade de carotenóides e a digestibilidade de alimentos (Hof et al., 2000).

Os carotenóides são absorvidos no intestino com a ajuda da gordura da dieta e incorporados a quilomícrons para transporte no soro. Devido ao caráter hidrofóbico, carotenóides estão distribuídos em tecidos adiposos, com pequena quantidade encontrada no fígado, músculos, glândulas adrenais e órgãos reprodutivos (Mahan & Arlin, 1985).

A vitamina A pré-formada e carotenóides são liberados, pelas enzimas, no estômago. Ésteres retinil são hidrolisados no intestino delgado em retinol, que é absorvido mais eficientemente que os ésteres. O β -caroteno é fracionado no citoplasma

das células da mucosa intestinal em duas moléculas de retinaldeído, as quais são reduzidas e esterificadas para formar ésteres retinil. A biodisponibilidade dos carotenóides é incerta, devido à variabilidade da absorção e conversão em retinol. A conversão de β -caroteno em vitamina A é regulada para que quantidades excessivas de vitamina A não sejam absorvidas das fontes de caroteno.

Os ésteres de retinil são transportados através da linfa para o sangue e, então, para o fígado, como parte dos quilomícrons e lipoproteínas. No momento da mobilização no fígado, o retinol é acoplado à proteína fixadora de retinol (RBP) e viaja a tecidos determinados num complexo com as pré-albuminas séricas. As RBPs transportam vitamina A na circulação e, então elas podem ser removidas da mesma pelos rins.

No **anexo C**, podemos observar o trajeto da vitamina A para alcançar as células alvo de um órgão.

2.3.4 Biodisponibilidade de vitamina A

O tipo e a espécie de carotenóide, a quantidade de carotenóides ingerida, a união molecular, a matriz na qual se encontram incorporados, os fatores genéticos, os estados de nutrição do indivíduo, os modificadores da absorção, a preparação culinária, o conteúdo de lipídios e fibras na refeição, e, as interações variadas são alguns fatores que influenciam na biodisponibilidade de carotenóides e na bioconversão em retinol (Garret et al., 1999; Hof et al., 2000; Pérez, 1999).

No quadro 3, estão apresentadas, de forma sucinta, as interações dietéticas que alteram a biodisponibilidade de vitamina A.

NUTRIENTE QUE INTERAGE	EFEITOS
Proteínas	Sua deficiência diminui a absorção de vitamina A e a capacidade de liberar retinol das reservas hepáticas
Lipídeos	Aumentos no conteúdo estimulam a absorção de carotenos. Já poliinsaturados inibem a absorção e metabolismo de carotenos
Vitamina E	Sua suplementação aumenta o armazenamento hepático de vitamina A e melhora os níveis plasmáticos em crianças
Zinco	Sua suplementação melhora problemas de adaptação ao escuro

Quadro 3 - Interações dietéticas que alteram a biodisponibilidade de vitamina A.

Fonte: Caballero, 1988.

Uma grande variedade de fatores pode afetar os níveis plasmáticos de vitamina A, tais como condições fisiológicas, ingestão dietética ou farmacológica, estado nutricional, deficiência de outros micronutrientes, má absorção, doenças crônicas e infecções (Velásquez-Meléndez & Roncada, 1994). Os mesmos autores relatam que vários pesquisadores têm provado que o ciclo infecção – desnutrição é sinérgico. Assim a infecção pode interferir com a ingestão, absorção e utilização de vitamina A e a deficiência dessa vitamina pode predispor à infecção.

Processamentos, como a homogeneização mecânica ou tratamento térmico, têm o potencial de aumentar a biodisponibilidade de carotenóides de vegetais. Isto pode ser aplicado no desenvolvimento de alimentos com biodisponibilidade de carotenóides aumentada. Um possível efeito negativo dessas condições no conteúdo de outros micronutrientes, mais vulneráveis, deve ser levado em conta. Se, ingredientes

alimentícios atuais ou novos são desenvolvidos, em particular, se eles possuem gordura solúvel e absorvível somente a uma limitada extensão, atenções devem ser dadas para um possível efeito negativo na biodisponibilidade de carotenóides (Hof et al., 2000).

A mobilização hepática do retinol é complexa; o retinol é liberado para circulação, numa relação 1:1, unido a um polipeptídeo hepático, a proteína ligadora de retinol ou RBP (“Retinol Binding Protein”) composta por 182 aminoácidos. Na circulação sistêmica, o complexo combina-se com outra proteína secretada pelo fígado, a pré-albumina ou transtiretina. A maior quantidade (90%) de vitamina A do organismo está armazenada no fígado, principalmente na forma de ésteres de retinila; outros órgãos ou tecidos contêm cerca de 9 % do total orgânico, enquanto o plasma, aproximadamente 1 % da reserva total (90 % na forma de retinol e 8 % como ésteres de retinila, havendo diminutas quantidades de ácido retinóico e outros metabólitos) (Velásquez-Meléndez & Roncada, 1994).

Apesar do fato não ter ficado muito claro, devido às ótimas condições para utilização e absorção, no experimento, estudiosos afirmaram que a biodisponibilidade do β -caroteno de vegetais com folhas verde-escuras e de algumas raízes não são tão baixas quanto os resultados encontrados na literatura (Huang et al., 2000).

A América Latina tem uma enorme variedade de folhas selvagens e comercialmente produzidas. A biodisponibilidade dos carotenóides de folhas é conhecida por ser menor que a de frutas. Por um lado, o conteúdo de carotenóides de frutas supera a das folhas, mas, por outro, as folhas estão disponíveis durante o ano todo, são facilmente produzidas em hortas e jardins e são a mais larga e acessível fonte disponível de carotenóides ao redor do mundo (Rodriguez-Amaya, 1999b).

2.3.5 Medidas

A vitamina A foi originalmente definida em termos de Unidade Internacional (UI), que continua amplamente usada. Porém a mensuração preferida expressa a atividade de vitamina A em termos químicos como microgramas (μ g) de álcool de vitamina A (retinol), β -caroteno ou carotenóides mistos. Equivalentes retinol (RE) são úteis no cálculo de valores de vitamina A na dieta, pois eles permitem a

somatória de vitamina A pré-formada e carotenóides que ocorrem em diferentes proporções nos alimentos e têm diferentes níveis de atividade biológica (Mahan & Arlin, 1995).

Para transformar teores de provitamina A em valores de vitamina A, a Academia Nacional de Ciências - Conselho Nacional de Pesquisa dos Estados Unidos (NAS-NRC, 1980), recomenda as seguintes equivalências:

1 equivalente de retinol = 1 μg de retinol
 = 6 μg de β -caroteno
 =12 μg de outros carotenóides pró-vitamina A
 =3,33 UI de atividade de vitamina A a partir do retinol
 =10 UI de atividade de vitamina A a partir de β -caroteno

2.3.6 Recomendações nutricionais

A vitamina A é considerada constituinte essencial na alimentação animal, em virtude de não ser armazenada em grandes quantidades e nem biossintetizada pelo organismo. Sua suplementação contínua é, então, necessária para satisfazer as exigências diárias.

As recomendações nutricionais para vitamina A, expressas em μg de retinol ou equivalentes retinol (RE) estão na tabela 2. A recomendação infantil é baseada na quantidade de retinol no leite materno. As recomendações do adulto são baseadas em níveis que fornecem teores adequados no sangue e depósitos hepáticos. Níveis mais baixos para mulheres refletem menor volume corporal (Mahan & Arlin, 1995).

Tabela 2. Recomendações nutricionais de vitamina A em equivalentes de retinol.

Idade (anos)	RDA* (em µg RE**)
Lactentes	
0,0 – 0,5	375
0,5 – 1,0	375
Crianças	
1 – 3	400
4 – 6	500
7 – 10	700t
Homens	
11 – 14	1.000
15 – 18	1.000
19 – 24	1.000
25 – 50	1.000
51 +	1.000
Mulheres	
11 – 14	800
15 – 18	800
19 – 24	800
25 – 50	800
51 +	800
Gravidez	800
Lactação Primeiros 6 meses	1.300
Lactação Segundos 6 meses	1.200

* RDA = Recomendações Nutricionais

** RE = Equivalentes Retinol

Fonte: FNB-NRC, 1989.

Os requerimentos diários de vitamina A são 5000 UI (Unidades Internacionais) ou 1000 ER (Equivalente de Retinol) para homens e 4000 UI (800 ER) para mulheres.

Ocorre um aumento do requerimento em 1000 UI durante a gravidez e 2000 UI durante a lactação (FNB-NRC, 1989).

2.3.7 Toxicidade

Excesso de retinol causa alterações nas membranas biológicas quando a ingesta excede a capacidade de ligação da RBP. A hipervitaminose A aguda pode ser induzida por uma única dose maior que 200 mg (660.000 UI) de retinol em adultos ou maior que 100 mg (330.000 UI) em crianças (Mahan & Arlin, 1995).

Os sintomas incluem náuseas, vômitos, fadiga, fraqueza, cefaléia e anorexia. Fontanela abaulada também pode ser visto em lactentes. A hipervitaminose A crônica usualmente reflete uso inadequado de complemento vitamínico, que pode seguir a ingesta repetida de vitamina A em quantidades pelo menos 10 vezes a da RDA: 4,2 mg de retinol (14.000 UI) para um lactente ou 10 mg de retinol (33.000 UI) para um adulto. A resposta ao excesso crônico é altamente variável entre os indivíduos. Os sintomas desaparecem em semanas ou meses quando o suplemento vitamínico é suspenso. Estudos de toxicidade em animais demonstraram que o β -caroteno não é carcinogênico, mutagênico ou teratogênico. Alimentos ricos em β -caroteno podem ser consumidos em grandes quantidades sem dano, exceto pela coloração amarela da pele que se segue à deposição de caroteno nos tecidos. Diferentemente da icterícia, na hiperkarotenodermia, a esclera permanece clara. Quando o excesso na ingesta é suspenso, a pele clareia normalmente num curto período de tempo (Mahan & Arlin, 1995).

2.3.8 Deficiência

A hipovitaminose A é a deficiência de vitamina A em nível dietético, bioquímico ou clínico, com repercussões sistêmicas que afetam as estruturas epiteliais de diferentes órgãos, sendo os olhos o mais evidente. O termo mais atual, usado em substituição a hipovitaminose A, é deficiência de vitamina A (Brasil, 2002).

A deficiência desta vitamina provoca modificações nas células epiteliais, alterando as membranas mucosas que revestem o nariz, a garganta, a traquéia e o trato gastrointestinal. Sempre que ocorrem estas alterações de tecidos, o mecanismo natural de

proteção contra a invasão bacteriana fica comprometido e o tecido pode tornar-se facilmente infectado. Deficiência prolongada de vitamina A pode causar alterações na pele, tornando-a áspera, seca e escamosa, decorrente do aumento de queratinização, além de cegueira noturna e úlceras de córnea. Em casos de deficiência extrema, as membranas mucosas dos tratos respiratório, gastrointestinal e geniturinário são afetadas. Outros sintomas de deficiência de vitamina A são perda de apetite, inibição do crescimento, anormalidades ósseas, ceratinização das papilas gustativas e perda do paladar (Mahan & Arlim, 1995).

Estudos mostram que para a reprodução e a lactação é necessário mais caroteno ou vitamina A na dieta. Esta vitamina participa das transformações no metabolismo da corticosterona, do colesterol e dos hormônios sexuais (Burton, 1979; Mitchell et al., 1978).

Deficiência primária de vitamina A resulta da inadequação na dieta. Deficiências secundárias podem ser devido às doenças hepáticas, desnutrição protéico-calórica, abetalipoproteinemia ou malabsorção devido à insuficiência de ácidos biliares. A deficiência aguda de vitamina A é tratada com grandes doses orais da mesma e correção da desnutrição protéico-calórica concomitantemente. Os sintomas de deficiência respondem à dieta e suplementação vitamínica na mesma ordem em que eles aparecem. Por exemplo, a cegueira noturna responde rapidamente, enquanto as anormalidades cutâneas podem levar diversas semanas para desaparecer (Mahan & Arlim, 1995).

O diagnóstico da Deficiência de Vitamina A só pode ser confirmado por profissionais de saúde, pois muitos dos sinais são comuns a outras doenças como pele seca e fadiga, embora outros sejam mais característicos da hipovitaminose A:

- Nictalopia (cegueira noturna), que é a dificuldade do indivíduo em enxergar à noite ou em ambientes de pouca luminosidade, é um sinal mais característico e precoce da deficiência de vitamina A. Outras alterações oculares características da deficiência são a xeroftalmia (conjutivas secas, sem brilho) e a Mancha de Bitot.
- Infecções frequentes podem indicar carência, pois a falta de vitamina A reduz a capacidade do organismo de se defender das doenças (virais ou parasitárias), devido ao seu papel na manutenção da integridade das membranas mucosas. Sem vitamina

A, o “sistema de barreira” contra infecções está perdido. O número de linfócitos T circulantes, bem como sua resposta a mitógenos, é reduzido pela deficiência de vitamina A.

- Alterações cutâneas – A deficiência de vitamina A produz alterações características na textura da pele, tal como hiperqueratose folicular (frinodermia), no qual o entupimento dos folículos pilosos com rolas de ceratina causa a “pele de ganso” ou “pele de sapo” (**anexo D**). A pele se torna seca, escamosa e áspera. Inicialmente os antebraços e coxas – porém em estágios avançados, o corpo todo – podem estar envolvidos. A mesma alteração pode ser causada por deficiência essencial de ácidos graxos, deficiência de vitamina B, exposição à luz solar e falta de asseio. Aplicações tópicas de ácido retinóico têm sido usadas para tratamento de rugas, acne vulgar, ictiose, psoríase, ceratose e outras doenças dermatológicas. O uso externo produz alterações citológicas que levam a uma inflamação e a uma melhora nas condições da pele sem efeitos sistêmicos ou toxicidade (Brasil, 2002; Mahan & Arlim, 1995).

A deficiência de vitamina A pode ser causada por:

- falta de amamentação ou desmame precoce: o leite materno é rico em vitamina A e é o alimento ideal para crianças até seis meses de idade. Se a criança não é amamentada ao peito ou deixa de receber o leite materno antes dos quatro meses de vida pode apresentar deficiência de vitamina A;
- ingestão insuficiente de alimentos ricos em vitamina A: os indivíduos podem ingerir alimentos em quantidades insuficientes, levando a uma ingestão também insuficiente de vitamina A. Isso ocorre porque as pessoas/famílias não dispõem de recursos financeiros para adquirirem os alimentos necessários à sua sobrevivência e também porque podem desconhecer os alimentos que são as fontes mais ricas de vitamina A;
- ingestão insuficiente de alimentos que contêm gordura: gorduras em excesso devem ser evitadas porque podem ocasionar diversos problemas de saúde. Porém, o organismo humano necessita de uma quantidade de gordura proveniente dos alimentos para manter diversas funções essenciais ao seu bom funcionamento. Uma delas é permitir a absorção de algumas vitaminas, chamadas lipossolúveis

(Vitaminas A, D, E e K). Se a alimentação é isenta de gordura, pode vir a ocorrer uma deficiência de vitamina A.

- infecções frequentes: as infecções que acometem as crianças, principalmente, levam a uma diminuição do apetite, fazendo com que a criança passe a ingerir menos alimentos quando está doente podendo levar a uma deficiência de vitamina A. Além disso, a infecção faz com que as necessidades orgânicas de vitamina A sejam mais altas, ocasionando uma redução nos estoques da vitamina no organismo e desencadeando ou agravando a deficiência (Brasil, 2002).

Apesar da escassez de informações, é possível identificar a população infantil do Nordeste como a mais vulnerável ao problema, uma vez que 16% a 55% das crianças apresentaram dosagem de vitamina “A” abaixo de 20 mcg/dl, caracterizando situações carenciais endêmicas. Existem igualmente indicações da ocorrência da hipovitaminose A em bolsões de pobreza de Minas Gerais e São Paulo, além de áreas da Região Norte. Nestas áreas, mais de 15% das amostras de sangue examinadas comprovaram que a dosagem de vitamina A estava abaixo do limite de normalidade (Brasil, 2002).

2.4 Interações dietéticas

As dietas constituem uma complexa matriz química e biológica, resultado das propriedades de cada alimento e das interações que se produzem espontaneamente, devidas ao processamento industrial ou doméstico. O conceito “interação de nutrientes” deve incluir tanto a interação direta, em nível molecular entre substratos (tal como ocorre no lúmen intestinal), quanto a interação indireta, resultado dos efeitos antagônicos ou sinérgicos de cada nutriente no metabolismo do indivíduo. Um tipo de interação é a que ocorre entre os nutrientes, onde um nutriente afeta a utilização de outro, tornando-o mais ou menos passivo. As interações podem ocorrer em vários níveis, a saber: (a) na dieta, onde a cocção em meio alcalino limita a interação entre ferro e ácido ascórbico, ao destruir este último, por exemplo; (b) no tubo digestivo, onde mudanças na secreção gástrica, na motilidade intestinal ou na secreção de enzimas ou hormônios pancreáticos podem diminuir a potência de uma interação ou limitar o contato de nutrientes entre si com a parede intestinal, e (c) no pós absorptivo, que ocorre

durante a utilização do nutriente no armazenamento, degradação ou na excreção (Caballero, 1988).

A presença na dieta de inibidores ou promotores pode ter influência na absorção e bioconversão para a forma ativa, ou seja, para a forma funcional do elemento. Podemos citar como exemplo, os fitatos, taninos e oxalatos que podem diminuir a absorção e por outro lado, ácidos orgânicos, proteínas e alguns aminoácidos, que podem facilitar a absorção e a bioconversão (Cozzolino, 1997). É fato sabido que a concentração de um nutriente no alimento não indica seu real valor nutritivo e este alimento não é necessariamente fonte do nutriente em questão (Carrazza, 1988).

Vale ressaltar que a utilização dos carotenóides pelo organismo sofre influência de outros componentes dietéticos, tais como gorduras, proteínas, zinco e vitamina E, além de terem sua biodisponibilidade reduzida, se a ingestão de fibra, clorofila e carotenóides sem atividade vitamínica A for alta (Saunders et al., 2000).

A deficiência de ferro se associa epidemiologicamente com a deficiência de vitamina A (Caballero, 1988). Tem sido observada uma correlação direta entre retinol sérico e níveis de hemoglobina. Os resultados sugerem que a deficiência de vitamina A prejudica a mobilização de ferro das reservas e também a produção de células vermelhas, porém tem pouca influência na absorção de ferro (Lynch, 1997).

Mejia & Arroyave (1982) em sua revisão, constataram divergências sobre o efeito positivo da vitamina A na hematopoiese. Foi sugerido que a vitamina A poderia elevar a concentração de ferro férrico, tornando-o mais eficiente para a síntese de hemoglobina; porém, também foi questionado que as trocas hematológicas não estariam diretamente relacionadas com a absorção do ferro. Fundamentados em todas essas observações concluíram que o mais provável, no caso da deficiência de vitamina A, seria o ferro se acumular nos tecidos de depósito, de onde é direta ou indiretamente mobilizado pela ação desta vitamina. De fato, um dos danos patológicos na deficiência de vitamina, primeiramente registrado, tem sido a hemossiderose de fígado e baço. Se, na verdade, quando o estado nutricional de vitamina melhora, o ferro armazenado se mobiliza, isto explicaria a correlação positiva observada entre níveis séricos de retinol e ferro.

Atualmente têm-se realizado estudos que avaliam o grau de interação de polifenóis e fitatos, com o objetivo de estabelecer trocas de solubilidade e competição com a vitamina A pelo ferro.

Pesquisadores têm observado, através da cromatografia líquida de alta eficiência, de estudos espectrofotométricos e de testes de solubilidade, que durante o processo digestivo, ferro e vitamina A ou ferro e β -caroteno formam um novo produto ou complexo, que mantém o ferro solúvel a pH 6,0. O mecanismo ainda não é claro, mas estudos espectrofotométricos e de HPLC demonstraram que ocorrem interações entre a vitamina A e o ferro, e que, tanto a vitamina A quanto o seu precursor, o β -caroteno, são capazes de interferir no efeito inibitório que têm os fitatos e polifenóis na absorção do ferro não heme. Os resultados sugerem que a vitamina A se liga ao ferro liberado durante o processo digestivo e age como um agente quelante, mantendo-o solúvel no lúmen intestinal, melhorando a absorção do ferro. O β -caroteno também tem esta capacidade e é mais eficiente que a vitamina A neste ponto (García-Casal & Layrisse, 1998; García-Casal et al., 2000; García-Casal et al., 1998; Layrisse et al., 2000; Layrisse et al., 1997).

O fato se explica, devido a grande estabilidade do β -caroteno na estocagem, manipulação e mudanças de pH. Resultados desses experimentos, bem como de estudos de absorção com humanos mostraram a importância da vitamina A e do β -caroteno em aumentar a absorção de ferro, principalmente de alimentos com alta concentração de inibidores, presentes na dieta de muitos países do mundo (García-Casal et al., 1998).

Experimentos com humanos, utilizando pão fortificado com ferro marcado (^{59}Fe ou ^{55}Fe) em desjejuns, também demonstraram que a vitamina A inibe o efeito de polifenóis e parcialmente dos fitatos sobre a absorção de ferro (Layrisse et al., 2000). Pesquisadores demonstraram que a vitamina A foi responsável pelo rápido aumento no *status* de ferro da população da Venezuela. Foi mostrado que o β -caroteno também poderia aumentar a absorção de ferro de arroz, trigo e milho. A vitamina A e o β -caroteno poderiam superar a inibição de fitatos presentes em cereais e polifenóis

presentes em café (García-casal et al., 2000; García-Casal et al., 1998; Layrisse et al., 1997).

A presença de vitamina A aumentou a absorção de ferro 3 vezes em arroz, 2,4 vezes em trigo e 1,8 vezes em milho. Já o β -caroteno aumentou a absorção cerca de 3 vezes para os três cereais estudados (Layrisse et al., 2000).

2.5 O efeito da cocção

A forma de preparação dos alimentos de origem vegetal pode interferir na sua biodisponibilidade (Saunders et al., 2000).

A natureza insaturada dos carotenóides faz com que estes sejam susceptíveis à oxidação, que é acelerada pela luz e pela presença de metais pesados. Os principais fatores que afetam o β -caroteno durante o processamento e a estocagem são a oxidação por oxigênio do ar e as mudanças estruturais provocadas pela degradação por enzimas, levando à perda da cor e valor nutritivo. Durante as várias etapas do processamento, principalmente o aquecimento, as estruturas dos carotenóides podem ser quebradas expondo os pigmentos à destruição (Rodrigues, 1988; Rodriguez-Amaya, 1985; Sant'Ana, 1995).

A literatura apresenta dados conflitantes sobre o efeito do cozimento no teor de carotenóides presentes em vegetais folhosos. Enquanto alguns observam perdas, outros observam aumentos no teor de pigmentos, após o tratamento térmico (Costa & Penteado, 1996).

A degradação de carotenóides aumenta com a destruição da estrutura celular do alimento, com o aumento da superfície da área ou porosidade, em condições de processamento prolongado e severo, durante a estocagem, pela transmissão de luz e permeabilidade de oxigênio da embalagem. Congelamento, especialmente congelamento rápido e estocagem à temperatura de congelamento geralmente preservam os carotenóides (Rodriguez-Amaya, 1999a).

O aumento na concentração de carotenóides durante a cocção foi associado com perdas de sólidos solúveis (durante a lavagem e cocção) e aumento na extratibilidade química causada pela quebra do tecido no tratamento térmico. Ao contrário, perdas de

carotenóides no cozimento têm contribuído para a oxidação e isomerização de carotenóides da forma trans para a forma menos ativa cis-isômeros causado pelo longo processamento térmico (Hof et al., 2000; Mosha et al., 1995b) e à medida que aumenta a intensidade e duração do processamento térmico, aumenta a isomerização e a proporção de isômeros cis- β -caroteno nos vegetais (Rock et al, 1998; Rodriguez-Amaya, 1999a).

Alguns estudos indicam que o β -caroteno de vegetais crus é menos disponível do que de vegetais cozidos ou processados (Huang et al., 2000; Rock et al., 1998; Torronen et al., 1996).

Sabe-se que a matriz na qual o carotenóide está inserido no alimento, interfere na sua biodisponibilidade. Nas folhas verdes, os carotenóides apresentam-se nos cloroplastos como complexos de pigmento-proteína e para sua liberação, requerem a desintegração do carotenóide. Em outras hortaliças e frutas, os carotenóides, às vezes, se encontram em gotículas de gordura, das quais podem liberar-se facilmente. A cocção dos alimentos contribui para a liberação dos carotenóides, porém se for prolongada, pode causar a destruição oxidativa do mesmo (Saunders et al., 2000).

A alta dialisibilidade do ferro intrínseco no cozimento poderia não ser somente atribuído à liberação de ferro de uma forma de baixa biodisponibilidade, mas também, à geração de forte aumento ou a desativação de um inibidor da absorção do ferro. Portanto, o ferro extrínseco interage com os constituintes da planta que foram substancialmente alterados durante a cocção. Dentre eles, a fibra dietética, as proteínas e polifenóis (inibidores potenciais) e ascorbato, citrato, malato, açúcares e aminoácidos (histidina, cisteína e glicina) ou peptídeos gerados pelo aquecimento ou proteólise enzimática (potenciais facilitadores) (Kapanidis & Lee, 1995).

Toda mudança na estrutura da proteína se deve a desnaturação, que ocorre a 67-75° C, e que pode alterar o equilíbrio de ligação do ferro. Nos experimentos de Kapanidis & Lee (1995) todas as proteínas foram desnaturadas, pois os autores usaram temperatura de ebulição (100° C), e, observaram aumento na dialisibilidade de crucíferas cozidas em relação às cruas, sugerindo que a cocção poderia alterar o perfil do ferro e influenciar na dialisibilidade e na biodisponibilidade do mineral.

A proteína desnaturada pode aumentar a dialisibilidade devido ao desdobramento. O desdobramento das proteínas também as tornam mais susceptíveis a enzimas proteolíticas e causam liberações mais rápidas de produtos de digestão, aminoácidos e peptídeos, que podem aumentar a dialisibilidade por complexar o ferro com compostos de baixo peso molecular. Além de facilitar a liberação e solubilização do ferro de compostos de proteínas, predominantemente pelo ácido cítrico e secundariamente pelo ácido ascórbico e outros quelatos (Kapanidis & Lee, 1995).

O cozimento melhorou a disponibilidade do ferro e a ionização do cálcio e magnésio de 19-100 % , 18-83 % e 11-61 % , respectivamente (Adewusi & Falade, 1996).

Candela et al. (1997) observaram que a cocção por 3 horas à temperatura de ebulição, diminuiu o conteúdo de carboidratos, aumentou o conteúdo de proteínas e não alterou o conteúdo de fibras em *Phaseolus vulgaris*, porém ocorreu diminuição no conteúdo de aminoácidos, principalmente metionina, tirosina e treonina.

2.6 Composição dos alimentos

A cenoura, a abóbora e a couve são alimentos que apresentam quantidades elevadas de β -caroteno.

A cenoura apresenta de 3,32 a 7,60 mg de β -caroteno / 100g (Godoy & Rodriguez-Amaya; 1998; Pérez, 1999) e teor em equivalente de retinol de 1677,5 μ g (Saunders et al., 2000). A contribuição de outros nutrientes não é significativa.

Outra fonte de β -caroteno é a abóbora apresentando 312,5 μ g RE (Saunders et al., 2000) e teores de β -caroteno que variaram de 2,11 a 29,40 mg/100g (Godoy & Rodriguez-Amaya, 1998; Arima & Rodriguez-Amaya, 1990; Rodriguez-Amaya 1999b).

A couve é considerada importante fonte de β -caroteno contendo de 0,08 a 4,86 mg/100g (Kimura et al., 1990; Kurilich et al., 1999). Com relação aos antinutricionais presentes na couve, Mosha et al. (1995b) encontraram 0,427 % mEquivalente de catequina para taninos e 0,0027 mg/g de ácido fítico. E, em folhas desidratadas, Boaventura (1998) encontrou 0,72 % de ácido oxálico e 2,6 mg/g de ácido fítico.

Entre os alimentos fontes de ferro temos o espinafre, o ovo e o feijão.

O espinafre embora seja fonte de ferro apresenta também teor elevado de alguns antinutricionais, principalmente o ácido oxálico apresentando de 0,027 a 1,180 % (CSIR¹, 1976 citado por Bhattacharjee et al., 1998; Reddy & Malewar, 1992; Weaver et al., 1997; Wilson et al., 1992). O teor de ferro varia de 3,3 a 10,9 mg/100g (Acevedo & Bressani, 1990; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - FIBGE, 1981; Franco, 1992; Kuti & Kuti, 1999; Mendez et al., 1995; Faculdade..., 2001).

O ovo apresenta teores de ferro que variam de 2,41 a 3,20 mg/100g (FIBGE, 1981; Englert, 1998; Franco, 1992; Faculdade..., 2001). Além de ser considerado fonte de ferro apresenta, também, proteína de boa qualidade e gordura em quantidades significativas.

O feijão, importante leguminosa fonte de ferro (1,5 mg/100g), proteínas (4,77 a 25,90 mg/100g) e fibra dietética total (0,90 a 7,22 mg/100g) também apresenta teores de alguns antinutricionais, tais como taninos e ácido fítico (Acevedo & Bressani, 1990; Antunes & Sgarbieri, 1979; Berrios et al., 1999; Elpo et al., 1998; FIBGE, 1981; Franco, 1992; Maldonado & Sammán, 2000; Mendez et al., 1995; Paredes-López et al., 1986; Sammán et al., 1999; Sgarbieri al., 1979; Yáñez et al., 1989; Tabela..., 2001).

¹ CSIR The wealth of India. A Dictionary Of Indian Raw Materials & Industrial Products. Raw Materials(v. X: Sp-W) Publications & Information Directorate, CSIR, New Delhi, India, p.12-15, 1976.

3 MATERIAL & MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no laboratório de Bromatologia do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

3.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada para as misturas foi obtida do comércio local, Piracicaba, SP, em quantidades suficientes para as análises químicas. Os alimentos fontes de ferro (feijão, espinafre e ovo) e fontes de β -caroteno (cenoura, couve e abóbora) foram escolhidos por serem facilmente encontrados no mercado, por estarem disponíveis durante praticamente o ano todo e por apresentarem preços relativamente baixos. Os valores médios, em dólares (US\$), pesquisados no comércio varejista em Piracicaba-SP/Brasil, no período de ago-out/2001, foram: cenoura (Kg) 0,19; abóbora (Kg) 0,15; feijão (Kg) 0,69; couve (maço) 0,23; espinafre (maço) 0,33 e ovos (dúzia) 0,46.

3.2 Preparo das amostras

O preparo foi realizado, segundo os hábitos normais de processamento domiciliar, ou seja, todos os alimentos foram submetidos à cocção até o ponto de consumo, em utensílios de inox, utilizando-se água deionizada em todas as etapas do preparo.

3.2.1 Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)

O feijão foi lavado, deixado sob maceração e posteriormente autoclavado por 10 min a 121° C, conforme metodologia sugerida por Molina et al. (1975).

3.2.2 Espinafre (*Spinacia oleracea* L.)

As folhas foram lavadas, desprezando-se os talos, e submetidas à cocção em temperatura de ebulição, na proporção de 1:5 (espinafre:água) por 5 min. A seguir, as folhas foram drenadas e cortadas.

3.2.3 Ovo

O ovo foi submerso em água à temperatura ambiente e submetido à cocção. Após a ebulição permaneceu por mais 10 min, sendo utilizado na análise, sem a casca.

3.2.4 Cenoura (*Daucus carota* L.)

A cenoura foi lavada, descascada em raspador, cortada em tiras na espessura de 1 cm e submetida à cocção em temperatura de ebulição, na proporção de 1:5 (cenoura:água), por 20 min. Foram testados, preliminarmente, 3 tipos diferentes de cortes, em porções iguais a 100 g e espessura em torno de 1 cm, sendo: Corte tipo I: cenoura cortada em rodela; Corte tipo II: cenoura cortada em tiras e Corte tipo III: em diagonal. O tipo II, apresentou o menor tempo de cozimento.

3.2.5 Couve (*Brassica oleracea* var. *acephala* L.)

As folhas de couve foram lavadas, desprezando-se os talos, cortadas em tamanho padrão mínimo (aproximadamente 0,5 cm) e submetidas à cocção em temperatura de ebulição, na proporção 1:5 (couve:água), por 15 min.

3.2.6 Abóbora (*Cucurbita moschata* var *Baianinha* L.)

A abóbora foi lavada, cortada em cubos de aproximadamente 3 cm (desprezando-se a casca e as sementes) e submetidas à cocção em temperatura de ebulição, na proporção de 1:5 (abóbora:água), por 15 min.

3.3 Misturas

A partir das matérias-primas fontes de ferro (ovo, feijão e espinafre) e de β -caroteno (cenoura, abóbora e couve), foram obtidas 9 misturas, na proporção (1:1), sendo:

MISTURA 1 : ovo e abóbora

MISTURA 2 : espinafre e abóbora

MISTURA 3 : espinafre e couve

MISTURA 4 : ovo e couve

MISTURA 5 : espinafre e cenoura

MISTURA 6 : ovo e cenoura

MISTURA 7 : feijão e cenoura

MISTURA 8 : feijão e abóbora

MISTURA 9 : feijão e couve

Para as análises de diálise de ferro “*in vitro*” e de β -caroteno, as misturas foram homogeneizadas, acondicionadas em embalagens plásticas de polietileno e armazenadas em congelador a -18° C.

Já, para as demais análises, as misturas foram homogeneizadas, desidratadas em estufa a 55° C, moídas em moinhos de facas Marca Marconi modelo especial 60 ciclos, peneiradas a 60 “mesh”, acondicionadas em embalagem plástica de polietileno e mantidas refrigeradas à aproximadamente 11° C. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

3.4 Composição centesimal

As análises de proteína bruta, extrato etéreo e cinza foram realizadas na matéria seca, de acordo com a metodologia indicada pela Associação Oficial de Química Analítica - AOAC (1995), ou seja:

- Para a obtenção da matéria seca, as amostras foram submetidas à secagem em estufa regulada a 105° C, até peso constante (aproximadamente 14hs.), sendo a umidade obtida por diferença;

- O teor de proteína foi determinado pela quantificação do nitrogênio total da amostra, utilizando-se o destilador microkjeldahl, sendo que no cálculo da conversão do nitrogênio em proteínas, utilizou-se o fator 6,25.
- O conteúdo de extrato etéreo foi obtido através da extração com éter etílico em extrator de Soxhlet, onde, após a extração e recuperação do solvente foi determinado gravimetricamente a quantidade de extrato etéreo presente, por diferença de peso no tubo;
- A determinação da fração cinza se deu por incineração das amostras em mufla à temperatura de 600° C por 4 horas;
- Os carboidratos digeríveis foram obtidos por diferença;

Para a obtenção da fibra dietética total foi utilizado o método proposto por Asp et al. (1983), que emprega as enzimas α -amilase para promover a hidrólise do amido e pepsina, seguidas de pancreatina para a degradação da proteína.

3.5 Fatores antinutricionais

3.5.1 Ácido oxálico

O ácido oxálico foi determinado pelo método de Moir (1953), onde a amostra foi colocada em solução 0,25 N de HCl a 70° C , depois filtrada. Após resfriamento a 10° C (banho de gelo) e adição de reagente de precipitação com agitação, a amostra manteve-se refrigerada por cerca de 12h, onde posteriormente foi centrifugada, descartando-se o sobrenadante e dissolvendo-se o precipitado em solução HCl 0,25 N e novamente resfriada a 10° C com adição de reagente de precipitação com agitação e novamente resfriada ($\approx$ 12h). Em seguida, foi centrifugada, desprezando-se o sobrenadante e lavando o precipitado com solução de lavagem, centrifugada novamente, descartando-se o sobrenadante. O tubo com o precipitado foi seco a 100° C por 30 min, dissolvido em H₂SO₄ 2 N, aquecido e titulado em KMnO₄ 0,02 N em microbureta até a persistência da cor rosa claro.

Para a obtenção do conteúdo de ácido oxálico, multiplicou-se o volume gasto (em ml) por 1,80:

$$\text{Volume (ml)} \times 1,80 = \% \text{ de ácido oxálico}$$

3.5.2 Taninos

Os taninos foram analisados segundo a metodologia descrita por Price et al. (1980), através da extração com metanol com posterior reação colorimétrica com solução de vanilina e leitura a 500 nm em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640, obtendo-se assim a concentração de taninos a partir de uma curva padrão de catequina, sendo os resultados expressos em % mEquivalente de catequina.

3.5.3 Ácido fítico

O teor de ácido fítico nas amostras foi determinado segundo o método descrito por Grynspan & Cheryan (1989), onde as amostras foram digeridas com solução de HCl 0,65 N e eluídas através de resina. Ao eluído adicionou-se reagente de Wade e após 15 min de estabilização procedeu-se a leitura a 500 nm em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640, obtendo-se assim o teor de ácido fítico a partir da construção de curva padrão de ácido fítico, sendo os resultados expressos em mg de ácido fítico / g de amostra.

3.6 Minerais

Os minerais foram determinados pelo método de Sarruge & Haag (1974), sendo utilizado o ácido nítrico para a digestão nitro-perclórica das amostras a 50° C por 10 a 15 min, a 100° C até digerir todo o material e atingir a temperatura de 150° C. Após resfriamento e diluição do material com água desmineralizada, procedeu-se a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica, no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas, da ESALQ. Os comprimentos de onda utilizados para o cálcio, o cobre, o ferro, o magnésio, o manganês e o zinco, foram respectivamente: 422,7 nm, 324,0 nm, 248,3 nm, 285,2 nm, 279,5 nm e 213,9 nm. Os valores do potássio e do fósforo foram obtidos em espectrofotômetro colorimétrico.

3.7 β -caroteno

As determinações das concentrações de β -caroteno nas misturas foram baseadas no procedimento seguido por Rodriguez et al.² (1976), citados por Minazzi-Rodrigues & Penteado (1989). Este procedimento constituiu-se basicamente de uma extração seguida de saponificação e cromatografia em coluna para separação do pigmento e posterior leitura em espectrofotômetro Beckman modelo DU 640. Os resultados foram expressos em miligramas de β -caroteno por 100 g de amostra.

3.8 Diálise de ferro “*in vitro*”

A análise da diálise de ferro foi realizada segundo método proposto por Luten et al. (1996), onde as amostras foram homogeneizadas em água deionizada. Em seguida, adicionou-se HCl 6 N até que o pH atingisse o valor 2, na sequência adicionou-se HCl 0,01 N até que se completasse o volume à 100 ml. Então, foi realizada digestão com adição de solução HCl-pepsina e incubação a 37° C com agitação por 2 h. Foi medida a acidez titulável, adicionando solução pancreatina-bile e titulado com KOH 0,5 N até pH 7,5. A partir do volume de KOH titulável, fez-se uma diluição do mesmo volume de NaHCO₃ 0,5 N.

A diálise foi realizada colocando o digerido em sacos de diálise, sendo acrescentado 3 vezes o volume de NaHCO₃ 0,5 N de modo que o digerido ficasse submerso. Os frascos foram então cobertos e agitados durante 30 min a 37° C. Adicionou-se suspensão de bile pancreatina, seguindo ainda a incubação por mais 2h. O conteúdo do dialisável foi completado à 25 ml, com água deionizada. Foram pipetados 5 ml do dialisado para tubo de centrífuga e adicionado solução precipitante de proteína. Ao sobrenadante, adicionou-se solução cromogênica sendo misturados vigorosamente. Após 10 min, foi realizada a leitura a 533 nm em espectrofotômetro Beckman modelo

² RODRIGUEZ, D.B.; RAYMUNDO, L.C.; LEE, T.C.; SIMPSON, K.L.; CHICHESTER, C.D. Carotenoids pigments changes in ripening Momordia Charanta fruits **Annal of Botany**, v.40, p.614-24, 1976.

DU 640. A quantidade de ferro dialisado foi obtida através da utilização de uma curva padrão previamente preparada.

3.9 Análise Estatística

O delineamento experimental empregado foi inteiramente ao acaso, com três repetições por tratamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância, com teste F. Obtendo-se significância no teste F ao nível de 5%, prosseguiu-se a análise estatística dos dados com a aplicação do teste de Tukey. As análises foram realizadas pelo programa estatístico SAS (Statistical Analysis System, 1996). Em adição a isso, foram realizadas, para se verificar o efeito de cada componente na disponibilidade do ferro, correlações entre os dados, ao nível de 5% (Gomes, 1981).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para efeito de comparação, foram utilizados os valores registrados na literatura para cada alimento, sendo que o cálculo baseou-se na média dos alimentos componentes da mistura em questão, de modo a representar uma mistura na proporção 1:1 semelhante às estudadas.

4.1 Composição centesimal

Os resultados obtidos nas análises de umidade, extrato etéreo, cinza, proteína, carboidrato e fibra dietética total são apresentados nas figuras 1 a 6, respectivamente.

M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora M9= feijão e couve; valores representam a média de 3 amostras analisadas; letras diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$)

Figura 1 - Teor de umidade (g/100g), em base úmida.

Na análise de umidade, ou voláteis a 105° C, as misturas M1, M2, M3, M4, M5, M8 e M9 apresentaram resultados concordantes com os da literatura (Bub et al., 2000; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; FIBGE, 1981; Mosha et al, 1995a; Mendez et al., 1995; Talcott & Howard, 1999).

Já, alguns autores (Antunes & Sgarbieri, 1979; Berrios et al., 1999; Bub et al., 2000; FIBGE, 1981; Elpo et al., 1998; Maldonado & Sammán, 2000; Mendez et al., 1995; Mosha & Gaga, 1999; Mosha et al., 1995a; Ortega et al., 1976; Paredes-López et al., 1986; Sammán et al., 1999; Talcott & Howard, 1999; Yáñez et al., 1989) encontraram teores inferiores de umidade para as misturas M3, M6, M7 e M8 e teor superior para a mistura M9 (Berrios et al., 1999; Elpo et al., 1998; Mosha & Gaga, 1999; Ortega et al., 1976; Yáñez et al., 1989).

O teor de umidade nos alimentos pode ser afetado por fatores que englobam o cultivar, as condições de armazenamento, a época do ano, a idade da planta e o tempo de cocção. Com relação à disponibilidade de ferro, não foram encontrados dados que relacionassem o teor de umidade com a absorção do ferro. A análise da umidade é a primeira da composição centesimal e é a base para as outras determinações (Silva, 1981).

M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora M9= feijão e couve; valores representam a média de 3 amostras analisadas; letras diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$)

Figura 2 - Teor de extrato etéreo (g/100g), em base úmida.

As gorduras ou lipídios são substâncias insolúveis em água, mas solúveis no éter, clorofórmio, benzeno e outros solventes orgânicos. O grupo inclui as gorduras e muitos outros compostos intimamente ligados ou associados, como por exemplo, fosfatídeos, esteróis, clorofila, óleos voláteis, resina (Silva, 1981).

Pela figura 2, pode-se observar que as misturas M1, M4 e M6 apresentaram os maiores teores de extrato etéreo, justamente as amostras com ovo em sua composição.

Na análise de extrato etéreo, os teores das misturas M1, M2, M3, M5, M6, M7, M8 e M9 apresentaram-se concordantes com a literatura (Candela et al., 1997; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; FIBGE, 1981; Englert, 1998; Franco, 1992; Kuti & Kuti, 1999; Mendez et al., 1995; Mosha & Gaga, 1999; Sammán et al., 1999).

Porém, alguns autores registraram teores inferiores de extrato etéreo para as misturas M1, M2, M3, M4, M8 e M9 (Antunes & Sgarbieri, 1979; Berrios et al., 1999; Cotterill et al., 1978; Fernandez et al., 1998; Gupta & Wagle, 1988; Maldonado & Sammán, 2000; Mosha & Gaga, 1999; Mosha et al., 1995a; Ortega et al., 1976;

Sammán et al., 1999; Sgarbieri et al., 1979); e, outros, teores superiores para as misturas M4, M5, M7 e M8 (Berrios et al., 1999; Candela et al., 1997; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; FIBGE, 1981; Englert, 1998; Franco, 1992; Mendez et al., 1995; Mosha et al., 1995a; Ortega et al., 1976; Sgarbieri et al., 1979).

Autores demonstraram a importância da gordura na absorção da provitamina A e mostraram que a deficiência de vitamina A estava ligada ao baixo teor de gordura (7 %) na dieta. A absorção aumentou de 5 a aproximadamente 50 %, com conseqüente acréscimo no nível de vitamina A no soro, quando a dieta foi suplementada com gordura (Roels et al., 1963).

Figura 3 - Teor da fração cinza (g/100g), em base úmida.

Cinza ou resíduo mineral fixo é o produto que se obtém após o aquecimento da amostra, à temperatura de 500 a 600° C até a combustão total da matéria orgânica (Silva, 1981).

Na análise da fração cinza, pode-se ter uma indicação da riqueza mineral das amostras. As misturas M1, M2, M3, M4, M5, M7 e M8 apresentaram teores

concordantes com os da literatura (Cotterill et al., 1978; FIBGE, 1981; Mendez et al., 1995; Mosha & Gaga, 1999). Alguns autores discordaram do resultado obtido neste estudo, encontrando teores superiores para as misturas M1, M2, M3, M5, M6, M7, M8 e M9 (Candela et al., 1997; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; Cotterill et al., 1978; FIBGE, 1981; Gupta & Wagle, 1998; Mendez et al., 1995; Mosha & Gaga, 1999; Mosha et al., 1995a; Ortega et al., 1976; Sgarbieri et al., 1979) e inferiores para a mistura M8 (Antunes & Sgarbieri, 1979; Fernandez et al., 1998; Maldonado & Sammán, 2000; Sammán et al., 1999). Em alimentos, o teor de cinza varia de 0 a 1 %.

Figura 4 - Teor de proteína (g/100g), em base úmida.

Com relação à proteína é importante observar que as proteínas e os aminoácidos interagem na biodisponibilidade do ferro, fazendo com que seja aumentada a absorção do ferro não heme (Caballero, 1988). Pode-se observar, pela figura 4, que as misturas M1, M4 e M6, com ovo como componente, apresentaram o maior teor de proteína. A proteína é considerada um fator facilitador da absorção do ferro.

As amostras M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 e M9 apresentaram-se semelhantes com a literatura (Berrios et al., 1999; Candela et al., 1997; CSIR, citado por Bhattacharjee et al., 1998; Cotterill et al., 1978; FIBGE, 1981; Englert, 1998; Franco, 1992; Gupta & Wagle, 1988; Kuti & Kuti, 1999; Mendez et al., 1995; Mosha et al., 1995a; Mosha & Gaga, 1999; Ortega et al., 1974; Ortega et al., 1976; Sgarbieri et al., 1979); porém para as misturas M2, M3, M4, M5, M7, M8 e M9 alguns autores encontraram teores superiores (Berrios et al., 1999; Candela et al., 1997; FIBGE, 1981; Franco, 1992; Kuti & Kuti, 1999; Mendez et al., 1995; Mosha et al., 1995a; Ortega et al., 1974; Ortega et al., 1976; Sgarbieri et al., 1979) e, outros (Gupta & Wagle, 1988; Mosha & Gaga, 1999), teores inferiores para a mistura M3.

A influência das proteínas vai além da absorção do ferro; ela auxilia também a absorção da vitamina A. Muitos pesquisadores chegaram à conclusão de que a absorção de β -caroteno ou a sua conversão em vitamina A é diretamente dependente da ingestão normal de proteínas. A incapacidade de crianças com deficiência protéica em converter adequadamente os precursores em vitamina é bem documentada. Caballero (1988) afirmou que a qualidade protéica afeta o ritmo da depleção das reservas hepáticas da vitamina A.

Figura 5 - Teor de fibra (g/100g), em base úmida.

A fibra dietética é conhecida como o material dos alimentos resistente à hidrólise enzimática no sistema digestivo dos vertebrados. É proveniente de alimentos de origem vegetal e é formada principalmente por: celulose, hemicelulose, pectina, gomas e lignina (Acevedo & Bressani, 1990)

Nesta análise, a literatura registrou teores inferiores de fibra dietética total para as misturas M2, M3, M5, M7, M8 e M9 (Acevedo & Bressani, 1990; Antunes & Sgarbieri, 1979; Candela et al., 1997; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; FIBGE, 1981; Fernandez et al., 1998; Gupta & Wagle, 1988; Kuti & Kuti, 1999; Mendez et al., 1995; Mosha et al., 1995a; Mosha & Gaga, 1999; Ortega et al., 1976; Sgarbieri et al., 1979; Yáñez et al., 1989); alguns autores registraram teores superiores para as misturas M2, M5, M7, M8 (Acevedo & Bressani, 1990; Candela et al., 1997; Mendez et al., 1995) e outros autores obtiveram teores semelhantes às misturas M5, M8 e M9 (Acevedo & Bressani, 1990; Candela et al., 1997; Mendez et al., 1995; Mosha & Gaga, 1999). A

presença de fibra na dieta pode influenciar negativamente a absorção intestinal de minerais, porém, este efeito não está totalmente definido (Carrazza, 1988).

M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora M9= feijão e couve; valores representam a média de 3 amostras analisadas; letras diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$)

Figura 6 - Teor de carboidrato (g/100g), em base úmida.

O conteúdo de carboidrato foi obtido por diferença, sendo que as misturas M1 e M4 possuem teores semelhantes aos da literatura (FIBGE, 1981; Franco, 1992; Mendez et al., 1995). Porém alguns autores encontraram conteúdo de carboidrato superior às misturas M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 e M9 (Berrios et al., 1999; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; FIBGE, 1981; Franco, 1992; Gupta & Wagle, 1988; Kuti & Kuti, 1999; Mendez et al., 1995; Yáñez et al., 1989).

4.2 Fatores antinutricionais

A contribuição de alguns vegetais na nutrição humana é limitada devido à presença de fatores antinutricionais que tornam certos nutrientes indisponíveis. Os

fatores antinutricionais mais comuns em vegetais são o ácido oxálico, o ácido fítico e os taninos (Mosha et al., 1995b). Pode-se observar pelas figuras 7, 8 e 9, os teores de ácido oxálico, taninos e ácido fítico, encontrados nas misturas.

Figura 7 - Teor de ácido oxálico (%), em base úmida.

O ácido oxálico é um ácido orgânico com ação cátion-quelato que torna indisponível o cálcio e o ferro (Mosha et al., 1995b). Nas análises de ácido oxálico não houve diferenças estatísticas significativas entre as misturas (Tukey, 5%), porém observa-se pela figura 7, maiores proporções nas misturas com espinafre (M2, M3 e M5). No espinafre, o alto conteúdo de oxalato, se complexa ao ferro e ao cálcio, diminuindo a biodisponibilidade destes nutrientes (Cozzolino, 1997). Os dados da literatura apontam teores de ácido oxálico no espinafre, superiores aos das misturas estudadas (Gupta & Wagle, 1988; Reddy & Malewar, 1992; Weaver et al., 1997; Wilson et al., 1992). Na couve, após 10 min de cocção doméstica, Mosha et al. (1995b) não encontraram teores de ácido oxálico.

Gupta & Wagle (1988) afirmaram que o grau de acumulação de fatores antinutricionais, em especial, o ácido oxálico, está relacionado à espécie, à parte e à idade das plantas.

M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora M9= feijão e couve; valores representam a média de 3 amostras analisadas; letras diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$)

Figura 8 - Quantidade de taninos (% mEqcatequina), em base úmida.

Os taninos pertencem à classe dos polifenóis, que apresentam como modo de ação se ligar à proteína, tornando-a insolúvel e inativando enzimas. Sabe-se que taninos formam complexos com proteínas, causando seu decréscimo (Guzmán-Maldonado et al., 2000).

Pode-se observar também pela figura 8, que as misturas com espinafre (M2 e M5) apresentaram os maiores teores de taninos e que as misturas com feijão (M7, M8 e M9) devido provavelmente à cocção das misturas, quantidades reduzidas do antinutricional. Mosha et al. (1995b) pesquisando taninos em couve cozida, encontraram teores superiores aos das misturas. Amaya et al. (1991) e Welch et al. (2000) estudando

feijões encontraram teores semelhantes enquanto que Guzmán-Maldonado et al. (2000) encontraram teores superiores aos das misturas.

Mosha et al. (1995b) concluíram que a cocção é um método recomendado para a redução de antinutricionais em vegetais, visto que em seus estudos com taninos, ácido fítico e ácido oxálico ocorreram reduções médias de 30% nos teores desses antinutricionais após 10 min de cozimento doméstico, porém os autores enfatizam a necessidade de novos estudos com relação ao tempo de cozimento.

Figura 9 - Conteúdo de ácido fítico (mg/g), em base úmida.

O ácido fítico é um ácido orgânico, com função metal quelato, que interfere na disponibilidade biológica dos minerais presentes na dieta. O ácido fítico reduz a disponibilidade dietética do cálcio, magnésio, zinco e ferro (Mosha et al., 1995b).

Os teores encontrados na literatura por Boaventura (1988), Guzmán-Maldonado et al. (2000), Mosha et al. (1995b) e Paredes-Lópes et al. (1986) são semelhantes aos obtidos nas misturas M3 e M9.

Pode-se observar pela figura 9, que as misturas M2, M7, M8 e M9 apresentaram teores mais elevados e, com exceção da M2, todas tinham como componente o feijão.

Segundo Guzmán-Maldonado et al. (2000), a presença de fatores como inibidores de proteases e ácido fítico pode afetar a digestibilidade da proteína nos feijões e que as variedades selvagens quando comparadas com as variedades cultivadas, apresentam maior quantidade de ácido fítico.

4.3 Minerais

As fontes de minerais são os alimentos vegetais e animais, onde são encontrados sob a forma de compostos orgânicos ou inorgânicos (Carrazza, 1988).

Sementes de leguminosas e vegetais têm sido fonte de proteína para a maior parte da população de países em desenvolvimento e, são, particularmente, recomendados para o aumento no consumo de proteínas e minerais, especialmente ferro, zinco, cálcio e magnésio, os quais são importantes requerimentos dietéticos (Adewusi & Falade, 1996).

Os quadros 4 e 5 apresentam a composição mineral das misturas estudadas. No quadro 4, pode-se observar os teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre e no quadro 5, os teores de cobre, ferro, manganês e zinco.

MISTURAS*	P	K	Ca	Mg	S
M1	0,94 ^a ± 0,04**	1,36 ^{a,b} ± 0,07	0,23 ^e ± 0,00	0,04 ^d ± 0,01	0,86 ^b ± 0,04
M2	0,21 ^d ± 0,01	1,29 ^{a,b} ± 0,10	0,46 ^d ± 0,01	0,13 ^b ± 0,00	0,20 ^{d,e} ± 0,01
M3	0,25 ^d ± 0,00	0,83 ^b ± 0,03	0,92 ^a ± 0,06	0,17 ^a ± 0,00	0,32 ^c ± 0,01
M4	1,00 ^a ± 0,03	0,82 ^b ± 0,00	0,62 ^c ± 0,10	0,09 ^c ± 0,01	0,93 ^a ± 0,03
M5	0,19 ^d ± 0,00	1,25 ^{a,b} ± 0,03	0,46 ^d ± 0,01	0,12 ^b ± 0,00	0,19 ^e ± 0,00
M6	0,94 ^a ± 0,05	1,18 ^{a,b} ± 0,07	0,26 ^e ± 0,02	0,03 ^d ± 0,00	0,81 ^b ± 0,02
M7	0,42 ^c ± 0,00	1,28 ^{a,b} ± 0,28	0,17 ^e ± 0,05	0,12 ^b ± 0,00	0,21 ^{d,e} ± 0,02
M8	0,44 ^c ± 0,02	1,56 ^a ± 0,48	0,17 ^e ± 0,01	0,14 ^b ± 0,01	0,25 ^d ± 0,02
M9	0,63 ^b ± 0,02	1,37 ^{a,b} ± 0,27	0,76 ^b ± 0,04	0,18 ^a ± 0,01	0,38 ^c ± 0,01

*M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora M9= feijão e couve

** média ± desvio padrão de 3 amostras analisadas; letras diferentes na vertical diferem significativamente (p ≤ 0,05)

Quadro 4 - Teores de fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e enxofre (S), em base úmida (g/Kg).

Fósforo

O fósforo é o segundo mineral mais abundante do organismo. Representa pouco mais de 1 % do peso corporal e 30 % dos minerais totais do corpo (Krause & Mahan, 1984).

Ocorreu uma variação de 0,19 (M5) a 1,00 g/Kg (M4) entre as misturas. Na literatura, os teores de fósforo apresentaram-se superiores aos das misturas M1, M2, M3, M4, M5 e M6 (Franco, 1992; FIBGE, 1981 e CSIR, 1976 citado por Bhattacharjee et al., 1998). A mistura M7 apresentou teor de fósforo semelhante aos encontrados nas tabelas de Franco (1992) e do FIBGE (1981), porém, nas mesmas tabelas registram-se valores inferiores aos das misturas M8 e M9.

Pode-se observar que as misturas M1, M4 e M6 apresentaram teores mais elevados de fósforo, provavelmente, pela presença do ovo nestas misturas.

Potássio

O potássio e o sódio são os mais importantes cátions do organismo, devido às suas funções essenciais, como, excitabilidade neuromuscular, ritmo cardíaco, regulação do pH intracelular, modulação de certas enzimas, síntese protéica e do DNA, além do crescimento celular (Carrazza, 1988). Os teores de potássio variaram de 0,82 (M4) a 1,56 g/Kg (M8).

Os valores encontrados na literatura para potássio são superiores aos obtidos nas misturas M2 e M3 (CSIR citado por Bhattcharjee et al., 1998; Kuti & Kuti, 1999; Mosha & Gaga, 1999 e Mosha et al, 1995a).

Cálcio

O cálcio é o mineral mais abundante do organismo, constituindo cerca de 2 % do peso corporal de um adulto (Carrazza, 1988). Os teores mínimo e máximo, nas misturas, foram de 0,17 (M7 e M8) e 0,92 g/Kg (M3), respectivamente.

As misturas com maior teor de cálcio foram aquelas cuja composição fazia parte a couve (M3, M4 e M9).

Os teores de cálcio registrados na tabela de Franco (1992) são superiores às misturas M1, M2, M5, M6, M7 e M8, e, inferiores às misturas M3, M4 e M9. Na tabela do FIBGE (1981), as misturas M1, M3, M4, M5, M6, M7 e M9 apresentaram-se inferiores, sendo que, a mistura M8 apresenta teor superior ao da tabela e a M2, semelhante.

Mosha et al. (1995a) registraram valor superior às misturas M1, M2 e M8; Já, Kuti & Kuti (1999) apresentaram teor semelhante à mistura M3, porém, superior às misturas M2 e M5. CSIR citado por Bhattcharjee et al. (1998) apresentaram-se semelhantes à mistura M2, inferiores à mistura M3 e superiores à mistura M5. Mosha & Gaga (1999) relataram valores semelhantes ao encontrado na mistura M3 e inferiores ao da mistura M9.

Magnésio

As misturas M1, M4 e M6, as quais tem ovo na composição, apresentaram os teores mais elevados para magnésio, sendo que, a M6 apresentou o menor teor (0,03 g/Kg), e a M9 (0,18 g/Kg), o teor mais elevado.

Os teores de magnésio para as misturas M2 e M3 apresentaram-se inferiores aos da literatura (Kuti & Kuti, 1999; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; Mosha et al., 1995; Mosha & Gaga, 1999).

Enxofre

Em termos nutricionais o enxofre é importante por fazer parte da estrutura de alguns aminoácidos sulfurados que são essenciais para a manutenção e desenvolvimento do organismo. Entre as misturas, as que tiveram a presença do ovo, apresentaram os maiores teores de enxofre. A quantidade de enxofre nas misturas variou de 0,19 (M5) a 0,93 g/Kg (M4).

MISTURAS*	Cu	Fe	Mn	Zn
M1	0,65 ^a ± 0,96**	10,31 ^{b,c} ± 0,72	0,00 ^d ± 0,00	6,25 ^b ± 0,15
M2	0,43 ^a ± 0,02	14,99 ^a ± 2,25	13,08 ^a ± 0,54	2,88 ^e ± 0,15
M3	0,21 ^a ± 0,11	6,87 ^c ± 1,81	6,13 ^{b,c} ± 2,18	3,48 ^{c,d} ± 0,22
M4	0,00 ^a ± 0,00	10,36 ^{b,c} ± 0,44	2,88 ^{c,d} ± 0,21	7,06 ^a ± 0,17
M5	0,30 ^a ± 0,14	9,31 ^{b,c} ± 2,91	9,77 ^{a,b} ± 3,10	3,22 ^{d,e} ± 0,04
M6	0,00 ^a ± 0,00	9,66 ^{b,c} ± 0,59	1,43 ^d ± 0,20	7,16 ^a ± 0,41
M7	0,28 ^a ± 0,01	9,07 ^{b,c} ± 0,23	2,62 ^{c,d} ± 0,12	3,75 ^{c,d} ± 0,08
M8	0,56 ^a ± 0,07	9,32 ^{b,c} ± 1,28	1,24 ^d ± 0,14	3,27 ^{d,e} ± 0,15
M9	0,58 ^a ± 0,01	12,30 ^{a,b} ± 0,15	3,45 ^{c,d} ± 0,17	3,99 ^c ± 0,23

*M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora M9= feijão e couve

** média ± desvio padrão de 3 amostras analisadas; letras diferentes na vertical diferem significativamente (p ≤ 0,05)

Quadro 5 - Teores de cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco(Zn), em base úmida (mg/Kg).

Cobre

Na análise do teor de cobre não houve diferenças estatísticas significativas entre as amostras (Tukey 5 %), porém, as maiores proporções concentraram-se nas misturas M1, M2, M8 e M9, ocorrendo uma variação de 0,00 (M4 e M6) a 0,65 mg/Kg (M1).

Ferro

A análise de ferro indica a quantidade do mineral presente na amostra; porém este número não indica quanto deste ferro será realmente absorvida. Sabe-se que nem todo o ferro presente no alimento ou dieta é absorvido, podendo ser total ou parcialmente utilizado pelo indivíduo.

Dependendo da presença de substâncias estimuladoras ou inibidoras em cada refeição, a absorção de ferro pode variar entre 2 a 35% (Monsen et al., 1978). Assim, as quantidades recomendadas de consumo são influenciadas por dois fatores: as necessidades individuais e a biodisponibilidade do ferro consumido (Demayer, 1989).

A literatura apontou teores superiores aos obtidos para as misturas M1, M2, M3, M4, M5, M6, M8 e M9 (CSIR, citado por Bhattacharjee et al., 1998; FIBGE, 1981; Franco, 1992; Kuti & Kuti, 1999; Mosha & Gaga, 1999 e Mosha et al., 1995a). Porém, para as misturas M7, M8 e M9 os registros foram semelhantes (FIBGE, 1981; Franco, 1992; Mosha & Gaga, 1999).

Manganês

O teor de manganês variou de 0,00 (M1) a 13,08 g/Kg (M2), sendo que maior nas misturas contendo espinafre, M2, M3 e M5.

Zinco

As misturas M1, M4 e M6 apresentaram os maiores teores de zinco, novamente, as misturas com ovo na composição.

A literatura apresentou teor de zinco superior ao das misturas M2 e M3 (Mosha & Gaga, 1999; CSIR citado por Bhattacharjee et al., 1998; Mosha et al., 1995a).

Pedrosa & Cozzolino (1993) observaram prejuízo na absorção de zinco em ratos alimentados com dieta típica do nordeste, recebendo, simultaneamente, suplemento de ferro. O prejuízo apresentou-se maior com ingestão protéica de origem vegetal. Nesse caso, as misturas estudadas contêm, em sua maior parte, proteínas vegetais; então, por analogia, julga-se que a absorção do zinco possa ser prejudicada.

4.4 β -caroteno

M1= ovo e abóbora; M2= espinafre e abóbora; M3= espinafre e couve; M4= ovo e couve; M5= espinafre e cenoura; M6= ovo e cenoura; M7= feijão e cenoura; M8= feijão e abóbora M9= feijão e couve; valores representam a média de 3 amostras analisadas; letras diferentes indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$)

Figura 10 - Teor de β -caroteno (mg/100g), em base úmida.

Os teores registrados na literatura apresentaram-se semelhantes, apenas para as misturas M1 e M8 (Arima & Rodriguez-Amaya, 1990; FIBGE, 1981; Franco, 1992; Lopes-Hernandez et al., 1993; Rodriguez-Amaya, 1999b).

Para as demais misturas, ou seja, M2, M3, M4, M5, M6, M7 e M9, foram encontrados teores inferiores aos obtidos (Arima & Rodriguez-Amaya, 1990; Bureau &

Bushway, 1986; FIBGE, 1981; Franco, 1992; Godoy & Rodriguez-Amaya, 1998; Kimura et al., 1990; Kurilich et al., 1999; Kuti & Kuti, 1999; Lopes-Hernandez et al., 1993; Mosha & Gaga, 1999; Pérez, 1999; Rodriguez-Amaya, 1999b; Saunders et al., 2000). Essas diferenças, possivelmente, sejam devidas ao procedimento analítico empregado na análise e/ou às variações no tempo e temperatura de cocção.

4.5 Diálise de ferro “in vitro”

Figura 11 - Porcentagem da diálise de ferro “in vitro” (%), em base úmida.

O método da diálise de ferro “*in vitro*” é útil para uma avaliação preliminar, sendo indicativa da biodisponibilidade relativa do elemento presente em um alimento ou dieta. Apresenta boa correlação com o método “*in vivo*” feito com seres humanos, além de apresentar como vantagens adicionais, ser mais rápido e mais barato. Baseia-se,

fundamentalmente, na simulação da digestão do alimento ou dieta, seguida de uma diálise em membrana semi-permeável.

Pode-se observar pela figura 11, que os valores mais altos nesta análise são das amostras que contêm ovo na mistura. Sabendo-se que o ovo possui aminoácidos essenciais de alto valor biológico, sendo considerado fonte de proteína de boa qualidade, já eram aguardados os altos valores observados nesta análise. Adicionado a este fato, verificou-se que existe uma correlação positiva e significativa (5 %) entre a proteína e a diálise de ferro, bem como, entre o extrato etéreo e a diálise de ferro (Gomes, 1981).

Já, com relação à fração cinza e ao teor de β -caroteno, apesar de ambos apresentarem uma correlação positiva com a diálise de ferro, esta não foi significativa ao nível de 5% (Gomes, 1981).

E, ocorreram correlações negativas e não significativas a 5% entre a diálise de ferro e os antinutricionais (ácido oxálico, taninos e ácido fítico), bem como entre a diálise e os respectivos componentes, a saber, umidade, fibra, carboidratos e teor de ferro (Gomes, 1981).

Pode-se notar que houve diferenças na disponibilidade do ferro nas diferentes misturas. Sendo que a mistura 6 (ovo e cenoura) apresentou o melhor desempenho e a mistura 5 (espinafre e cenoura), um resultado pouco apreciado. Observa-se também que, apesar das misturas M5 e M7 terem apresentado maiores concentrações de β -caroteno, com exceção da M3, foram as que apresentaram menores teores de ferro, sendo que a M5 apresentou também a menor porcentagem de diálise de ferro. Já, as misturas M1, M4 e M6 apresentaram menor quantidade de fibra, porém maior teor de ferro da diálise.

Kapanidis & Lee (1995) estudando a dialisibilidade de ferro “in vitro” de crucíferas cruas e cozidas, encontraram para couve cozida, valores entre 22,44 e 29,14% e concluíram que a alta dialisibilidade de crucíferas cozidas ou misturas contendo crucíferas cozidas sugerem que o conteúdo de ferro e a notável biodisponibilidade poderiam aumentar o ferro nutricional e que a habilidade de crucíferas cozidas em aumentar a solubilidade e a dialisibilidade do ferro extrínscico não heme pode ser importante para liberar o ferro de complexos insolúveis com proteínas, fibras, polifenóis e outros inibitórios da absorção. Isso poderia resultar em um aumento da

biodisponibilidade do ferro de alimentos considerados de pouca biodisponibilidade de ferro. Reddy & Malewar (1992) encontraram valores de biodisponibilidade de ferro em espinafre que variaram de 1,90 a 1,95%. Welch et al. (2000) encontraram variações de 53,1 a 76,2 % de ferro biodisponível (marcados intrinsicamente com ^{59}Fe) em feijões, sendo a variação, resultante do genótipo.

Welch et al. (2000) afirmaram que, aparentemente, substâncias não conhecidas ou combinações de substâncias são responsáveis pelas diferenças de biodisponibilidade encontrados em diferentes variedades de feijões. Talvez diferentes tipos de taninos tenham diferentes efeitos na biodisponibilidade de ferro.

Figura 12 – Disponibilidade do ferro e sua biodisponibilidade “relativa”.

Na figura 12, que compara a disponibilidade do ferro com a biodisponibilidade “relativa”, ou seja, a diálise, pode-se ver, claramente, que realmente um alimento ou

mistura, no caso, com alto teor de ferro disponível nem sempre apresenta uma boa biodisponibilidade.

Por exemplo, na figura 12, nota-se que a mistura M5, apesar de possuir uma quantidade razoável de ferro disponível (9,31 mg/Kg) apresenta uma biodisponibilidade muito baixa (3,39 %).

Então, fazendo um simples cálculo, levando-se em consideração o fato do ferro ter sua absorção regulada pelo organismo e, que essa absorção, por um indivíduo normal, seria em torno de 1 mg/dia, um indivíduo necessitaria comer 3,22 Kg da M5 para alcançar esse limite. Ao passo que, com a M6, que apresenta, aproximadamente, a mesma quantidade de ferro (9,66 mg/Kg), porém, uma biodisponibilidade mais alta (31,11 %), para atingir os mesmos 1 mg diários, o indivíduo necessitaria ingerir apenas 333 g, que, representa uma porção adequada e possível.

A composição dos alimentos é uma indicação muito valiosa de seu valor nutritivo, contudo não é suficiente para uma caracterização completa do alimento em estudo, do ponto de vista nutritivo. Isso porque raríssimos são os nutrientes contidos nos alimentos que se tornam disponíveis ao organismo após a ingestão. A porção disponível de qualquer nutriente é aquela que, efetivamente, é absorvida em uma forma que possa ser utilizada pelo organismo em seu metabolismo celular.

5 CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que as misturas com ovo aumentaram a disponibilidade do ferro, principalmente pelo conteúdo expressivo de proteína e extrato etéreo, e que esses dois componentes atuaram de forma mais significativa no aumento da absorção, quando comparado ao β -caroteno.

O β -caroteno não exerceu influência na redução dos antinutricionais, tão pouco no aumento da absorção do ferro.

Os resultados apontaram ainda que a proteína poderia atuar como fator coadjuvante, aumentando a absorção do ferro. E, a fibra, como fator limitante em sua absorção.

Portanto a utilização de misturas com ovo, principalmente a M6 (ovo e cenoura), na dieta de grupos populacionais carentes em ferro, bem como para outros grupos especiais, visando o aumento da absorção do ferro, é recomendada.

ANEXOS

ANEXO A - Resumo esquemático do metabolismo do ferro nos adultos. A maior parte do ferro é absorvida no duodeno e jejuno e transportado como ferro plasmático ou ligado à transferrina.

(Fonte: Mahan & Escott-Stump, 1998).

ANEXO B – Deficiência de ferro apresentando as unhas de um indivíduo adulto deficiente em ferro (abaixo), comparadas àquelas de um indivíduo normal.

(Fonte: Mahan & Escott- Stump, 1998).

ANEXO C – Deficiência de vitamina A apresentando inicialmente a hiperqueratose folicular semelhante à “pele de ganso”.
(Fonte: Mahan & Arlin, 1995).

ANEXO D – Trajeto da vitamina A para alcançar as células-alvo de um órgão.

(Fonte: Mahan & Arlin, 1995).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVEDO, E.; BRESSANI, R. Contenido de fibra dietetica y digestibilidad del nitrogeno en alimentos centroamericanos: Guatemala. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.40, n.3, p.439-451, Sep. 1990.

ADEWUSI, S.R.A.; FALADE, O.S. The effects of cooking on extractable tannin, phytate, sugars and mineral solubility in some improved Nigerian legume seeds. **Food Science and Technology International**, v.2, p.231-239, 1996.

AMAYA, H.; ACEVEDO, E.; BRESSANI, R. Efecto del recalentamiento sobre la disponibilidad de hierro y el valor nutritivo de la proteina del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) cocido. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.41, n.2, p.222-237, Jun. 1991.

ANTUNES, P.L.; SGARBIERI, V.C. Influence of time and conditions of storage on technological and nutritional properties of a dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) variety Rosinha G-2. **Journal of Food Science**, v.44, p.1703-1706, 1979.

ARIMA, H.K.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from northeastern Brazil. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.40, n.2, p.284-292, June 1990.

- ASP, N.G.; JOHANSSON, C.G.; HALLMER, H. et al. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.31, p.476-482, 1983.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16.ed. Washington: AOAC, 1995. 2v.
- AZEVEDO, L.; ARANGO, H.G.; MORENO, A.C.H. et al. Educação nutricional: o projeto nutrição na praça. **Qualidade de vida**, v.3, n.25, p.1-4, jun. 2001.
- BEARD, J.L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D.J. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutrition Reviews**, v.54, n.10, p.295-317, 1996.
- BENITEZ, M.A.; GRIJALVA, M.I.; VALENCIA, M.E. Total and soluble iron content and effect of certain inhibitors present in select varieties of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). **Journal of Agricultural Chemistry**, v.42, p.1300-1302, 1994.
- BENITO, P.; MILLER, D. Iron absorption and bioavailability: an updated review. **Nutrition Research**, v.18, n.3, p.581-603, 1998.
- BERRIOS, J.D.J.; SWANSUN, B.G.; CHEONG, W.A. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Research International**, v.32, p. 669-676, 1999.
- BHATTACHARJEE, S.; DASGUPTA, P.; PAUL, A.R. et al. Mineral element composition of spinach. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.77, n.4, p.456-458, Aug. 1998.

- BIANCHI, M.L.P; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a disponibilidade de ferro dos alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.42, n.2, p.94-100, 1992.
- BOAVENTURA, A.C. Avaliação química, protéica e biodisponibilidade de cálcio nas folhas de couve-manteiga, couve-flor e espinafre. Piracicaba, 1998. 46p. Dissertação (M.S.) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1995. 223p.
- BOUIS, H. Enrichment of food staples through plant breeding: a new strategy for fighting micronutrient malnutrition. **Nutrition Reviews**, v.54, n.5, p.131-137, May 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Área técnica de alimentação e nutrição**. <http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/carencias/index/html> (03 fev. 2002).
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. **Considerações sobre anemia nutricional**. Brasília, 1986.
- BRITISH NUTRITION FOUNDATION. **Iron nutritional and physiological significance**. London: Chapman & Hall, 1995. 186p.
- BUB, A.; WATZL, B.; ABRAHAMSE, L. et al. Moderate intervention with carotenoid-rich vegetable products reduces lipid peroxidation in men. **Journal of Nutrition**, v.130, n.9, p.2200-2206, Sep. 2000.

- BUREAU, J.L.; BUSHWAY, R.J. HPLC determination of carotenoids in fruits and vegetables in the United States. **Journal of Food Science**, v.51, n.1, p.128-130, 1986.
- BURTON, G.W. Antioxidant action of carotenoids. **Journal of Nutrition**, v.119, p.109-111, 1989.
- BURTON, B. **Nutrição humana**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1979. p.95-99: Vitamina A.
- CABALLERO, B. Interacciones entre los componentes de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.38, n.3, p.656-684, 1988.
- CANDELA, M.; ASTIASARAN, I.; BELLO, J. Cooking and warm-holding: effect on general composition and aminoacids of Kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), chickpeas (*Cicer arietinum*) and lentils (*Lens culinaris*). **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.4763-4767, 1997.
- CARPENTER, C.E.; MAHONEY, A.W. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.31, n.4, p.333-367, 1992.
- CARRAZZA, F.R. Minerais em dietas latinoamericanas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.38, n.3, p.599-621, 1988.
- CHAUD, M.V.; FREITAS, O. Compostos alternativos para o tratamento e/ou prevenção da anemia ferropriva. **Cadernos de Nutrição**, v.8, p.1-9, 1994.
- CLYDESDALE, F.M. Physicochemical determinants of iron bioavailability. **Food Technology**, v.37, n.10, p.133-144, 1983.

- COSTA, M.A.L.; PENTEADO, M.V.C. Alterações decorrentes de dois tipos de cozimento sobre os teores de carotenóides pró-vitâmicos A em escarola (*Chichorium endivia* L.). **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.32, n.2, p.95-100, jul./dez. 1996.
- COTTERRILL, O.J.; GLAUERT, J.; FRONING, G.W. Nutrient composition of commercially spray-dried egg products. **Poultry Science**, v.57, n.1, p.439-442, 1978.
- COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, v.10, n.2, p.87-98, jul./dez. 1997.
- COZZOLINO, S.M.F.; PEDROSA, L.F.C. Grupo de trabalho: biodisponibilidade de nutrientes. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p.53-56, jan./jun. 1995.
- DE ANGELIS, R.C. **Fome oculta, impacto para a população do Brasil**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 236p.
- DEMAYER, E.M. **Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care**. Genova: World Health Organization, 1989. 188p.
- ELPO, E.R.S.; FREITAS, R.J.S.; GOMES, E.C. Avaliação dos teores de ferro nos alimentos da cesta básica. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, n.1, p.65-67, 1998.
- ENGLERT, S.I. **Avicultura: tudo sobre raças, manejo e alimentação**. 7.ed. atualizada. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 1998. 238p.

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS. **Tabela brasileira de composição de alimentos:** projeto integrado de composição de alimentos. <http://www.fcf.usp.br/tabela/tbcamenu.php> (10 jul. 2001).

FAIRWEATHER-TAIT, S.J. The effect of different levels of wheat bran on iron absorption in rats from bread containing similar amounts of phytate. **British Journal of Nutrition**, v.47, p.243-249, 1982.

FAO. **Alimentação para todos**. Roma: Cimeira Mundial da Alimentação, 1996. 64p.

FAO. **Necesidades de vitamina A, hierro, folato y vitamina B₁₂**: informe de una consulta mista FAO/OMS de expertos. Roma, 1991. 121p. (Serie Estudios FAO Alimentación y Nutrición)

FAUSTO, M.A. Vitamina A e câncer. **Revista de Nutrição da PUCCAMP**, v.4, n.1/2, p.154-165, jan./dez. 1991.

FERNANDEZ, Z.F.; GUERRA, N.B.; DINIZ, N.M.A. et al. Desenvolvimento de bebida láctea a base de flocos de abóbora. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, n.2, p.175-178, 1998.

FERREIRA, F.A.G. **Nutrição humana**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1993. 1291p.

FLORES, H.; CAMPOS, F.A.C.S.; SILVA, M.B.M. et al. Enriquecimento de alimentos: presente e futuro. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.1, p.49-55, jan./jun.1996.

FOOD AND NUTRITION BOARD/NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Recommended dietary allowances**. 10.ed. Washington: NAS, 1989. 286p.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 8.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1992. 230p.

FUNDAÇÃO DALMO GIACONETTI/EMBRAPA/UNICEF. **Encontro de trabalho sobre estratégias e planos de ação para a fortificação de alimentos no Brasil (vitamina A, ferro, iodo)**. Brasília, 1997. (Relatório final)

FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estudo Nacional de Despesa Familiar**. Tabela de Composição de Alimentos. 2.ed. Rio de Janeiro: FIBGE, 1981. 213p.

GARCÍA-CASAL, M.N.; LAYRISSE, M. Absorción del hierro de los alimentos: papel de la vitamina A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, n.3, p.191-195, 1998.

GARCÍA-CASAL, M.N.; LAYRISSE, M.; SOLANO, L. et al. Vitamin A and β -carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. **Journal of Nutrition**, v.128, n.3, p.646-650, Mar. 1998.

GARCÍA-CASAL, M.N.; LEETS, I.; LAYRISSE, M. β -carotene and inhibitors of iron absorption modify iron uptake by caco-cells. **Journal of Nutrition**, v.130, n.1, p.5-9, Jan. 2000.

GARDNER, G.; HALWEIL, B. Fugindo da fome, fugindo do excesso. **World Watch**, v.13, n.4, p.24-35, 2000.

GARRETT, D.A.; FAILLA, M.L. SARAMA, R.J. Development an in vitro digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.10, p.4301-4309, Oct. 1999.

- GEIL, P.B.; ANDERSON, J.W. Nutrition and health implications of dry beans: a review. **Journal American Clinical Nutrition**, v.13, n.6, p.549-558, 1994.
- GILLOOLY, M.; BOTHWELL, T.H.; CHARLTON, R.W. et al. Factors affecting the absorption of iron from cereals. **British Journal of Nutrition**, v.51, p.37-46, 1984.
- GODOY, H.T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Occurrence of *cis* isomers of provitamins A in Brazilian vegetables. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v.46, n.8, p.3081-3086, Aug. 1998.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 9.ed. Piracicaba: Nobel, 1981. 130p.
- GORDON, D.T.; CHAO, L.S. Relationship of components in wheat bran and spinach to iron bioavailability in the anemic rat. **Journal of Nutrition**, v.114, p.526-535, 1984.
- GOYCOOLEA, F.; MEJÍA, E.G.; BARRÓN, J.M. et al. Efecto de los tratamientos caseros en la preparación de frijol Pinto (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre el contenido de taninos y valor nutritivo de las proteínas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.40, n.2, p.263-274, 1990.
- GRYNSPAN, F.; CHERYAN, M. Phytate-calcium interactions with soy protein. **Journal of The American Oil Chemists Society**, v.66, n.1, p.93-97, 1989.
- GUPTA, K. & WAGLE, D.S. Nutritional and antinutritional factors of green leafy vegetables. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.36, p.472-474, 1998.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiología médica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 1014p.

GUZMÁN-MALDONADO, S.H.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; PAREDES-LÓPEZ, O. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, n.13, p.1874-1881, Oct. 2000.

HALLBERG, L. Bioavailability of dietary iron in man. **Annual Review Nutrition**, v.1, p.123-147, 1981.

HOF, K.H.; WEST, C.E.; WESTSTRATE, J.A. et al. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **Journal of Nutrition**, v.130, n.3, p.503-506, Mar. 2000.

HUANG, C.J.; TANG, Y.L.; CHEN, C.Y. et al. The bioavailability of β -carotene in stir-or deep-fried vegetables in men determined by measuring the serum response to a single digestion. **Journal of Nutrition**, v.130, n.3, p.534-540, Mar. 2000.

JACQUES, P.; CHYLACK, L.T. Epidemiologic evidence of a role for the antioxidant vitamins and carotenoids in cataract prevention. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, p.352-355, 1991.

KAPANIDIS, A.N.; LEE, T.C. Heating cruciferous vegetables increases in vitro dialyzability of intrinsic and extrinsic iron. **Journal of Food Science**, v.60, n.1, p.128-131, Jan./Feb. 1995.

KIMURA, M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; GODOY, H.T. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. **Food Chemistry**, v.35, p.187-195, 1990.

KRAUSE, M.V.; MAHAN, L.K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 7.ed. São Paulo: Roca, 1994. 981p.

- KRINSKY, N.Y. Effects of carotenoids in cellular and animal systems. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, p.238-246, 1991.
- KROMHOUT, D. Essential micronutrients in relation to carcinogenesis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.45, p.1361-1367, 1987.
- KURILICH, A.C.; TSAU, G.J.; BROWN, A. et al. Carotene, tocopherol and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, v.47, n.4, p.1576-1581, Apr. 1999.
- KUTI, J.O.; KUTI, H.O. Proximate composition and mineral content of two edible species of *Cnidoscolus* (tree spinach). **Plant Foods for Human Nutrition**, v.53, n.4, p.275-283, 1999.
- LATUNDE-DADA, G.O.; NEALE, R.J. Review: availability of iron from foods. **Journal of Food Technology**, v.21, p.255-268, 1986.
- LAYRISSE, M.; GARCÍA-CASAL, M.N.; SOLANO, L. et al. The role of vitamin A on the inhibitors of nonheme iron absorption: preliminary results. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.8, n.2, p.61-67, Feb. 1997.
- LAYRISSE, M.; GARCÍA-CASAL, M.N.; SOLANO, L. et al. Iron bioavailability in humans from breakfasts enriched with iron bis-glycine chelate, phytates and polyphenols. **Journal of Nutrition**, v.130, n.9, p.2195-2199, Sep. 2000.
- LONNERDAL, B; SANDBERG, A.S.; KUNZ, C. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rate. **Journal of Nutrition**, v.119, n.2, p.211-214, 1980.

- LOPEZ-HERNANDEZ, J.; VAZQUEZ-ODERIZ, L.; VAZQUEZ-BLANCO, E. et al. HPLC determination of major pigments in the bean *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, n.10, p.1613-1615, 1993.
- LUTEN, J.; CREWS, H.; FLYNN, A. et al. Interlaboratory trial on the determination of the in vitro iron dialysability from food. **Journal of Food Science Food Agriculture**, v.72, n.4, p.415-424, 1996.
- LYNCH, S.R. Interaction of iron with other nutrients. **Nutrition Reviews**, v.55, n.4, p.102-110, 1997.
- LYNCH, S.R.; BAYNES, R.D. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for iron dietary recommendations. **Journal of Nutrition**, v.126, n.9, p.2404S-2409S, 1996. Supplement.
- MAHAN, L.K.; ARLIN, M.T. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 8.ed. São Paulo: Roca, 1995. 957p.
- MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause**: alimentos, nutrição e dietoterapia. 9.ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.
- MALDONADO, S.; SAMMÁN, N. Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.50, n.2, p.195-199, 2000.
- MEJÍA, L.A.; ARROYAVE, G. La interrelación biológica entre vitamina A y hierro. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.32, n.1, p.32-37, Mar. 1982.

- MENDEZ, M.H.M.; DERIVI, S.C.N.; RODRIGUES, M.C.R. et al. **Tabela de composição de alimentos**. Niterói: Editora da Universidade Federal Fluminense, 1995. 39p.
- MINAZZI-RODRIGUES, R.S.; PENTEADO, M. de V.C. Carotenóides com atividade pró-vitáminica A em hortaliças folhosas. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.25, n.1, p.39-52, jan./jun. 1989.
- MITCHELL, H.S.; RYNBERGEN, H.J.; ANDERSON, L. et al. **Nutrição**. 16.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1978. p.76-82: Vitamina A.
- MOIR, K.W. Determination of oxalic acid in plant Queensland. **Journal of Agriculture Science**, v.10, n.1, p.1-3, Mar. 1953.
- MOLINA, M.R.; FUENTE, G. de la; BRESSANI, R. Interrelationships between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and others characteristics of the black bean (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Food Science**, v.40, p.587-591, 1975.
- MONSEN, E.R.; HALLBERG, L.; LAYRISSE, M. et al. Estimation of available dietary iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.31, p.134-141, 1978.
- MORCK, T.A.; LYNCH, S.R.; COOK, J.D. Inhibition of food iron absorption by coffee. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.37, p.416-420, 1983.
- MORRIS, E.R.; ELLIS, R. Isolation of monoferric phytate from wheat bran and its biological value as an iron source to the rat. **Journal of Nutrition**, v.106, p.753-760, 1976.

MOSHA, T.C.; GAGA, H.E. Nutritive value and effect of blanching on the trypsin and chymotrypsin inhibitor activities of selected leafy vegetables. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.54, p.271-283, 1999.

MOSHA, T.C.; PACE, R.D.; ADEYEYE, S. et al. Proximate composition and mineral content of selected Tanzanian vegetables and the effect of traditional processing on the retention of ascorbic acid, riboflavin and thiamine. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.48, p.235-245, Oct. 1995a.

MOSHA, T.C.; GAGA, H.E.; PACE, R.D. et al. Effect of blanching on the content of antinutritional factors in selected vegetables. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.47, p.361-367, Oct. 1995b.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE/NATIONAL RESEARCH COUNCIL.
Recommended dietary allowance. 9.ed. Washington: NAS, 1980. 185p.

NUTRIÇÃO durante todo o ciclo de vida: 4º. relatório da situação nutricional do mundo.
Qualidade de vida, v.2, n.15, p.1-4, ago. 2000.

OLIVEIRA, J.D.E.; SANTOS, A.C.; WILSON, E.D. **Nutrição básica**. São Paulo: Editora Sarvier, 1989. 286p.

ORTEGA, M.L.; RODRÍGUEZ, C.; HERNANDEZ, E. Análisis bioquímico exploratorio de grano de los genotipos de *Phaseolus vulgaris* e *P. coccineus* cultivados en Mexico. **Fitotecnica Latinoamericana**, v.10, p.70-74, 1974.

ORTEGA, M.L.; RODRIGUEZ, C.; HERNÁNDEZ, E. Analisis quimico de 68 genotipos del genero *Phaseolus* cultivados en Mexico. **Agrociência**, v.24, p.23-42, 1976.

- PAREDES-LÓPEZ, O.; MONTES-RIBERA, R.; GONZÁLEZ-CATAÑEDA, J. et al. Comparison of selected food characteristics of three cultivars of bean *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Food Technology**, v.21, n.4, p.487-494, 1986.
- PEDROSA, L.F.C.; COZZOLINO, S.M.F. Efeito da suplementação com ferro na biodisponibilidade de zinco em uma dieta regional do nordeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.27, n.4, p.266-270, 1993.
- PÉREZ, J.F.C. Prioridades de investigaciones en el campo de carotenoides en Venezuela. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.49, n.3, p.103S-107S, 1999. Supplement.
- PRICE, M.L.; HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. Tannin content of cowpeas, chickpeas, pigeonpeas and mung beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.28, n.2, p.459-461, 1980.
- PRYOR, W.A. The antioxidant nutrients and disease prevention – what do we know and what do we need to find out? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, p.391-393, 1991.
- PROULX, W.R.; WEAVER, C.M.; BOCK, M.A. Trypsin inhibitor activity and tannin content do not affect calcium bioavailability of three commonly consumed legumes. **Journal of Food Science**, v.58, n.2, p.382-384, 1993.
- REDDY, N.S.; MALEWAR, V.G. Bio-availability of iron from spinach (*Spinacia oleracea*) cultivated in soil fortified with graded levels of iron. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.42, p.313-318, Oct. 1992.
- REINHOLD, J.G.; GARCIA, L.J.S.; GARZON, P. Binding of fiber of wheat and maize. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.34, p.1384-1391, 1981.

ROBERTSON, J.M.; DONNER, A.P.; TREVITHICK, J.R. A possible role for vitamins C and E in cataract prevention. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.53, p.346-351, 1991.

ROCK, C.L.; LOVALVO, J.L.; EMENHISER, C. et al. Bioavailability of β -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. **Journal of Nutrition**, v.128, n.5, p.913-916, May 1998.

RODRIGUES, R.S.M. Carotenóides com atividade pró-vitáminica A de hortaliças folhosas e suas alterações com o cozimento. São Paulo, 1988. 140p. Dissertação (M.S.) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.49, n.3, p.38S-47S, 1999a. Supplement.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Latin american food sources of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.49, n.3, p.74S-84S, 1999b. Supplement.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Os carotenóides como precursores de vitamina A. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.4, p.227-242, out./dez. 1985.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; AMAYA-FARFÁN, J. Estado actual de los métodos analíticos para determinar provitamina A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.42, n.2, p.180-191, 1992.

- ROELS, O.A.; DJAENI, S.; TROUT, M. et al. The effect of protein and fat supplements on vitamin A: deficient Indonesian children. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.12, p.380-387, 1963.
- RONCADA, M.J.; WILSON, D.; MAZZILLI, R.N. et al. Hipovitaminose A em comunidade do estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, n.15, p.288-349, 1981.
- SAMMÁN, N.; MALDONADO, S.; ALFARO, M.E. et al. Composition of different bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) of northwestern Argentina (Region NOA: cultivation zone influence). **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.7, p.2685-2689, July 1999.
- SANDSTEAD, H.H.; LOFGREN, P.A. Introduction symposium: dietary zinc and iron-recent perspectives regarding growth and cognitive development. **Journal of Nutrition**, v.130, p.345-346, 2000. Supplement.
- SANT'ANA, H.M.P. Efeito do método de preparo sobre a estabilidade de carotenóides em cenoura (*Daucus carota* L.). Viçosa, 1995. Dissertação (M.S.) - Universidade Federal de Viçosa.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1974. 56p.
- SAUNDERS, C.; RAMALHO, A.; ACCILY, E. et al. Utilização de tabelas de composição de alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.50, n.3, p.237-242, 2000.

- SGARBIERI, V.C.; ANTUNES, P.L.; ALMEIDA, L.D. Nutritional evaluation of four varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, v.44, p.1306-1308, 1979.
- SILVA, J.D. **Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1981. 166p.
- SILVA, M.V Mudanças no padrão nutricional da população brasileira: desnutrição e obesidade. **Notessalq**, v.7, n.8, p.7, fev. 1999.
- SLOBODIANIK, N.H. Nutrientes e inmunidadde: buenas y malas noticias. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.2, p.164-169, 1995.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **Sas/Qc software: usage and reference**. 2.ed. NC: Cary, 1996. 2v. (version 6)
- TALCOTT, S.T.; HOWARD, L.R. Chemical and sensory quality of processed carrot puree as influenced by stress-induced phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.4, p.1362-1366, Apr. 1999.
- VANNUCCHI, H.; MENEZES, E.W.; CAMPANA, O. et al. **Aplicação das recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira**. Ribeirão Preto: SBAN, 1990. 156p.
- VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G.; RONCADA, M.J. Deficiência de vitamina A e sua relação com a morbi-mortalidade infantil: aspectos epidemiológicos. **Cadernos de Nutrição**, v.8, p.10-18, 1994.

- VITAKON, P. Oxalate in vegetable amaranth (*Amaranthus gangeticus*) forms, contents and their possible implications for human health. **Journal Science Agricultural**, v.48, p.469-474, 1986.
- WAUBEN, I.P.M.; ATKINSON, S.A. Calcium does not inhibit iron absorption or alter iron status in infant piglets adapted to a high calcium diet. **Journal of Nutrition**, v.129, p.709-711, 1999.
- WEAVER, C.M.; HEANEY, R.P.; NICKEL, K.P. et al. Calcium bioavailability from high oxalate vegetables: chinese vegetables, sweet potatoes and rhubarb. **Journal of Food Science**, v.62, n.3, p.524-525, May/June 1997.
- WELCH, R.M.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S. et al. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.48, p.3576-3580, Aug. 2000.
- WILSON, C.W.; SHAW, P.E.; KNIGHT, R.J. Analysis of oxalic acid in carambola (*Averrhoa carambola* L.) and spinach by high-performance liquid chromatography. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.30, n.6, p.1106-1108, 1982.
- YÁÑEZ, E.; WULF, H.; CAFATI, C. et al. Fortificación del pan con harina de frejoles (*Phaseolus vulgaris* L.): valor nutritivo del pan fortificado. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.39, n.4, 1989.
- ZIEGLER, R.S. Vegetable, fruits and carotenoids and the risk of cancer. **Journal American Oil Chemists'Society**, v.53, p.251S-259S, 1991. Supplement.