

Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA
Departamento de Ciência de Alimentos

**TEORES TOTAIS E FRAÇÕES SOLÚVEIS DE ALGUNS
ELEMENTOS MINERAIS NUTRICIONALMENTE
IMPORTANTES EM HORTALIÇAS FOLHOSAS E EFEITO DO
COZIMENTO SOBRE SOLUBILIDADE E PERDAS**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por LUCIANE MIE KAWASHIMA e aprovada pela Comissão Julgadora em 14.02.1997.

LUCIANE MIE KAWASHIMA
Engenheira de Alimentos

Campinas, 14 de fevereiro de 1997

Lúcia Valente Soares
Profa. Dra. LÚCIA M. VALENTE SOARES

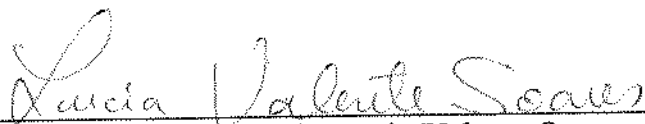
Presidente da Banca

Profa. Dra. LÚCIA MARIA VALENTE SOARES
Orientadora

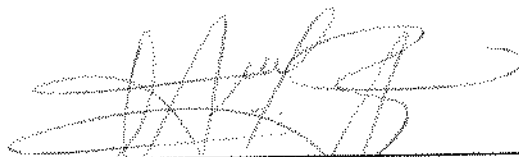
Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

CAMPINAS, SP, 1997

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Lúcia Maria Valente Soares
(Orientadora)



Prof. Dr. Nivaldo Baccan
(Membro)



Profa. Dra. Heloísa Mascia Cecchi
(Membro)

Profa. Dra. Hilary Castle de Menezes
(Membro)

Campinas,

de

de 1997.

À Shigenori, Luiza e Fábio,
pessoas essenciais em minha vida,
pela compreensão, carinho e incentivo,
dedico.

“Também, o que é que vale e o que é que não vale?
Tudo.”

(Guimarães Rosa, Grande Sertão: Veredas)

“Metade da ciência é descobrirmos as
respostas exatas; metade é formularmos
as perguntas corretas.” (Alfred Whitehead)

AGRADECIMENTOS

À todos que apoiaram e incentivaram a realização deste projeto e em particular:

À Profa. Dra. Lúcia Maria Valente Soares, pela orientação, atenção e principalmente pela especial amizade, minha eterna admiração.

Aos membros da banca examinadora pela gentileza e sugestões apresentadas.

À FAPESP e FAEP pelo suporte financeiro à realização desta pesquisa.

À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

Ao Prof. Dr. José Luiz Pereira e à Norma Teruko Miya do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP pela gentileza de concessão de uso da centrífuga.

À Walkíria Bueno Scivittaro, pesquisadora da Seção de Hortaliças do Instituto Agrônômico de Campinas, pelo auxílio inestimável na identificação das hortaliças.

Aos funcionários da Biblioteca, da Secretaria do Departamento de Ciência de Alimentos e da Secretaria de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, em especial à Margareth Randi Moraes.

À Ana, Regina e José Eduardo pela amizade irrestrita.

Aos amigos do Laboratório de Análise de Alimentos, pelo carinho, amizade e incentivo sempre.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
RESUMO.....	ii
SUMMARY.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Alguns Elementos Minerais Nutricionalmente Importantes.....	3
2.1.1. Cálcio.....	7
2.1.2. Magnésio.....	8
2.1.3. Sódio e Potássio.....	9
2.1.4. Ferro.....	11
2.1.5. Cobre.....	12
2.1.6. Zinco.....	14
2.1.7. Manganês.....	15
2.2. Biodisponibilidade.....	16
2.3. Hortaliças Folhosas como Fonte de Minerais.....	21
2.4. Espectroscopia de Absorção Atômica na Determinação de Minerais em Hortaliças Folhosas.....	24

2.4.1. Preparação de Amostras.....	25
2.5. Controle de Qualidade Analítico.....	28
2.6. Referências Bibliográficas.....	33
3. TEOR TOTAL DE CÁLCIO, MAGNÉSIO, FERRO, ZINCO, MANGANÊS, COBRE, POTÁSSIO E SÓDIO E SUA FRAÇÃO SOLÚVEL EM HORTALIÇAS FOLHOSAS CONSUMIDAS NO SUDESTE DO BRASIL E EFEITO DO COZIMENTO SOBRE SOLUBILIDADE E PERDAS.....	44
Abstract.....	44
Resumo.....	44
3.1. Introdução.....	45
3.2. Materiais e Métodos.....	47
3.3. Resultados e Discussão.....	50
3.4. Conclusões.....	63
3.5. Referências Bibliográficas.....	64
4. ANEXOS.....	66
4.1. Condições de operação do espectrômetro de absorção atômica para a determinação dos minerais.....	66
4.2. Limites de detecção de cálcio, cobre, ferro, potássio, manganês, magnésio, sódio e zinco.....	67
4.3. Valores médios e desvios padrão de 15 determinações realizadas com amostra de espinafre para caracterizá-la como amostra de referência.....	68

4.4. Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra de espinafre como amostra de referência.....	69
4.5. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em alface.....	77
4.6. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em alface.....	78
4.7. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em rúcula.....	79
4.8. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em rúcula.....	80
4.9. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em agrião.....	81
4.10. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em agrião.....	82
4.11. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve crua.....	83
4.12. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve crua.....	84
4.13. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve cozida.....	85
4.14. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve cozida.....	86
4.15. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em escarola crua.....	87
4.16. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em escarola crua.....	88

4.17. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em escarola cozida.....	89
4.18. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em escarola cozida.....	90
4.19. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve chinesa crua.....	91
4.20. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve chinesa crua.....	92
4.21. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve chinesa cozida.....	93
4.22. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em couve chinesa cozida.....	94
4.23. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em repolho cru.....	95
4.24. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em repolho cru.....	96
4.25. Teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em repolho cozido.....	97
4.26. Gráfico das médias do teor total e fração solúvel (base seca) dos elementos minerais em repolho cozido.....	98
4.27. Teor total de minerais (base úmida) e sólidos totais de couve crua e cozida.....	99
4.28. Fração solúvel (base úmida) e sólidos totais de couve crua e cozida.....	100

4.29. Teor total de minerais (base úmida) e sólidos totais de escarola crua e cozida.....	101
4.30. Fração solúvel (base úmida) e sólidos totais de escarola crua e cozida.....	102
4.31. Teor total de minerais (base úmida) e sólidos totais de couve chinesa crua e cozida.....	103
4.32. Fração solúvel (base úmida) e sólidos totais de couve chinesa crua e cozida.....	104
4.33. Teor total de minerais (base úmida) e sólidos totais de repolho cru e cozido.....	105
4.34. Fração solúvel (base úmida) e sólidos totais de repolho cru e cozido.....	106
4.35. Valores obtidos para a amostra de referência em cada batelada de amostras de hortaliças analisadas.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Necessidades diárias de elementos minerais para homens adultos (25-50 anos).....	5
Tabela 2.2. Fatores considerados em controle de qualidade analítico em espectroscopia de absorção atômica com atomização em chama e métodos de decomposição de amostra com ácidos para determinação de macro-elementos e elementos traço em materiais biológicos.....	30
Tabela 3.1. Determinação de zinco em amostra de referência certificada utilizando diferentes métodos de preparação de amostra.....	56
Tabela 3.2. Valores das médias e desvios padrão dos minerais determinados no material de referência preparado no próprio laboratório (espinafre).....	56
Tabela 3.3. Valores das médias e desvios padrão do teor total e fração solúvel dos elementos minerais (base úmida) e sólidos totais em hortaliças cruas e cozidas.....	57
Tabela 3.4. Média das perdas de elementos minerais devido ao cozimento em hortaliças.....	60
Tabela 3.5. Média dos desvios padrão das repetições das determinações do teor total de cada elemento mineral nas amostras cruas e cozidas.....	61
Tabela 3.6. Efeito do cozimento na solubilidade de elementos minerais em hortaliças folhosas expresso como aumento médio na fração solúvel.....	62

RESUMO

Os dados sobre alimentos consumidos no Brasil são escassos. Vegetais folhosos têm um papel importante em dietas balanceadas e podem auxiliar na suplementação da dieta de populações subnutridas. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar hortaliças folhosas, habitualmente utilizadas no Sudeste do país, quanto ao teor de oito elementos minerais importantes do ponto de vista nutricional (potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco), determinar a fração solúvel destes elementos minerais e verificar a influência do processo de cozimento sobre os teores totais e fração solúvel. O teor total e a fração solúvel de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco de sete hortaliças folhosas (alface, rúcula, agrião, couve, escarola, couve chinesa e repolho) foram determinados por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama. Quatro das hortaliças foram também cozidas por três minutos e analisadas quanto ao teor total e fração solúvel dos mesmos elementos após o cozimento. Comparação com as ingestões recomendadas pelo NCR (EUA) mostra que as hortaliças estudadas podem oferecer uma contribuição à dieta em termos de potássio, cálcio e magnésio. O cozimento das hortaliças, nas condições utilizadas no trabalho, aumenta consideravelmente a solubilidade de potássio, sódio, cálcio, magnésio, manganês e zinco. Ferro e cobre apresentam-se insolúveis, além de aparecerem em concentrações muito baixas e suas solubilidades não são afetadas pelo cozimento. Por outro lado, as perdas dos elementos minerais estudados mostraram-se insignificantes com o cozimento. Determinação da fração solúvel dos elementos minerais nas hortaliças foi capaz de oferecer mais informações sobre a disponibilidade dos mesmos que determinações de teores totais. O método empregado para determinação da fração solúvel dos elementos minerais mostrou-se simples de executar e capaz de ser aplicado a várias amostras simultaneamente. Esta é uma consideração importante quando se tem pela frente um

trabalho extenso de aquisição de dados como o que foi realizado no presente trabalho e como os que se fazem necessários nos alimentos nacionais de uma maneira geral. A variação encontrada entre amostras coletadas em diferentes épocas do ano indica a necessidade de se expressar os resultados como médias seguidas dos desvios padrão como indicação da faixa dos resultados. Os resultados do presente trabalho, de uma maneira geral, indicam que as tabelas de composição de alimentos geralmente utilizadas no Brasil são inadequadas em relação aos minerais.

SUMMARY

Data on foods consumed in Brazil are scant. Leafy vegetables play an important role in well balanced diets and may help to cover deficiencies in the diets of undernourished communities. The present work aimed at characterizing leafy green vegetables commonly consumed in the Southern part of Brazil in terms of eight important elements (potassium, sodium, calcium, magnesium, iron, manganese, copper, and zinc), to determine their soluble fractions, and to verify the effect of cooking on the total and soluble fractions. The total levels and the soluble fractions of potassium, sodium, calcium, magnesium, iron, manganese, copper, and zinc were determined by flame atomic absorption spectrometry in seven leafy vegetables widely consumed in Southern Brazil (lettuce, rucola, watercress, kale, chicory, Chinese cabbage, and cabbage). Four of the vegetables were also briefly cooked for three minutes and analyzed for the total levels and soluble fractions of the same elements. Taking the RDAs (NCR - USA) as reference values, all the vegetables examined can offer a contribution to the diet in terms of potassium, calcium and magnesium. Cooking, under the conditions described, considerably increased the solubility of potassium, sodium, calcium, magnesium, manganese and zinc. Iron and copper were not soluble, their concentrations were very low and no changes in solubility occurred after cooking. Losses due to cooking were negligible for all elements studied. The determination of the soluble fractions of the elements in the vegetables conveyed more information about the availability of the elements than the determination of their total levels. The method employed for the determination of the soluble fractions was simple and could be used for several samples simultaneously. This is an important characteristic when a extensive work on data acquisition is being contemplated such as the one accomplished in the present work and those still awaiting attention of the foods

consumed in Brazil. The variation found between samples collected at different times of the year indicates the need to express results as averages followed by the standard deviations as an indication of the range of results. The results of the present work point towards the inadequacy of the food composition tables currently used in Brazil in terms of minerals.

1. INTRODUÇÃO

Os elementos minerais formam um importante grupo de nutrientes e muitos destes elementos são essenciais na nutrição humana.

As necessidades nutricionais com relação aos minerais são muito variadas, já que desempenham papéis metabólicos diversos. Justamente pela atuação crucial que exercem em inúmeros processos biológicos, alguns ainda não totalmente elucidados, seu suprimento através de uma dieta adequada é fundamental.

A absorção de elementos minerais é influenciada por vários fatores, intrínsecos e extrínsecos à dieta. Geralmente, a maioria dos minerais não é bem absorvida de fontes vegetais em comparação com fontes de origem animal. Vários métodos “in vivo” e “in vitro” têm sido propostos para avaliar a fração de um mineral em determinado alimento que está disponível para a absorção (biodisponibilidade). Os métodos “in vitro” são baseados principalmente em medir a solubilidade do mineral frente a condições específicas que tentam reproduzir o processo seguido pelo elemento mineral no organismo. Dentre os fatores que influem na biodisponibilidade, a solubilidade é condição “sine qua non”, já que o elemento mineral deve estar disponível e portanto solúvel para poder interagir com a parede intestinal e ser absorvido.

O crescente interesse pelo consumo de uma dieta mais saudável, que inclui principalmente alimentos de origem vegetal em preterição a alimentos ricos em gordura e colesterol, torna importante o conhecimento de sua composição. Os alimentos de origem vegetal aparecem como alimentos de qualidade nutritiva superior para grupos vegetarianos. A parcela mais esclarecida da população também valoriza este tipo de alimento. Por outro lado, por apresentarem um custo menor em relação a

alimentos de origem animal, seu consumo poderia ser uma forma mais simples de aumentar o valor nutritivo da dieta de populações carentes.

As hortaliças são plantas geralmente herbáceas, cujas partes suculentas e imaturas são consumidas cruas ou cozidas. Devido à sua fragilidade e vida curta de prateleira não constam de dados sobre consumo e não é dado o merecido valor ao seu papel na dieta, por acreditar-se que seu valor nutritivo é baixo devido ao alto teor de água que possuem. Torna-se interessante conhecer a forma em que poderiam contribuir para o aumento da qualidade da dieta.

Há falta de informação documentada sobre o potencial nutritivo da maioria dos alimentos consumidos no Brasil, principalmente no que diz respeito aos elementos minerais. As tabelas de composição de alimentos trazem informações apenas sobre o conteúdo total de alguns minerais. São dados em sua maior parte compilados de determinações realizadas em outros países ou dados cujos métodos de determinação não são citados, podendo ser provenientes de metodologias antigas e já ultrapassadas. No caso específico de elementos minerais, a introdução dos conceitos de programas de segurança de qualidade e de controle de qualidade analítico ocorrido nas últimas duas décadas é fundamental para a geração de dados confiáveis.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Alguns Elementos Minerais Nutricionalmente Importantes

Atualmente, dos 26 elementos considerados essenciais à vida, excluindo-se os “orgânicos” (C, H, N, O, S) que formam a maior parte do material estrutural dos tecidos e que são os maiores componentes da dieta, restam os elementos “inorgânicos”, também denominados minerais (HAZELL, 1985; KRAUSE & MAHAN, 1985; MCKENZIE & SMYTHE, 1988).

Há, portanto, 21 minerais considerados essenciais na nutrição humana (HAZELL, 1985; KRAUSE & MAHAN, 1985) e estão divididos em dois grupos: os 6 macro minerais, necessários em maior quantidade (sódio, potássio, magnésio, cálcio, fósforo e cloro) e os 15 elementos traço (arsênio, cobalto, cromo, cobre, flúor, ferro, iodo, manganês, molibdênio, níquel, selênio, silício, estanho, vanádio e zinco) (OSBORNE & VOOGT, 1978; HAZELL, 1985).

Os minerais constituem um grupo de elementos largamente distribuídos pela natureza (OSBORNE & VOOGT, 1978; FRANCO, 1992) e dos minerais necessários ao organismo humano, todos devem ser fornecidos através da dieta (HAZELL, 1985). Estes elementos estão no organismo e nos alimentos em várias combinações físico-químicas, restando quantidades relativamente pequenas na forma individual (SCHWEDT, 1983; KRAUSE & MAHAN, 1985).

No corpo humano, os minerais estão distribuídos em várias formas: íons inorgânicos em solução, constituintes de moléculas ou ainda sais insolúveis. Estes elementos têm papéis funcionais muito variados e são necessários em quantidades também muito variadas (KRAUSE & MAHAN, 1985; MBOFUNG & ATINMO, 1987;

NRC, 1989; FRANCO, 1992). Qualquer excesso pode tornar-se prejudicial (MACKENZIE & SMYTHE, 1988; CRAVEN & REARDON, 1991).

As pesquisas em torno da importância e essencialidade dos minerais na nutrição iniciaram-se principalmente devido à relação entre a deficiência e o aparecimento de disfunções no organismo (KRAUSE & MAHAN, 1985; SGARBIERI, 1987; NRC, 1989; ARNAUD & SANCHEZ, 1990; SHILS, 1990; LUFT, 1990; DALLMAN, 1990; HEMPE, 1990; O'DELL, 1990; KEEN & ZIDENBERG-CHERR, 1990).

A partir da década de 40, comitês de especialistas foram formados com o objetivo de determinar cientificamente a quantidade ideal de cada nutriente para o organismo manter-se saudável, levando em consideração o sexo, faixa etária, atividade física e estados fisiológicos diferentes, como: gestação, lactação e crescimento. Surgiu, então, o conceito de Recomendações Nutricionais. Estas recomendações nutricionais são determinadas e depois, periodicamente revisadas para incorporar novas descobertas e interpretações científicas (NRC, 1989)

O Comitê FAO-WHO formado por especialistas da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) e Organização Mundial de Saúde (WHO) é o mais antigo de todos. Mas, desde 1943, a Comissão de Alimentação e Nutrição do Conselho Nacional de Pesquisas (NRC) dos Estados Unidos tem estabelecido e publicado Recomendações Dietéticas (RDAs - Recommended Dietary Allowances) para nutrientes (NRC, 1989).

As recomendações estabelecidas pelo NRC tem servido como modelo a muitos outros países, inclusive o Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1978), apesar da legislação brasileira não especificar claramente a ingestão recomendada para certos minerais (Tabela 2.1.).

Tabela 2.1. Necessidades diárias de minerais para homens adultos (25 - 50 anos).

Mineral	Estados Unidos (NRC, 1989)	Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1978)
Cálcio (mg)	800 ^a	800
Fósforo (mg)	800 ^a	1000 - 1500
Magnésio (mg)	350 ^a	350
Ferro (mg)	10 ^a	10 - 15
Zinco (mg)	15 ^a	-
Iodo (µg)	150 ^a	100 - 200
Selênio (µg)	70 ^a	-
Cobre (mg)	1,5 - 3,0 ^b	0,6
Manganês (mg)	2,0 - 5,0 ^b	-
Flúor (mg)	1,5 - 4,0 ^b	-
Cromo (µg)	50 - 200 ^b	-
Molibdênio (µg)	75 - 250 ^b	-
Cloro (mg)	750 ^c	-
Sódio (mg)	500 ^c	-
Potássio (mg)	2000 ^c	-

a - RDA (Recommended Dietary Allowance) ou ingestão recomendada.

b - ingestão estimada como segura e adequada, as doses superiores dos intervalos não devem ser ultrapassadas.

c - necessidade mínima estimada.

Estas recomendações baseiam-se nas informações disponíveis acerca de determinado nutriente e por enquanto, os minerais que já apresentam ingestões recomendadas são: cálcio, fósforo, magnésio, ferro, iodo, selênio e zinco (NRC, 1989). Os outros minerais têm doses estimadas como seguras, já que as informações sobre seu comportamento ainda são escassas (NRC, 1989).

Segundo o NRC (1989), mesmo com as constantes pesquisas, ainda há muita controvérsia entre as necessidades nutricionais entre os diversos países e as recomendações dietéticas adotadas também variam muito.

Os minerais atuam essencialmente em uma ampla variedade de funções fisiológicas, de estrutura de tecidos e no metabolismo de diversas enzimas. Apesar das funções individuais que desempenham, deve-se salientar que as ações no organismo ocorrem em padrões inter-relacionados (HAZELL, 1985; KRAUSE & MAHAN, 1985; FRANCO, 1992). Como exemplos, são relatados defeitos bioquímicos causados por deficiência de elementos traço na dieta (CHESTERS & ARTHUR, 1988) e interferência no metabolismo em ossos causada por desbalanços nutricionais de elementos traço (BEATTIE & AVENELL, 1992; AMAYA-FARFAN, 1994).

Os estudos aumentaram a partir do momento em que verificou-se que a deficiência de minerais era generalizada em muitos subgrupos da população e que vários fatores tanto dietéticos como não dietéticos afetavam a absorção destes minerais. PAO & MICKLE (1981) observaram que nos Estados Unidos, numa pesquisa com 37.785 pessoas, a dieta de pelo menos um terço dos indivíduos estava abaixo de 70% da RDA para cálcio, ferro e magnésio.

PENNINGTON et al. (1986) analisaram 11 minerais essenciais em 234 alimentos da dieta total dos Estados Unidos para oito subgrupos (idade/sexo) da população e também concluíram que os níveis ingeridos de cálcio, magnésio, ferro, zinco, cobre e manganês eram baixos (menos de 80% da RDA ou abaixo da faixa estimada como segura e adequada). A ingestão de sódio excedeu o máximo da faixa

estimada como segura e adequada em dois subgrupos e os níveis de potássio foram adequados em todos os subgrupos.

2.1.1. Cálcio

O cálcio está presente em quase sua totalidade (99%) nos ossos e dentes, onde age como componente estrutural e como fonte para manutenção da homeostase (NRC, 1989; ARNAUD & SANCHEZ, 1990), juntamente com o fósforo na proporção de 2:1 (SGARBIERI, 1987).

O cálcio restante está nos fluidos extracelulares e tecidos macios (NRC, 1989). Tem papel na coagulação sanguínea, função miocárdica, contração muscular e irritabilidade muscular normal. Sendo necessário também, para a integridade de várias membranas e substâncias aglutinantes intracelulares. O íon de cálcio atua na hidrólise do ATP (Adenosina Trifosfato) e é um cofator na ação catalítica de muitas enzimas (OSBORNE & VOOGT, 1978; KRAUSE & MAHAN, 1985; SGARBIERI, 1987; FRANCO, 1992).

Várias doenças estão associadas a alterações nos níveis de cálcio (SGARBIERI, 1987). Síndromes hipocalcêmicas incluem raquitismo, acidose, osteomalácia, osteoporose e Síndrome de Cushing, enquanto a hipercalcemia é acompanhada de alterações no funcionamento renal, hiperparatireoidismo, neoplasma e sarcoidose. Um decréscimo no cálcio ionizado do soro resulta em tetania, enquanto um aumento pode causar falha cardíaca ou respiratória (KRAUSE & MAHAN, 1985; PANDAY, 1988).

As maiores fontes dietéticas de cálcio são o leite e derivados (HAZELL, 1985; NRC, 1989). Os produtos de cereais e os vegetais folhosos (como couve) são também importantes contribuintes (NRC, 1989).

2.1.2. Magnésio

Do magnésio presente no corpo humano, aproximadamente 60% está nos ossos e 40% nos tecidos musculares e macios, sendo que 1% está nos fluidos extracelulares (NRC, 1989).

No interior das células a concentração de magnésio é maior do que qualquer outro mineral, com exceção do potássio (SGARBIERI, 1987).

O magnésio tem papel essencial em uma série de reações celulares (SHILS, 1990). O íon magnésio é um cofator em várias ações enzimáticas que incluem fosforilação da glicose, degradação de ácidos graxos, síntese de proteína, ativação de aminoácidos e formação de AMP (Adenosina Monofosfato) cíclico. O magnésio também participa na síntese e degradação de ADN (Ácido Desoxirribonucleico), transmissão neuromuscular e metabolismo normal do potássio e cálcio, além de ser essencial para a mobilização do cálcio nos ossos (KRAUSE & MAHAN, 1985; PANDAY, 1988).

Observações experimentais e clínicas revelaram que há uma inter-relação muito estreita entre magnésio, cálcio, paratormônio e metabolismo dos ossos (SGARBIERI, 1987; SHILS, 1990). A hipomagnesemia pode provocar hipocalcemia que só desaparecerá com a administração de magnésio como também hipocalcemia (perda de potássio) (SGARBIERI, 1987).

A deficiência de magnésio é muito rara, provavelmente porque o magnésio está amplamente distribuído nos alimentos (SHILS, 1990), especialmente nos vegetais e cereais que formam a dieta básica da maioria da população mundial (HAZELL, 1985; SGARBIERI, 1987; NRC, 1989). Nos vegetais folhosos, o magnésio está presente principalmente como átomo central da clorofila (HAZELL, 1985; SHILS, 1990) e nesses vegetais crus, isto pode significar uma proteção contra inibidores e este magnésio pode estar mais disponível para a absorção que o ligado ao ácido fítico, por exemplo (HAZELL, 1985).

Alguns estados agudos ou crônicos de doenças podem provocar depleção de magnésio, como por exemplo, alcoolismo, diabetes, disfunção renal, desordens endócrinas e desordens gastrointestinais (SHILS, 1990). A hipomagnesemia pode provocar tremor muscular e, em casos extremos, convulsões (SGARBIERI, 1987).

2.1.3. Sódio e Potássio

O sódio e o potássio estão intimamente relacionados no organismo. Estão em todos os líquidos corporais e tecidos, mas o sódio é um elemento primariamente extracelular, enquanto o potássio é principalmente intracelular (SGARBIERI, 1987; NRC, 1989).

Estão envolvidos na manutenção do equilíbrio e distribuição hídricos, na manutenção do equilíbrio osmótico, ácido-básico e irritabilidade muscular normal. O sódio é indispensável também para os fenômenos de transporte ativo de substâncias através de membranas, como por exemplo na absorção de nutrientes (SGARBIERI, 1987).

Estão amplamente distribuídos nas dietas comuns e numa pessoa saudável há pouca chance de deficiência (SGARBIERI, 1987). Os níveis de sódio naturalmente presentes nos alimentos são baixos e a maior parte do sódio da dieta é proveniente do sal (NaCl) que é adicionado aos alimentos processados, durante o preparo ou imediatamente antes da ingestão (HAZELL, 1985). Alimentos que contêm alta concentração de sódio são: azeitona, pão, queijos, linguiças, salsichas e enlatados em geral (HAZELL, 1985; SGARBIERI, 1987). No Reino Unido, os produtos derivados de cereais contribuem com cerca de 41% do total de sódio da dieta, carne e ovos com 21% e vegetais verdes com 6% (HAZELL, 1985). Vegetais crus são geralmente ricos em potássio e pobres em sódio (MARSH & KOONS, 1983; HAZELL, 1985). O leite, frutas e vegetais, particularmente os desidratados, cereais, frutas secas, melão, feijão e chocolate são também relativamente ricos em potássio (SGARBIERI, 1987).

Problemas ocorrem quando há excesso, particularmente de sódio, já que a dieta humana contém excesso de sódio em relação à potássio (HAZELL, 1985; SGARBIERI, 1987). A restrição de sódio é necessária no controle da retenção excessiva de água em diversos casos patológicos, principalmente na hipertensão, e vários aspectos fisiológicos estão relacionados às necessidades de sódio na dieta de mamíferos (MICHELL, 1989).

O íon de potássio é necessário para o metabolismo de carboidratos e proteínas, embora sua ação não esteja totalmente elucidada (SGARBIERI, 1987) e sua deficiência condicionada pode ser encontrada nas doenças renais, acidose diabética, vômitos ou diarreia excessivos e hiperfunção do córtex adrenal. O excesso pode ser um problema na insuficiência renal e na acidose grave (KRAUSE & MAHAN, 1985).

2.1.4. Ferro

O ferro é um dos nutrientes mais estudados em todo o mundo devido à comprovada deficiência que ocorre nas dietas e da demonstração que esta pode ser prevenida em grande escala (DALLMAN, 1990).

No organismo animal, ao redor de 70% do ferro está presente em macromoléculas orgânicas (hemoglobina, mioglobina e algumas proteínas e enzimas) e 26% armazenado no fígado, baço e ossos (ligado às proteínas ferritina e hemosiderina) (SGARBIERI, 1987).

O conteúdo de ferro no organismo é regulado principalmente pela quantidade absorvida pela mucosa intestinal e na deficiência de ferro, a eficiência da absorção aumenta (FINCH & COOK, 1984).

A característica mais importante do metabolismo do ferro é a sua conservação pelo organismo, já que existe uma perda diária devido principalmente à rápida renovação peculiar das células sangüíneas. O nível do balanço de ferro pode afetar estas perdas (SGARBIERI, 1987). Neste aspecto, deve-se levar ainda em consideração, quanto ao requerimento de ferro pelo organismo, outros fatores como: a mulher na idade reprodutiva, devido à perda pela menstruação; e a mulher grávida, caso em que deve haver suplementação em relação ao requerimento básico (SGARBIERI, 1987 ; NRC, 1989).

Existe uma alta incidência de deficiência ferro em muitas populações, apesar de ser um dos elementos mais abundantes da natureza e do organismo necessitar de quantidades pequenas (SGARBIERI, 1987; HURRELL & COOK, 1990; CRAIG, 1994). A deficiência de ferro é muito mais uma consequência da sua baixa biodisponibilidade do que da baixa ingestão (HAZELL, 1985).

A anemia ferropriva pode estar associada à má-absorção (FORTH & RUMMEL, 1973; KRAUSE & MAHAN, 1985; COOK et al., 1992). Mas, a deficiência de ferro é definida como qualquer redução nos níveis de estocagem fisiológica, mesmo que não seja acompanhada por anemia e esta deficiência têm efeito na performance do organismo na realização de exercícios, na função imunológica, no metabolismo da catecolamina e hormônio da tireóide e no sistema termorregulador (COOK et al., 1992). BOREL et al. (1991) demonstraram num estudo com ratos que as manifestações fisiológicas de deficiência de ferro ocorrem mesmo em graus de anemia leve a moderada.

Um excesso na absorção e deposição de ferro nos tecidos provocados por uma predisposição genética causa uma desordem metabólica denominada hemocromatose idiopática, que pode ocasionar disfunção cardíaca e do pâncreas, pigmentação da pele e em alguns casos disfunção das glândulas endócrinas, além de artrite (SGARBIERI, 1987; NRC, 1989; COOK et al., 1992). GABLE (1992) não encontrou evidências de que uma suplementação de ferro pudesse aumentar ou mesmo acelerar este tipo de manifestação.

2.1.5. Cobre

O reconhecimento da importância clínica do cobre e sua possível relação com a deficiência de ferro ainda é motivo de controvérsias. Porém, desde que foi estabelecido seu requerimento juntamente com o ferro para prevenir a anemia em animais que tem no leite a única fonte de nutrientes, sua importância na nutrição de mamíferos foi reconhecida (SGARBIERI, 1987).

O entendimento do metabolismo do cobre em humanos tem aumentado devido a pesquisas da Doença de Wilson e de estudos da Síndrome de Menkes (DELVES, 1988).

A deficiência experimental de cobre provoca nos animais uma série de distúrbios e sintomas que evidenciam a essencialidade e a importância do cobre para o metabolismo geral (SGARBIERI, 1987). Na sua deficiência, além da anemia, verifica-se também disfunções do tecido conectivo, fragilidade dos ossos, desordens cardiovasculares e um efeito profundo sobre o sistema nervoso (SGARBIERI, 1987).

O cobre é componente de todos os tecidos, está presente principalmente no fígado, cérebro, coração e rins; é constituinte de enzimas e da ceruloplasmina e eritrocupreína no sangue e pode ser parte integral da molécula de ADN (ácido desoxirribonucleico) e ARN (ácido ribonucleico) (KRAUSE & MAHAN, 1985; SGARBIERI, 1987).

A deficiência de cobre no homem, mesmo em crianças, é muito rara como resultado apenas da deficiência de cobre na dieta (SGARBIERI, 1987). Porém, em crianças deficientes em cobre, uma suplementação na dieta mostrou efeito no desenvolvimento tanto a nível de peso quanto de altura (CASTILLO-DURAN & UAUY, 1988).

Na dieta, os alimentos de origem animal, principalmente fígado, seguido por alimentos de origem marinha são as maiores fontes de cobre; nozes e sementes também têm um teor relativamente alto de cobre (NRC, 1989).

2.1.6. Zinco

O zinco tem sido foco das mais recentes pesquisas em nutrição, e isto inclui determinação dos requerimentos dietéticos e avaliação dos fatores que afetam sua absorção e metabolismo (FAIRWEATHER-TAIT, 1988; COUSINS & HEMPE, 1990). Apesar da descoberta ser relativamente recente, a deficiência de zinco em humanos é de ocorrência um tanto quanto generalizada (SGARBIERI, 1987).

Similarmente aos outros minerais, investigações sobre a desordem genética de deficiência de zinco, a acrodermatite enteropática, têm contribuído para o avanço do conhecimento do zinco nos processos bioquímicos e metabólicos.

O zinco está presente em todas as células (COUSINS & HEMPE, 1990). As maiores quantidades estão presentes no fígado, músculos esqueléticos e ossos; é constituinte de diversas enzimas e da insulina (KRAUSE & MAHAN, 1985; FAIRWEATHER-TAIT, 1988). Tem papel crítico no metabolismo de ácidos nucleicos (KRAUSE & MAHAN, 1985; SGARBIERI, 1987; FAIRWEATHER-TAIT, 1988) e das proteínas e parece que o sistema celular de imunidade fica afetado na deficiência deste mineral (SGARBIERI, 1987). A participação do zinco no metabolismo de carboidratos é evidenciada na sua deficiência (SGARBIERI, 1987).

Além do desenvolvimento, outro processo fisiológico que é profundamente afetado pela deficiência de zinco é a reprodução (THOMPSON et al., 1986; SGARBIERI, 1987; FAIRWEATHER-TAIT, 1988; COUSINS & HEMPE, 1990).). THOMPSON et al. (1986) demonstraram que a concentração de zinco aumenta significativamente conforme os estágios de desenvolvimento sexual. A deficiência de zinco parece ainda ter efeitos negativos na acuidade sensorial e olfativa de animais e humanos (SGARBIERI, 1987).

Os alimentos têm um conteúdo muito variado de zinco, mas carnes vermelhas, alguns alimentos de origem marinha e a porção embrionária de grãos são particularmente abundantes em zinco (COUSINS & HEMPE, 1990).

2.1.7. Manganês

O manganês é entre os elementos traço, o menos tóxico ao homem, nunca foi reportada intoxicação devido a ingestão excessiva na dieta. A ocorrência de deficiência também é pouco provável em seres humanos. Porém, a idéia mais recente de que possa ocorrer em subgrupos da população tem aumentado o número de estudos (KEEN & ZIDENBERG-CHERR, 1990).

É constituinte de diversos sistemas enzimáticos e abundante nas mitocôndrias de células hepáticas (KRAUSE & MAHAN, 1985; KEEN & ZIDENBERG-CHERR, 1990). O manganês ainda está envolvido no metabolismo de aminas biogênicas, fosforilação oxidativa, incorporação de acetatos aos ácidos graxos e conversão de ácido mevalônico em esqualeno na síntese de colesterol (SGARBIERI, 1987).

Exposição a poeira e fumaça industrial pode causar envenenamento crônico, caracterizado por severas lesões neurológicas no homem, semelhantes aos da doença de Parkinson (SGARBIERI, 1987).

A regulação homeostática do manganês nos animais é feita através da excreção e não pela ingestão e ocorre quase exclusivamente pelo intestino, principalmente pela bile (HAZELL, 1985; SGARBIERI, 1987).

As principais fontes de manganês na dieta são os alimentos de origem vegetal, já que os tecidos animais apresentam concentrações muito baixas deste mineral (HAZELL, 1985; SGARBIERI, 1987). Os cereais contribuem com o maior fornecimento dietético de manganês, com exceção das populações que têm o hábito da ingestão de chá, que possui alto teor de manganês na forma solúvel (HAZELL, 1985; NRC, 1989).

2.2. Biodisponibilidade

A nutrição mineral é complexa e embora seja importante a determinação de cada mineral individualmente nos alimentos (OSBORNE & VOOGT, 1978), esta informação é apenas parte da resposta que necessita-se para resolver os difíceis e bem conhecidos problemas de absorção de minerais (MERTZ, 1987; BARBERÁ & FARRÉ, 1992).

Biodisponibilidade define-se como a fração de um nutriente que é digerido, absorvido e metabolizado, por vias normais, por um organismo. Trata-se de um conceito simples porém, sua determinação não é fácil (FAIRWEATHER-TAIT, 1992). Vários autores já discutiram e revisaram a importância da biodisponibilidade como a chave para a eficiência nutricional com relação aos minerais (HAZELL, 1985; BARBERÁ & FARRÉ, 1992; FAIRWEATHER-TAIT, 1992).

Os fatores que influem na biodisponibilidade de um nutriente podem ser classificados em dois grandes grupos: os intrínsecos ou fisiológicos e os extrínsecos ou dietéticos (KRATZER & VOHRA, 1986; BARBERÁ & FARRÉ, 1992; FAIRWEATHER-TAIT, 1992).

Os fatores intrínsecos ou fisiológicos são mais complexos que os dietéticos e entre eles cabe citar: espécie animal e sua genética, idade e sexo, estado fisiológico (crescimento, manutenção, gravidez, lactação), estado nutricional, estado patológico, flora intestinal, pH dos sucos gástrico e intestinal, capacidade de adaptação a variações no fornecimento de nutrientes, estresse ambiental (KRATZER & VOHRA, 1986; BARBERÁ & FARRÉ, 1992).

A absorção de minerais pode variar de menos de 1% até mais de 90% (TURNLUND, 1991) porém, a maioria dos minerais essenciais não é bem absorvida nas dietas. Neste sentido é importante considerar-se os fatores intrínsecos ou dietéticos.

No alimento, a biodisponibilidade dos minerais é afetada pela própria fonte do nutriente (forma físico-química, interações/alterações durante o preparo/processamento, interações durante a absorção), quantidade na dieta e presença ou ausência de fatores interferentes e/ou sinérgicos (OSBORNE & VOOGT, 1978; KRATZER & VOHRA, 1986; CLYDESDALE, 1988; TURNLUND, 1991).

Quanto à forma química, o mineral pode estar na forma elementar, composto não ionizável, formas mais ou menos ionizadas (estados de ionização distintos) ou fazendo parte de complexos mais ou menos estáveis (BARBERÁ & FARRÉ, 1992).

Cálcio, ferro e zinco, minerais dos quais tem sido reportada deficiência (PAO & MICKLE, 1981, PENNINGTON et al., 1986; PENNINGTON & WILSON, 1990) ocorrem predominantemente na forma ligada, na qual freqüentemente não são absorvidos (HAZELL, 1985). Cobre e manganês estão pouco disponíveis já que também estão na forma ligada. O magnésio mesmo ocorrendo em formas complexadas é relativamente bem absorvido na dieta. O sódio e o potássio ocorrem na dieta predominantemente como íons livres, sendo quase totalmente disponíveis para serem absorvidos (HAZELL, 1985).

Das interações físico-químicas no alimento, a solubilidade e a densidade de carga são duas das mais importantes propriedades de um mineral ou de um complexo mineral que podem afetar seu potencial de biodisponibilidade (CLYDESDALE, 1988; BARBERÁ & FARRÉ, 1992). A solubilidade é de importância óbvia, já que o mineral deve estar em contato com todas as partes da mucosa intestinal para ser eficientemente absorvido; o papel da densidade de carga é menos óbvio, mas está ligado a formação de complexos (CLYDESDALE, 1988; BARBERÁ & FARRÉ, 1992).

Os experimentos “in vivo”, utilizando-se particularmente ratos e porcos numa primeira instância seguida por pesquisas em humanos, são a melhor ferramenta para se estudar a biodisponibilidade. Mas, o uso de modelos animais é dispendioso e demorado e freqüentemente são obtidos resultados com variáveis difíceis de serem interpretadas (FAIRWEATHER-TAIT, 1992; WOLTERS et al., 1993; NARASINGA RAO & PRABHAVATHI, 1994).

Com a limitação de modelos “in vivo” e dificuldade na sua manipulação, tem se notado um grande esforço no desenvolvimento de sistemas “in vitro” para avaliar a biodisponibilidade de elementos traço (FAIRWEATHER-TAIT, 1992). Os métodos “in vitro” têm ganhado popularidade devido à precisão, rapidez e custos relativamente baixos (WOLTERS et al., 1993; NARASINGA RAO & PRABHAVATHI, 1994).

A importância da solubilidade como um pré-requisito para a absorção tem sido reconhecida na nutrição do ferro por muitos anos (CLYDESDALE, 1988), como evidenciado pelo fato de que a maioria das técnicas “in vitro” (NARASINGA RAO & PRABHAVATHI, 1978; LOCK & BENDER, 1980; MILLER et al., 1981) baseiam-se na solubilidade para correlacioná-la com a biodisponibilidade (WOLTERS et al., 1993). Os resultados das análises “in vitro” são expressas como a solubilidade de um determinado elemento frente às condições do ensaio, como pH, enzimas, temperaturas e tempos de incubação (BARBERÁ & FARRÉ, 1992).

Os métodos “in vitro” consistem basicamente em um tratamento enzimático em duas etapas, a primeira com pepsina (pH 2,5) e a segunda com pancreatina e amilase (pH neutro). A solubilidade é determinada após cada etapa (BARBERÁ & FARRÉ, 1992). A separação das frações solúveis pode ser feita por filtração (NARASINGA RAO & PRABHAVATHI, 1978), diálise (MILLER et al., 1981) ou por centrifugação (CREWS et al., 1983).

SCHRICKER et al. (1981) compararam os resultados de testes “in vitro” e “in vivo” e concluíram que os testes “in vitro” fornecem dados consistentemente mais elevados que os testes em animais, já que vários fatores fisiológicos não são simulados “in vitro”. Os métodos “in vitro” podem ser muito úteis com o propósito de classificação, ou seja, para avaliar o grau relativo de biodisponibilidade de determinado mineral em alimentos diversos (SCHRICKER et al., 1981).

Como estas técnicas têm sido empregadas para um número restrito de minerais (principalmente ferro) há necessidade de desenvolvimento de técnicas novas e mais apropriadas para outros minerais (NARASINGA RAO, 1994). Alguns métodos (LYON, 1984; WOLTERS et al., 1993) têm sido propostos baseados nos métodos utilizados para o estudo de ferro.

Outros componentes da dieta que podem influenciar a absorção de minerais são: outros nutrientes (carboidratos, lipídios, proteínas, vitaminas e outros minerais) e componentes não nutritivos (fitato, oxalato, fibras, ácidos orgânicos) (TURNLUND, 1991). Ácido cítrico, ácido ascórbico, lactose e alguns aminoácidos têm efeito positivo na absorção, enquanto ácido fítico, ácido oxálico, compostos polifenólicos e fibras podem ter efeito negativo (KRATZER & VOHRA, 1986; WOLTERS et al., 1993).

Os estudos mostram o ácido fítico como potente inibidor da absorção principalmente de zinco (OBERLEAS & HARLAND, 1981; FAIRWEATHER-TAIT, 1988) e também cálcio, ferro e magnésio (REDDY et al., 1982; KRATZER & VOHRA, 1986). Outros compostos, tais como fibras, polissacarídeos, oxalatos e

compostos polifenólicos são também responsáveis por inibição (TORRE et al., 1991). SANDBERG & SVANBERG (1991) utilizaram fitase e verificaram um efeito positivo significativo na solubilidade de ferro em cereais. PERSSON et al. (1987) também utilizaram fitase em fibras solúveis com alto teor de fitato e concluíram que o fitato era o ligante ativo. Porém, é difícil separar a relação existente entre fibras, fitatos, oxalatos e taninos e seu efeito na absorção de minerais (HARLAND, 1989; TORRE et al., 1991).

O oxalato forma sais insolúveis com cálcio e magnésio impossibilitando a absorção. No entanto, efeitos benéficos foram observados na absorção de ferro e de zinco (KRATZER & VOHRA, 1986).

O pH e o potencial de redução exercem papel fundamental na formação dos complexos entre minerais e outros componentes da dieta e consequentemente na biodisponibilidade. Afetam também o grau e a força das interações de minerais com inibidores e promotores da absorção (CLYDESDALE, 1983; CLYDESDALE, 1988; SMITH, 1983; ROTH-BASSELL & CLYDESDALE, 1992). Quanto mais alto o pH, mais insolúveis são os sais minerais de fosfatos, oxalatos e carbonatos (CLYDESDALE, 1988). JAMES et al. (1978) provaram a dependência entre pH e grau de ligação de cálcio à fibras. Quanto maior o pH, maior porcentagem de cálcio ligado à fibras. SCHLEMMER (1989) também testou a influência do pH na interação entre fibras, cobre, cálcio e zinco e sugeriu que nas condições fisiológicas do intestino, a interação dos minerais com os polissacarídeos testados era muito fraca.

2.3. Hortaliças Folhosas como Fonte de Minerais

As hortaliças folhosas desempenham papel importante na dieta humana fornecendo minerais e vitaminas, porém, considera-se que as quantidades são modestas devido ao elevado teor de água presente nestes alimentos (BAWA & YADAV, 1986; GIBSON, 1994).

A composição de minerais em hortaliças foi determinada em vários países (PENNINGTON et al., 1986; AREMU & UDOESSIEN, 1990), mas ainda assim ocorrem discrepâncias entre os resultados quantitativos. Estas diferenças podem ser devido ao uso de métodos analíticos diferentes, antigos ou/e anteriores à difusão internacional do controle de qualidade analítico, além da influência de diversos fatores como cultivar, solo, localização geográfica, clima, condições de crescimento, fertilização e estágio de maturação (BAWA & YADAV, 1986).

No Brasil há tabelas de composição de alimentos que incluem alguns minerais (IBGE, 1977; FRANCO, 1992). Os dados nacionais são poucos e além de antigos são em grande parte baseados em trabalhos realizados no exterior que não enfocam variedades nacionais.

Os alimentos de origem vegetal assumem o status de alimentos de qualidade nutritiva superior nos grupos vegetarianos e na parcela da população com maior poder aquisitivo, preocupada com o consumo de dietas mais saudáveis (MCNEILL et al., 1985). Em muitos países e em alguns grupos da população (vegetarianos, macrobióticos), os alimentos de origem vegetal são a principal fonte de minerais da dieta. Em países em desenvolvimento, este consumo é visto pela população como um meio mais acessível de aumentar quantitativamente o valor nutritivo da dieta (FABOYA, 1983). Nos últimos anos, as dietas vegetarianas têm sido alvo de vários

estudos para verificar se o aporte mineral de seus consumidores não é afetado pela presença de fatores antagonistas à absorção de minerais.

Os cereais contêm geralmente um teor alto de ácido fítico, enquanto hortaliças folhosas têm baixo teor de fitato e de fibra. O espinafre verdadeiro, que geralmente não é consumido no Brasil, contém quantidades altas de ácido oxálico (HAZELL, 1985), o que inviabiliza total ou parcialmente a absorção de cálcio e magnésio. Já plantas como as *Brassicae* possuem quantidades muito baixas tanto de fitatos quanto de oxalatos e a biodisponibilidade do cálcio pode ser maior (HAZELL, 1985).

HAZELL (1985) relatou que a biodisponibilidade do cálcio proveniente de cereais e vegetais é menor que o de alimentos de origem animal porque são geralmente pobres em proteínas. RITCHEY (1981) sugeriu que alta ingestão de proteínas pode causar aumento na excreção urinária de zinco, mas isto não é tão claramente documentado como para o cálcio. Já YOUNG & JANGHORBANI (1981) estudaram a influência da proteína de soja na biodisponibilidade de ferro e zinco e sugeriram que o ferro isolado na proteína de soja é prontamente absorvido e que a fonte de proteína não reduz a biodisponibilidade do zinco na dieta. MILES (1989) também pesquisou a interação entre proteína vegetal, ferro e zinco em humanos e concluiu que é difícil determinar de maneira inequívoca a influência da proteína na absorção destes minerais.

HEANEY & WEAVER (1990) demonstraram que o cálcio presente na couve exibe excelente biodisponibilidade. PONEROS-SCHNEIER & ERDMAN, JR. (1989) verificaram a biodisponibilidade de cálcio em cereais, leite em pó desnatado e espinafre e comparado com carbonato de cálcio utilizado como controle, o espinafre mostrou a mais baixa biodisponibilidade (47%) enquanto o leite em pó desnatado teve a maior biodisponibilidade (100%); uma mistura de leite em pó e espinafre na proporção de 2:1 não demonstrou mudança significativa na biodisponibilidade de cálcio. BENWAY & WEAVER (1993), em um estudo com espinafre, trigo e couve, determinaram a solubilidade de cálcio nos três vegetais e encontraram solubilidade menor que 2% para espinafre, de aproximadamente 40% para trigo e de 70% para

couve, concluindo que no espinafre a maior parte do cálcio está na forma de oxalato e que no trigo na forma de fitato.

Em um estudo da biodisponibilidade de cálcio em espinafre, HEANEY et al. (1988) também estabeleceram que o cálcio em espinafre é conclusivamente muito menos disponível que o cálcio do leite. Mas, VAN CAMPEN & WELCH (1980) encontraram uma boa biodisponibilidade do ferro em espinafre e em um estudo com ratos, a adição de ácido oxálico não teve influência na absorção de ferro. JOHNSON et al. (1991) pesquisaram a absorção de manganês de alimentos de origem vegetal (espinafre, alface, trigo e sementes de girassol) e concluíram que a absorção em espinafre foi significativamente maior que de sementes de girassol, o maior teor de absorção do manganês proveniente de hortaliças foi explicado como sendo devido ao menor conteúdo de fibras e fitato.

CRAIG (1994) concluiu que os vegetarianos não têm uma incidência significativamente maior de anemia causada pela deficiência de ferro que os onívoros e que uma dieta bem balanceada e variada é o importante para manter o status mineral do organismo. WEAVER & PLawecki (1994) também demonstraram que os lactovegetarianos tinham um status adequado de cálcio proveniente da dieta e não tinham sua densidade óssea mineral afetada. Em uma revisão, GIBSON (1994) verificou o conteúdo e a biodisponibilidade dos elementos traço (cobre, manganês, selênio e zinco) em dietas vegetarianas e concluiu que o status destes elementos é adequado em seus consumidores, contudo, as crianças parecem ser mais vulneráveis principalmente com relação à deficiência de zinco.

Os vegetais folhosos são importantes fontes de vitamina C (ácido ascórbico) (KESHINRO & KETIKU, 1979; AJAY et al., 1980). HAZELL & JOHNSON (1987) verificaram que a adição de ácidos orgânicos à farinha de trigo aumentava a disponibilidade de ferro. HUNT et al. (1990) também verificaram que o ácido ascórbico aumentou a absorção aparente e a retenção de ferro em mulheres com deficiência de ferro. Porém, PONEROS-SCHNEIER & ERDMAN, JR. (1989), em um

estudo com ratos, verificaram que a adição de 0,4% de ácido ascórbico não mostrou efeito significativo na absorção de cálcio proveniente de cereais e espinafre.

2.4. Espectroscopia de Absorção Atômica na Determinação de Minerais em Hortaliças Folhosas

Para a determinação dos teores dos nutrientes inorgânicos em alimentos, a primeira etapa é obter os minerais na forma concentrada, separados de tantas fontes de interferência quanto possível (VAN LOON, 1980; WELZ, 1985; PRICE, 1985; HASWELL, 1991). A segunda etapa é a determinação dos elementos individualmente. Isto pode ser realizado através de técnicas eletroquímicas (polarografia, coulometria, condutometria, potenciometria, amperometria), técnicas baseadas em espectroscopia atômica (emissão, absorção, fluorescência), técnicas colorimétricas e/ou espectrofotométricas e ainda técnicas cromatográficas, complexométricas, volumétricas e gravimétricas (CUNNIFF, 1996). Para a determinação de cada elemento em diferentes matrizes há também vários procedimentos.

A partir da segunda metade da década de 60, a análise por espectroscopia de absorção atômica, técnica baseada na absorção da radiação por átomos livres, passou a ser mais utilizada devido ao aprimoramento dos instrumentos e ao fornecimento de resultados mais precisos, além da sensibilidade, simplicidade e rapidez (PRICE, 1985). Economicamente, os instrumentos de absorção atômica estão num ponto intermediário entre as técnicas que exigem instrumentos mais simples como colorímetros e balanças e técnicas multi-elementares (PRICE, 1985).

A espectroscopia de absorção atômica com atomização em chama é um método rápido e preciso e pode ser usada rotineiramente para a análise de minerais constituintes na maioria dos alimentos. Para minerais constituintes, a concentração em plantas está acima dos limites quantitativos e a compensação por interferências químicas e correção de fundo são geralmente satisfatórias (VAN LOON, 1980; WELZ, 1985; PRICE, 1985; RAINS, 1991).

A absorção atômica não oferece apenas vantagens quando comparada a outras técnicas (PRICE, 1985), a preparação de amostra, padronização, interferências e características do instrumento devem ser cuidadosamente avaliadas para cada procedimento analítico (ISAAC, 1980).

2.4.1. Preparação de Amostras

A preparação da amostra é a etapa que consome mais tempo e envolve coleta e limpeza da amostra, homogeneização e destruição do material orgânico. Esta última etapa é a que recebe maior número de estudos e vários sistemas e métodos são propostos. Basicamente, dois métodos são utilizados, a técnica da incineração ou mineralização por via seca (com diferentes temperaturas e tempos) e a da incineração ou mineralização por via úmida (digestão com ácidos como agentes oxidantes). Mais recentemente a incineração a baixa temperatura utilizando plasma também é citada, porém é muito mais dispendiosa que as outras. As técnicas não são simples e requerem cuidados na operação (CRAVEN & REARDON, 1991). Os procedimentos utilizados para a digestão de material vegetal com ácidos geralmente são realizados com misturas de ácidos nítrico-perclórico-sulfúrico ou de ácidos nítrico-preclórico (ARAFAT & GLOOSCHENKO, 1981). A mineralização por via úmida apresenta desvantagens

quando o ácido perclórico que é potencialmente explosivo é utilizado. As maiores desvantagens na incineração em mufla são a possibilidade de ocorrência de volatilização e adsorção de minerais e conseqüente perda de material (ALVAREZ, 1980).

Em um estudo colaborativo comparou-se a incineração (500°C) e a digestão (ácido nítrico + ácido perclórico) de plantas e os resultados foram similares para cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, potássio e zinco (ISAAC & JOHNSON, 1975). HILL et al. (1986) propuseram uma combinação de digestão e incineração e apresentaram resultados muito animadores.

BASSON & BOHMER (1972) compararam vários métodos de preparação de amostras de tecido vegetal e propuseram um procedimento de incineração mais rápido, com prévia combustão da amostra antes da incineração a 450°C. Para folhas cítricas (alto teor de cálcio), os resultados para cálcio, magnésio, potássio, cobre, zinco e manganês foram comparáveis aos obtidos com procedimentos padrão de incineração em mufla a 450°C e oxidação com ácidos. Porém, o que se ressalta neste estudo é a importância da adequação de cada procedimento para cada amostra específica. ARNAUD et al. (1992) demonstraram que ocorrem perdas consideráveis de zinco a temperaturas de incineração maior que 450°C. Para evitar problemas durante a incineração, BAXTER et al. (1989) propuseram um método utilizando programação de temperatura para a determinação de chumbo, que poderia ser estendida à determinação de outros minerais.

ARAFAT & GLOOSCHENKO (1981) propuseram um método de preparação de amostra sem a utilização de ácido perclórico, empregando uma combinação de ácidos nítrico-sulfúrico mais peróxido de hidrogênio e obtiveram resultados com boa precisão e exatidão. WÜRFELS et al. (1987) comprovaram que a digestão utilizando apenas ácido nítrico a 320°C e 140 atm de pressão (KNAPP, 1984) é completa em tempos menores que 3 horas para material biológico. Anteriormente, WÜRFELS and JACKWERTH (1985) haviam constatado que a digestão com ácido nítrico a 170°C e

14 atm (KOTZ et al., 1972) era incompleta. Isto é de grande importância, pois o ácido sulfúrico, que é também extensivamente utilizado em digestão interfere na análise por absorção atômica (BASSON & BOHMER, 1972), particularmente com o cálcio devido à formação de precipitado de sulfato de cálcio, que carrega quantidades consideráveis dos elementos sob determinação.

BARBERA et al. (1991) desenvolveram um método para determinação de cádmio, cobalto, cobre, ferro, chumbo, manganês, níquel e zinco em dietas com a utilização apenas de ácido nítrico e aquecimento sem pressão e obtiveram resultados precisos e exatos, além de encontrarem também limites de detecção e quantificação adequados para estes minerais.

A utilização de microondas é também um procedimento promissor para a diminuição do tempo de digestão (NADKARNI, 1984; FISCHER, 1986; LAMOTHE, 1986). Comparações entre digestão com ácidos em condições atmosféricas, incineração em mufla e digestão com ácidos em microondas (MCCARTHY & ELLIS, 1991; OLES & GRAHAN, 1991) demonstraram que os resultados são similares entre o primeiro e o último procedimento.

YAN ZHOU et al. (1996) propuseram um método de extração com ácido nítrico diluído para amostras biológicas utilizando sistema de microondas com controle de pressão e com material padrão de referência Apple Leaves (NIST SRM 1515) com 5 mL de ácido nítrico 14% v/v, pressão 1104 kPa conseguiram um tempo de extração de 30 minutos para 0,3g de amostra. A extração com solvente etanol-água (20% v/v) foi sugerida para cálcio, potássio e fósforo em tecido vegetal (TUBINO & TORRES, 1990). A lixiviação com ácido clorídrico-ácido nítrico (9 + 1) proposta por PUCHYR & SHAPIRO (1986) apresentou resultados comparáveis à digestão e à incineração em mufla.

2.5. Controle de Qualidade Analítico

Quando utiliza-se qualquer método analítico, o objetivo é a obtenção de resultados confiáveis. O principal propósito do controle de qualidade analítico é reduzir os erros das determinações a limites toleráveis para assegurar a produção de dados analíticos de qualidade através de um sistema de atividades planejadas (CRAVEN & REARDON, 1991; GARFIELD, 1993).

A segurança de qualidade, definida como um programa planejado de atividades cujo propósito é assegurar que o controle de qualidade possa ser cumprido, deve compreender todas as etapas do processo analítico. Desde amostragem, tratamento da amostra, preparação de padrões, validação do método até tratamento e avaliação de dados. Sem um programa de segurança de qualidade definido, todos os resultados analíticos devem ser considerados suspeitos (HARNLY et al., 1984).

Ao contrário de outras substâncias do meio ambiente com potencial impacto na saúde humana, como água, solo ou ar, os alimentos representam uma matriz complexa e em constante mudança apresentando problemas e eternos desafios para o analista (MERTZ, 1987). O número de variáveis associadas com alimentos é igualmente complexa e a menos que métodos estatisticamente válidos sejam usados para a amostragem, os resultados do estudo podem não ser representativos (HARNLY et al., 1984).

Cada tipo de alimento é basicamente uma matriz química diferente. Para um nutriente em particular, um método que é válido para um tipo de alimento pode não ser válido para outro e diferentes parâmetros instrumentais e/ou métodos de preparação de amostra podem ser necessários para matrizes diferentes (HARNLY et al., 1984). Por isso, os resultados devem sempre ser checados para evitar erros adversos (CRAVEN & REARDON, 1991).

O controle de qualidade analítico para espectrometria atômica deve sempre incluir em uma corrida analítica um branco, padrões tratados da mesma maneira que as amostras e amostra de referência (CRAVEN & REARDON, 1991). Os métodos de espectroscopia atômica determinam a concentração em amostras por comparação de sinais com os obtidos a partir de uma série de padrões de calibração, conseqüentemente as determinações apresentam exatidão similar à dos padrões (HARNLY et al., 1984).

Nas determinações de vários elementos, o tratamento de amostras deve ter um compromisso no sentido de ser o mais adequado para todos os elementos ou o mais adequado para o elemento mais sensível (HARNLY et al., 1984).

IHNAT (1987) investigou a influência dos fatores (Tabela 2.2.) que poderiam afetar a performance de protocolos para absorção atômica com atomização em chama através da utilização de materiais de referência certificados e verificou efeitos pronunciados das técnicas de decomposição da amostra e de calibração. Diferenças na concentração variaram de 0,2% a 10,2% e foram significativas em 40% dos casos, indicando que o erro sistemático de calibração pode ser reduzido com soluções padrão com matriz próxima da amostra. O efeito das técnicas de preparação de amostra foi determinado utilizando para a decomposição uma combinação de ácido nítrico/ácido perclórico e um outro procedimento com uma etapa adicional de tratamento do material silicoso insolúvel da amostra com ácido fluorídrico. Os erros nos dados analíticos devido a contribuição do resíduo variaram de 0,04% para magnésio em espinafre a 42% para sódio em folhas de pomar.

Para validar um método intralaboratorialmente pode-se proceder de três formas: verificar os resultados utilizando um outro método independente, utilizar material de referência certificado ou ainda realizar testes de recuperação (HARNLY et al., 1984).

Vários materiais de referência certificados (standard reference material - SRM) são fornecidos por órgãos acreditados como NIST (National Institute of Standards and

Tabela 2.2. Fatores considerados em controle de qualidade analítico em espectroscopia de absorção atômica com atomização em chama e métodos de decomposição de amostras com ácidos para determinação de macro-elementos e elementos-traço em materiais biológicos.

Decomposição da amostra e Preparação de soluções
• Verificação, calibração e técnica operacional do material volumétrico • Determinação da umidade e/ou secagem da amostra • Perdas por volatilização ou retenção na incineração por via seca ou decomposição via úmida • Contaminação devido à ácidos e recipientes • Preparação de branco e uniformidade na performance do método com reagentes puros e amostras • Técnicas preparativas de soluções padrão e amostras • Esquemas de diluição de amostras e soluções padrão
Espectrometria
• Otimização instrumental e técnicas operacionais • Interferências química e física • Absorção não atômica • Soluções de calibração • Técnica de calibração
Tratamento e interpretação de dados
• Entrada de dados, registro e cálculos • Curva de calibração e técnicas de cálculo • Interpretação e avaliação (controles, tratamento estatístico, base de apresentação de dados)
Verificação de exatidão
• Controle de qualidade dos dados (teste de recuperação e performance com material de referência apropriado)
Treinamento e experiência do analista

Fonte: IHNAT, 1987; IHNAT, 1988.

Technology - E.U.A.), BCR (Community Bureau of Reference - União Européia), NRCC (National Research Council - Canadá) ou NIES (National Institute for Environmental Studies - Japão) (CRAVEN & REARDON, 1991). São utilizados como material de referência primário na validação de métodos analíticos, mas são caros para uso rotineiro no controle de qualidade de estudos de longa duração. Outro problema associado ao material de referência certificado é a dificuldade em alguns casos de encontrar-se um material similar às amostras a serem analisadas (HARNLY et al., 1984; KUMPULAINEN & PAAKKI, 1987). Então a preparação de um material de referência secundário, produzido pelo próprio laboratório (in-house analytical quality assurance material - IQA) é recomendável (HARNLY et al., 1984; KUMPULAINEN & PAAKKI, 1987; CRAVEN & REARDON, 1991).

Em um estudo cooperativo sobre elementos traço (KUMPULAINEN & PAAKKI, 1987) concluiu-se que o uso de materiais de referência foi necessário para garantir a qualidade analítica dos resultados. HARNLY et al. (1984), em uma pesquisa para a determinação de nutrientes inorgânicos em sucos de frutas e vegetais, também concluíram que a presença da amostra de referência para avaliar a exatidão de cada batelada analítica é imprescindível. Na determinação de manganês, numa corrida analítica, o valor encontrado para a amostra de referência foi quase duas vezes maior que o esperado. Depois verificou-se que no dia anterior, amostras com concentração de manganês aproximadamente 200 vezes maior que as encontradas nos sucos tinham sido analisadas e provavelmente o nebulizador e o queimador não haviam sido adequadamente limpos.

A avaliação interlaboratorial de um método é realizada através de estudo colaborativo. Estes estudos são uma forma de avaliar o desempenho de um método em condições reais de trabalho em vários laboratórios, por meio de análise de amostras homogêneas. Os resultados vão indicar a acuidade do método, sua precisão interlaboratorial e intralaboratorial, basicamente visa-se avaliar a confiabilidade do método em estudo (GARFIELD, 1993).

A atenção meticulosa a detalhes pode levar a alta precisão e exatidão nos procedimentos analíticos (IH NAT, 1988). KUMPULAINEN & PAAKKI (1987) concluíram que contaminações foram evitadas apenas tomando-se as precauções para evitá-las durante a amostragem e o tratamento da amostra. IH NAT (1988) observou concordância nos dados gerados por espectroscopia de absorção atômica de chama e outras técnicas que não envolviam a decomposição da amostra, como por exemplo, análise por ativação de neutrons. E evidenciou que a atenção a detalhes e um trabalho cuidadoso podem levar a procedimentos analíticos consistentes e de alta fidelidade.

Depois de uma análise, os dados brutos devem ser usados para converter as leituras das amostras em concentração e passar por um tratamento e avaliação (HARNLY et al., 1984). Grande parte dos métodos de controle de qualidade é fundamentada em métodos estatísticos e baseia-se fundamentalmente no controle da exatidão e da precisão (GARFIELD, 1993; ARAÚJO, 1995). A produção de resultados de qualidade não ocorre automaticamente e as aplicações mais comuns da estatística se resumem no tratamento de dados de uma calibração, determinação da precisão, exatidão e limites de detecção de um método analítico, decisão sobre a aceitação ou rejeição de uma corrida analítica e estimação da probabilidade de que resultados de uma mesma amostra analisada por um mesmo método ou métodos diferentes são iguais (ARAÚJO, 1995).

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJAYI, S.O.; ODERINDE, S.F. & OSIBANJO, O. (1980). Vitamin C losses in cooked fresh leafy vegetables. *Food Chem.*, **5**, 243-247.
- ALVAREZ, R. (1980). NBS plant tissue standard reference materials. *J Assoc. Off Anal. Chem.*, **63**(4), 806-808.
- AMAYA-FARFAN, J. (1994). Fatores nutricionais que influem na formação e manutenção do osso. *R. Nutr. PUCCAMP*, **7**(2), 148-172.
- ARAFAT, N.M. & GLOOSCHENKO, W.A. (1981). Method for simultaneous determination of arsenic, aluminium, iron, zinc, chromium and copper in plant tissue without the use of perchloric acid. *Analyst*, **106**, 1174-1178.
- ARAÚJO, Y. (1995). Apoio estatístico para a qualidade analítica. In: SEMINÁRIO NACIONAL CONCEITO AMPLO DA QUALIDADE EM ALIMENTOS. 1995, Campinas. Anais. Campinas: CIAL-ITAL. p.50.
- AREMU, C.Y. & UDOESSIEN, E.I. (1990). Chemical estimation of some inorganic elements in selected tropical fruits and vegetables. *Food Chem.*, **37**, 229-234.
- ARNAUD, C.D. & SANCHEZ, S.D. (1990). Calcium and phosphorus. In: BROWN, M.L., ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington: International Life Sciences Institute - Nutrition Foundation. Chap.24, p.212-223.
- ARNAUD, J.; BOUILLET, M.C.; ALARY, J & FAVIER, A. (1992). Zinc determination in human milk by flameless atomic absorption spectrometry after dry ashing. *Food Chem.*, **44**, 213-219.
- BARBERÁ, R.; FARRÉ, R. & MESADO, D. (1991). Determination of Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni and Zn in diets: Development of a method. *Die Nahrung*, **35**(7), 683-687.
- BARBERÁ, R. & FARRÉ, R. (1992.). Revisión: Biodisponibilidad de los elementos traza. *Rev. Espanola Cienc. Tecnol. Alim.*, **32**(4), 381-399.
- BASSON, W.D.; BOHMER, R.G. (1972). An investigation into more rapid procedures for preparing leaf tissue samples for analysis. *Analyst*, **97**, 482-489.

- BAWA, S.F. & YADAV, S.P. (1986). Protein and mineral contents of green leafy vegetables consumed by Sokoto population. *J Sci. Food Agric.*, **37**, 504-506.
- BAXTER, M.J.; BURRELL, J.A.; CREWS, H.M.; MASSEY, R.C.; MCWEENY, D.J. (1989). A procedure for the determination of lead in green vegetables at concentration down to 1 µg/Kg. *Food Add. and Contam.*, **6** (3), 341-349.
- BEATTIE, J.H.; AVENELL, A. (1992). Trace element nutrition and bone metabolism. *Nutr. Res. Rev.*, **5**, 167-188.
- BENWAY, D.A. & WEAVER, C.M. (1993). Assessing chemical form of calcium in wheat, spinach, and kale. *J. Food Sci.*, **58** (3), 605-608.
- BOREL, M.J.; SMITH, S.H.; BRIGHAM, D.E. & BEARD, J.L. (1991). The impact of varying degrees of iron nutriture on several functional consequences of iron deficiency in rats. *J. Nutr.*, **121**, 729-736.
- CASTILLO-DURAN, C. & UAUY, R. (1988). Copper deficiency impairs growth of infants recovering from malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **47**, 710-714.
- CHESTERS, J.K.; ARTHUR, J.R. (1988). Early biochemical defects caused by dietary trace deficiencies. *Nutr. Res. Rev.*, **1**, 39-56.
- CLYDESDALE, F.M. (1983). Physicochemical determinants of iron bioavailability. *Food Technol.*, 133-138/144.
- CLYDESDALE, F.M. (1988). Mineral interactions in foods. In: BODWELL, C.E. & ERDMAN, JR., J.W. *Nutrient Interactions*. New York: Marcel Dekker, Inc. Chap.3, p.73-113. (IFT Basic Symposium Series).
- COOK, J.D.; BAYNES, R.D. & SKIKNE, B.S. (1992). Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr. Res. Rev.*, **5**, 189-202.
- COOKE, J.R. (1987). The use of laboratory prepared reference materials in nutrient analysis. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **326**, 665-668.

- COUSINS, R.J. & HEMPE, J.M. (1990). Zinc. In: BROWN, M.L., ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington: International Life Sciences Institute - Nutrition Foundation. Chap.28, p.251-260.
- CRAIG, W.J. (1994). Iron status of vegetarians. *Am. J Clin. Nutr.*, **59** (suppl.), 1233S-1237S.
- CRAVEN, G.S.; REARDON, K. (1991). Analysis of trace minerals in food. *ASEAN Food J.*, **8** (4), 129-140.
- CREWS, H.M.; BURRELL, J.A. & MCWEENY, D.J. (1983). Preliminary enzymolysis studies on trace element extractability from food. *J. Sci. Food Agric.*, **34**, 997-1004.
- CUNNIFF, P. (1996). *Official methods of analysis of AOAC International*. 16th ed. Gaithersburg: AOAC International.
- DALLMAN, P.R. (1990). Iron. In: BROWN, M.L., ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington: International Life Sciences Institute - Nutrition Foundation. Chap.27, p.241-250.
- DELVES, H.T. (1988). Copper and zinc. In: MCKENZIE, H.A. & SMYTHE, L.E., ed. *Quantitative trace analysis of biological materials*. Elsevier Science Publishers. p.439- 450.
- FABOYA, O.O.P. (1983). The mineral content of some green leafy vegetables commonly found in the Western part of Nigeria. *Food Chem.*, **12**, 213-216.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1988). Zinc in human nutrition. *Nutr. Res. Rev.*, **1**, 23-37.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1992). Bioavailability of trace elements. *Food Chem.*, **43**, 213-217.
- FINCH, C.A. & COOK, J.D. (1984). Iron deficiency. *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 471-477.
- FISCHER, L.B. (1986). Microwave dissolution of geological material: application to isotope dilution analysis. *Anal. Chem.*, **58** (1), 261-263.
- FORTH, W. & RUMMEL, W. (1973). Iron absorption. *Physiol. Rev.*, **53** (3), 724-781.
- FRANCO, G. (1992). *Tabela de composição química dos alimentos*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu Editora. 307p. (Série Enfermagem. Nutrição).

- GABLE, C.B. (1992.). Hemochromatosis and dietary iron supplementation: implications from US mortality, morbidity, and health survey data. *J. Am. Diet. Assoc.*, 92 (2), 208-212.
- GARFIELD, F.M. (1993). *Principios de garantia de calidad para laboratorios analiticos*; Trad. de Genoveva García Aguirre. 2^a ed. AOAC International. 194 p.
- GIBSON, R.S. (1994). Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 59 (suppl.), 1223S-1232S.
- HARLAND, B.F. (1989). Dietary fibre and mineral bioavailability. *Nutr. Res. Rev.*, 2, 133-147.
- HARNLY, J.M.; WOLF, W.R.; MILLER-IHLI, N.J. (1984). Quality assurance of analysis of inorganic nutrients in foods. In: STEWART, K.K.; WHITAKER, J.R., ed. *Modern methods of food analysis*. Westport: AVI Publishing Company, Inc. Chap.6, p.101-128. (IFT Basic Symposium Series).
- HASWELL, S.J. (1991). Practical techniques. In: HASWELL, S.J., ed. *Atomic Absorption Spectrometry - Theory, design and applications*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. Chap.3, p.51-78. (Analytical Spectroscopy Library; v.5).
- HAZELL, T. & JOHNSON, I.T. (1987). Effects of food processing and fruit juices on in-vitro estimated iron availability from cereals, vegetables and fruits. *J. Sci. Food Agric.*, 38, 73-82.
- HAZELL, T. (1985). Minerals in foods: dietary sources, chemical forms, interactions, bioavailability. *World Rev. Nutr. Diet.*, 46, 1-123.
- HEANEY, R.P. & WEAVER, C.M. (1990). Calcium absorption from kale. *Am. J. Clin. Nutr.*, 51, 656-657.
- HEANEY, R.P.; WEAVER, C.M. & RECKER, R.R. (1988). Calcium absorbability from spinach. *Am. J. Clin. Nutr.*, 47, 707-709.
- HILL, A.D.; PATTERSON, K.Y.; VEILLON, C. & MORRIS, E.R. (1986). Digestion of biological materials for mineral analysis using a combination of wet and dry ashing. *Anal. Chem.*, 58 (I 1), 2340-2342.

- HUNT, J.R.; MULLEN, L.M.; LYKKEN, G.I.; GALLAGHER, S.K. & NIELSEN, F.H. (1990). Ascorbic acid: effect on ongoing iron absorption and status in iron-depleted young women. *Am. J. Clin. Nutr.*, **51**, 649-655.
- HURRELL, R.F. & COOK, J.D. (1990). Strategies for iron fortification of foods. *Trends in Food Sci. & Technol.*, 56-61.
- IBGE (1977). *Tabelas de composição dos alimentos*. Estudo Nacional da Despesa Familiar - ENDEF. Secretaria do Planejamento da Presidência da República. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro. 201p.
- IHNAT, M. (1987). High reliability atomic absorption spectrometry of major and minor elements in biological materials. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **326**, 739-741.
- IHNAT, M. (1988). Reliable measurement of major, minor, and trace elemental nutrients. *J. Res. Nat. Bureau of Stand.*, **93** (3), 354-358.
- ISAAC, R.A. & JOHNSON, W.C. (1975). Collaborative study of wet and dry ashing techniques for the elemental analysis of plant tissue by atomic absorption spectrophotometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **58** (3), 436-440.
- ISAAC, R.A. (1980). Atomic absorption methods for analysis of soil extracts and plant tissue digests. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63** (4), 788-796.
- JAMES, W.P.T.; BRANCH, W.J. & SOUTHGATE, D.A.T. (1978). Calcium binding by dietary fibre. *The Lancet*, **25**, 638-639.
- JOHNSON, P.E.; LYKKEN, G.I. & KORYNTA, E.D. (1991). Absorption and biological half life in humans of intrinsic and extrinsic ⁵⁴Mn tracers from foods of plant origin. *J. Nutr.*, **121**, 711-717.
- KEEN, C.L. & ZIDENBERG-CHERR, S. (1990). Manganese. In: BROWN, M.L., ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington: International Life Sciences Institute - Nutrition Foundation. Chap.32, p.279-286.
- KESHINRO, O.O. & KETIKU, A.O. (1979). Effect of traditional cooking methods on the ascorbic acid content of some Nigerian leafy and fruit vegetables. *Food Chem.*, 303-310.

- KNAPP, G. (1984). Der Weg zu leistungsfähigen methoden der elementspurenanalyse in umweltproben. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **317**, 213-219.
- KOTZ, L.; KAISER, G.; TSCHOPEL, P. & TOLG, G. (1972). Aufschluß biologischer matrices für die bestimmung sehr niedriger spurenelementgehalte bei begrenzter einwaage mit salpetersäure unter druck in einem teflongefaß. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **260**, 207-209.
- KRATZER, F.H. & VOHRA, P. (1986). *Chelates in nutrition*. Boca Raton: CRC Press. 169p.
- KRAUSE, M.V. & MAHAN, L.K. (1985). Minerais. In: KRAUSE, M.V. & MAHAN, L.K. *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*; Trad. de Montagnini, A.L. e equipe do original "Food, Nutrition and Diet Therapy". 1ª ed. São Paulo: Livraria Roca Ltda. Cap.7, p.129-165.
- KUMPULAINEN, J.; PAAKKI, M. (1987). Analytical quality control program used by the trace elements in foods and diets sub-network of the FAO European cooperative network on trace elements. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **326**, 684-689.
- LAMOTHE, P.J.; FRIES, T.L. & CONSUL, J.J. (1986). Evaluation of a microwave oven system for the dissolution of geologic samples. *Anal. Chem.*, **58** (8), 1881-1886.
- LOCK, S & BENDER, A.E. (1980). Measurement of chemically-available iron in foods by incubation with human gastric juice in vitro. *Br. J. Nutr.*, **43**, 413-420.
- LUFT, F.C. (1990). Sodium, Chlorine, and Potassium. In: BROWN, M.L., ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington: International Life Sciences Institute - Nutrition Foundation. Chap.26, p.233-240.
- LYON, D.B. (1984). Studies on the solubility of Ca, Mg, Zn, and Cu in cereal products. *Am. J Clin. Nutr.*, **39**, 190-195.
- MARSH, A.C. & KOONS, P.C. (1983). The sodium and potassium content of selected vegetables. *J. Am. Diet. Assoc.*, **83**, 24-27.
- MBOFUNG, C.M.F. & ATINMO, T. (1987). Trace element nutriture of Nigerians. *Wld. Rev. Nutr. Diet.*, **51**, 105-139.

- MCCARTHY, H.T. & ELLIS, P.C. (1991). Comparison of microwave digestion with conventional wet ashing and dry ashing digestion for analysis of lead, cadmium, chromium, copper and zinc in shellfish by flame atomic absorption spectrometry. *J. Assoc. Anal. Chem.*, **74** (3), 566-570.
- MCKENZIE, H.A. & SMYTHE, L.E. (1988). Introduction. In: MCKENZIE, H.A. & SMYTHE, L.E., ed. *Quantitative trace analysis of biological materials*. Elsevier Science Publishers. p.3-18.
- MCNEILL, D.A.; ALI, P.S. & SONG, Y.S. (1985). Mineral analyses of vegetarian, health, and conventional foods: magnesium, zinc, copper, and manganese content. *J. Am. Diet. Assoc.*, **85**(5), 569-572.
- MERTZ, W. (1987). Reference materials for nutrition research. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **326**, 618-621.
- MICHELL, A.R. (1989). Physiological aspects of the requirement for sodium in mammals. *Nutr. Res. Rev.*, **2**, 149-160.
- MILES, C.W. (1989). Effects of vegetable proteins on iron and zinc absorption and availability in humans. *J. Anal. Off. Chem. Soc.*, **66** (7), 924-931.
- MILLER, D.D.; SCHRICKER, B.R.; RASMUSSEN, R.R. & VAN CAMPEN, D. (1981). An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 2248-2256.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (1978). Resolução nº 12/78. Alimentos enriquecidos. Publicado D.O.U., seção I, parte I, 24.07.78.
- NADKARNI, R.A. (1984). Applications of microwave oven sample dissolution in analysis. *Anal. Chem.*, **56** (12), 2233-2237.
- NARASINGA RAO, B.S. & PRABHAVATHI, T. (1978). An in vitro method for predicting the bioavailability of iron from foods. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 169-175.
- NARASINGA RAO, B.S. (1994). Methods for the determination of bioavailability of trace metals: a critical review. *J. Food Sci. Technol.*, **31** (5), 353-361.
- NRC (1989). *Recommended Dietary Allowances*. 10th ed. Food and Nutrition Board, Commission on Life Sciences, National Research Council. Washington: National Academic Press. 284p.

- O'DELL, B.L. (1990). Copper. In: BROWN, M.L., ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington: International Life Sciences Institute - Nutrition Foundation. Chap.29, p.261-267.
- OBERLEAS, D. & HARLAND, B.E. (1981). Phytate content of foods: effect on dietary zinc bioavailability. *J. Am. Diet. Assoc.*, **79**, 433-436.
- OLES, P.J. & GRAHAN, W.M. (1991). Microwave acid digestion of various food matrixes for nutrient determination by atomic absorption spectrometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **74** (5), 812-814.
- OSBORNE, D.R. & VOOGT, P. (1978). *The analysis of nutrients in foods*. Academic Press.
- PANDAY, V.K. (1988). Calcium and magnesium. In: MCKENZIE, H.A. & SMYTHE, L.E., ed. *Quantitative trace analysis of biological materials*. Elsevier Science Publishers. p.675- 688.
- PAO, E.M. & MICKLE, S.J. (1981). Problem nutrients in the United States. *Food Technol.*, 58-69/79.
- PENNINGTON, J.A. & WILSON, D.B. (1990). Daily intake of nine nutritional elements: analyzed vs. calculated values. *J. Am. Diet. Assoc.*, **90** (3), 375-381.
- PENNINGTON, J.A.; YOUNG, B.E.; WILSON, D.B.; JOHNSON, R.D. & VANDERVEEN, J.E. (1986). Mineral content of foods and total diets: the selected minerals in foods survey, 1982 to 1984. *J. Am. Diet. Assoc.*, **86** (7), 876-891.
- PERSSON, H.; NAIR, B.M.; FRBLICH, W.; NYMAN, M. & ASP, N.G. (1987). Binding of mineral elements by some dietary fibre components-In vitro(II). *Food Chem.*, **26**, 139-148.
- PONEROS-SCHNEIER, A.G. & ERDMAN, JR., J.W. (1989). Bioavailability of calcium from sesame seeds, almond powder, whole wheat bread, spinach and nonfat dry milk in rats. *J. Food Sci.*, **54** (1), 150-153.
- PRICE, W.J. (1985). *Spectrochemical analysis by atomic absorption*. Chichester: John Wiley & Sons. 392p.
- PUCHYR, R.F. & SHAPIRO, R. (1986). Determination of trace elements in foods by HCl-HNO₃ leaching and flame atomic absorption spectroscopy. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **69** (5), 868-870.

- RAINS, T.C. (1991). Application of atomic absorption spectrometry to the analysis of foods. In: HASWELL, S.J., ed. *Atomic absorption spectrometry - theory, design and applications*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers. Chap.4d, p.191-226. (Analytical Spectroscopy Library; v.5).
- REDDY, N.R.; SATHE, S.K. & SALUNKHE, D.K. (1982). Phytates in legumes and cereals. *Adv. in Food Res.*, **28**, 1-92.
- RITCHEY, S.J. (1981). Interrelationships among protein, zinc, and copper in human nutrition. *Cereal Chem.*, **58** (1), 18-21.
- ROTH-BASSELL, H.A. & CLYDESDALE, F.M. (1992). In vitro solubility characteristics of six calcium salts. *J. Food Prot.*, **55** (12), 1003-1005.
- SANDBERG, A.S. & SVANBERG, U. (1991). Phytate hydrolysis by phytase in cereals: effects on in vitro estimation of iron availability. *J. Food Sci.*, **56** (5), 1330-1333.
- SCHLEMMER, U. (1989). Studies of binding of copper, zinc and calcium to pectin, alginate, carrageenan and gum guar in HCO_3^- - CO_2 buffer. *Food Chem.*, **32**, 223-234.
- SCHRICKER, B.R.; MILLER, D.D.; RASMUSSEN, R.R. & VAN CAMPEN, D. (1981). A comparison of in vivo and in vitro methods for determining availability of iron from meals. *Am. J. Clin. Nutr.*, **34**, 2257-2263.
- SCHWEDT, G. (1983). Species analysis of elements in foods. *Trends Anal. Chem.*, **2**(2), 39-42.
- SGARBIERI, V.C. (1987). Funções metabólicas e importância nutricional da água e dos elementos minerais. In: SGARBIERI, V.C. *Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento*. Campinas: Editora da UNICAMP; São Paulo: ALMED. Cap.7, p.135-155.
- SHILS, M.E. (1990). Magnesium. In: BROWN, M.L., ed. *Present knowledge in nutrition*. Washington: International Life Sciences Institute - Nutrition Foundation. Chap.25, p.224-232.
- SMITH, K.T. (1983). Effects of chemical environment on iron bioavailability measurements. *Food Technol.*, 115-120.

- THOMPSON, P.; ROSEBOROUGH, R; RUSSEK, E; JACOBSON, M. & MOSER, P.B. (1986). Zinc status and sexual development in adolescent girls. *J. Am. Diet. Assoc.*, **86** (7), 892-896.
- TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R. & SAURA-CALIXTO, F. (1991). Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **1** (1), 1-22.
- TUBINO, M & TORRES, J.R.O. (1990). Determination of calcium, phosphorus and potassium in leaf tissues by extraction with ethanol-water solvent. *Anal. Letters*, **23**(12), 2339-2349.
- TURNLUND, J.R. (1991). Bioavailability of dietary minerals to humans: the stable isotope approach. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **30** (3), 387-396.
- VAN CAMPEN, D.R. & WELCH, R.M. (1980). Availability to rats of iron from spinach: effects of oxalic acid. *J. Nutr.*, **110**, 1618-1621.
- VAN LOON, J.C. (1980). *Analytical atomic absorption spectroscopy - selected methods*. New York: Academic Press. 337p.
- WEAVER, C.M. & PLawecki, K.L. (1994). Dietary calcium: adequacy of a vegetarian diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, **59** (suppl.), 1238S-1241S.
- WELZ, B. (1985). *Atomic absorption spectrometry*; Trad. para o inglês por Christopher Skegg. 2nd ed. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft. 506p.
- WOLTERS, M.G.E.; SCHREUDER, H.A.W.; VAN DEN HEUVEL, G.; VAN LONKHUIJSEN, H.J.; HERMUS, R.J.J. & VORAGEN, A.G.J. (1993). A continuous *in vitro* method for estimation of the bioavailability of minerals and trace elements in foods: application to breads varying in phytic acid content. *Brit. J. Nutr.*, **69**, 849-861.
- WÜRFELS, M. & JACKWERTH, E. (1985). Untersuchungen zur kohlenstoffbilanz beim aufschluß biologischer probenmaterialien mit salpetersaure. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **322**, 354-358.
- WÜRFELS, M.; JACKWERTH, E. & STOEPPLE, M. (1987). Probenvorbehandlungsstudien mit biologischen und umweltmaterialien. V. Zum problem der störung inversvoltammetrischer spurenanalysen nach druckaufschluß biologischer probenmaterialien., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **329**, 459-461.

YAN ZHOU, C.; WONG, M.K. & KOH, L.L. (1996). Microwave-assisted dilute acid extraction of trace metals from biological samples for atomic absorption spectrometric determination. *J. Anal. Atomic Spectr.*, **11**, 585-590.

YOUNG, V.R. & JANGHORBANI, M. (1981). Soy proteins in human diets in relation to bioavailability of iron and zinc: a brief overview. *Cereal Chem.*, **58** (1),12-18.

3. TEOR TOTAL DE CÁLCIO, MAGNÉSIO, FERRO, ZINCO, MANGANÊS, COBRE, POTÁSSIO E SÓDIO E SUA FRAÇÃO SOLÚVEL EM HORTALIÇAS FOLHOSAS CONSUMIDAS NO SUDESTE DO BRASIL E EFEITO DO COZIMENTO SOBRE SOLUBILIDADE E PERDAS.

Abstract

The total levels and the soluble fractions of potassium, sodium, calcium, magnesium, iron, manganese, copper, and zinc were determined by flame atomic absorption spectrometry in seven leafy vegetables (lettuce, rucola, watercress, kale, chicory, Chinese cabbage, and cabbage) widely consumed in Southern Brazil. Four of the vegetables were briefly cooked during three minutes and then analyzed for the total and soluble fractions of the same elements. Cooking caused only minimal losses of the minerals while great gains in terms of solubility were observed for all of the elements examined.

Resumo

O teor total e a fração solúvel de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco de sete hortaliças folhosas (alface, rúcula, agrião, couve, escarola, couve chinesa e repolho) amplamente consumidas no Sudeste do Brasil foram determinados por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama. Quatro das hortaliças foram cozidas por três minutos e então foram analisadas quanto ao teor total e fração solúvel dos mesmos elementos. O cozimento provocou perdas mínimas de minerais por um lado e por outro, observou-se um grande aumento na solubilidade de todos os elementos.

3.1. Introdução

A absorção de elementos minerais é influenciada por diversos fatores como quantidade, forma química e estado de oxidação e também por outros minerais, nutrientes e componentes não nutritivos presentes na dieta (TURNLUND, 1991). A saúde e o status nutricional do indivíduo também têm papel importante na absorção (O'DELL, 1984). Um status nutricional deficiente aumenta a absorção de cálcio e ferro (BOTHWELL et al., 1979; MILLER, 1989). Em qualquer alimento, o teor total de um elemento mineral não fornece nenhuma indicação sobre sua biodisponibilidade (CLYDESDALE, 1988). Por esta razão, vários métodos, *in vitro* e *in vivo*, têm sido propostos para avaliar a biodisponibilidade de elementos minerais em alimentos (FAIRWEATHER-TAIT, 1992; NARAGINSA RAO, 1994; BARBERÁ & FARRÉ, 1992). Todos os métodos *in vitro* são baseados na medida da fração do elemento mineral coletada depois do alimento ter sido submetido a uma série de condições específicas, geralmente envolvendo tratamento com enzimas e/ou ajuste a determinado pH (BARBERÁ & FARRÉ, 1992). Obviamente, a solubilidade do mineral no lúmen intestinal é essencial para sua absorção (KRATZER & VOHRA, 1986).

Há escassez de informação sobre a composição dos alimentos no Brasil. As hortaliças folhosas, no entanto, estão presentes nas dietas de todas as classes econômicas no Sudeste do Brasil e podem constituir uma fonte importante de elementos minerais para a população de renda mais baixa. Hortas familiares, escolares ou comunitárias podem ser facilmente cultivadas durante todo o ano e podem representar uma fonte de baixo custo para suplementação de nutrientes na dieta.

As hortaliças folhosas ocupam um lugar de destaque nas dietas bem balanceadas. A idéia de uma dieta equilibrada mudou significativamente nos últimos anos, incluindo mais vegetais e menor quantidade de carne vermelha. Por outro lado, com poucas exceções, acredita-se que frutas e vegetais folhosos ocupam um lugar

modesto como fonte de elementos traço devido ao seu alto teor de água (GIBSON, 1994).

As hortaliças folhosas mais comumente consumidas como salada no Sudeste do Brasil são alface, rúcula e agrião. A alface lisa (*Lactuca sativa* L.) é especialmente preferida entre as variedades de alface. A rúcula (*Eruca sativa* Mill.), é um vegetal de sabor picante pertencente à família da mostarda e foi trazida ao Brasil pelos imigrantes mediterrâneos. O agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.) segue de perto as duas primeiras hortaliças na preferência do consumidor. Outras hortaliças como couve (*Brassica oleracea* var *acephala*), escarola (*Cichorium endivia*), couve chinesa (*Brassica pekinensis* Hb.) e repolho (*Brassica oleracea* L. var *capitata* L.) são consumidas principalmente cozidas. Todas estas hortaliças são encontradas abundantemente e durante todo o ano no mercado local. Entre estas hortaliças, há confusão quanto à denominação alternativa utilizada popularmente, por exemplo: a escarola é confundida com chicória e a couve chinesa é chamada de acelga no estado de São Paulo.

O presente trabalho teve como objetivo a determinação do teor total e da fração solúvel de oito elementos minerais nutricionalmente importantes (sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro, cobre, manganês e zinco) em hortaliças folhosas largamente consumidas no Sudeste do Brasil, visando obter informações sobre o seu possível valor nutritivo. A fração solúvel no vegetal cru, como foi determinada no presente trabalho, demonstra a quantidade de elementos minerais passíveis de extração a pH 7. Espera-se que o cozimento e os processos da digestão modifiquem a solubilidade dos elementos minerais com relação aos teores no vegetal cru. O teor de elementos minerais total e solúvel foi também determinado nos vegetais cozidos, quando são consumidos preferencialmente nesta forma.

3.2. Materiais e Métodos

Amostras e preparação de amostras

Três maços ou peças de cada hortaliça foram adquiridos no comércio local da cidade de Campinas, estado de São Paulo, pelo menos cinco vezes durante o período de um ano. Primeiro, os vegetais foram lavados em água corrente para remoção de partículas maiores e então foram lavados novamente com água deionizada, secos em uma centrífuga manual e depois em papel absorvente. Partes não comestíveis foram removidas. As amostras foram estocadas em refrigerador em embalagens de polietileno até a análise. O tempo de estocagem foi sempre inferior a um dia. Para a análise das amostras cruas, as folhas foram picadas grosseiramente e misturadas. Desta mistura foram separados 250 g de material que foi então homogeneizado com o auxílio de um processador de alimentos. As amostras a serem analisadas cozidas, passaram por cozimento (250 g) em panela de vidro aberta e chama de gás butano por três minutos, sem adição de água ou temperos e foram depois homogeneizadas no processador de alimentos. As peças do processador de alimentos que ficariam em contato com as amostras foram tratadas com uma solução aquosa e quente de 2% EDTA e 2% ácido cítrico, lavadas com água deionizada e secas antes da utilização (RAZAGUI & BARLOW, 1992).

Controle de Qualidade Analítico

Quatro procedimentos de preparação de amostra foram testados utilizando-se material de referência certificado Tomato Leaves NIST SRM nº 1573a: (a) incineração em mufla por 16 horas a 400°C, (b) incineração em mufla por 2 horas a 500°C, (c) digestão com ácido nítrico em bomba Parr por uma hora a 150°C, (d) incineração por via úmida com ácido nítrico em frascos abertos. O zinco foi escolhido como metal para

comparação entre os procedimentos porque foram reportadas perdas deste elemento em procedimentos de incineração por via seca (MCCARTHY & ELLIS, 1991; ARNAUD et al., 1992). Outro aspecto considerado foi os níveis baixos de zinco normalmente encontrados em material vegetal, tornando este elemento especialmente importante para o controle de qualidade da análise. As determinações foram conduzidas em triplicata e o procedimento que gerou dados mais concordantes com os valores do SRM nº 1573a foi escolhido para o presente trabalho.

Um branco e uma amostra de referência preparada no próprio laboratório foram adicionadas a cada batelada de amostras analisadas. A amostra de referência preparada no próprio laboratório foi produzida com espinafre da Nova Zelândia (*Tetragonia expansa* Murr.), hortaliça utilizada no Brasil como espinafre. Para a preparação do material de referência, quinze maços de espinafre da Nova Zelândia (*Tetragonia expansa* Murr.), adquiridos em diversos pontos do comércio local de Campinas, foram lavados e secos como o procedimento descrito para as amostras e depois foram secos em estufa a 105°C. Este material foi então moído, homogeneizado e estocado em embalagens de polietileno dentro de dessecadores. Para caracterizá-lo como material de referência, foram realizadas 15 determinações em triplicata para todos os oito minerais.

Sólidos Totais

Os sólidos totais foram determinados em duplicata nas amostras cruas e cozidas por secagem em estufa atmosférica a 105°C por uma hora. Quinze mg/cm² de terra diatomácea foram adicionados a cada cadinho de alumínio.

Conteúdo Total de Elementos Minerais

Duplicatas de cada amostra foram analisadas para a determinação do conteúdo total de minerais. Os teores totais de cada mineral foram determinados após digestão da amostra com ácido nítrico, já que este foi o procedimento escolhido após os testes com o material de referência certificado Tomato Leaves NIST SRM nº 1573a. Foram pesados dez gramas de amostra em tubos de digestão tipo microKjeldahl e adicionados 10 mL de ácido nítrico. Os tubos foram aquecidos por infravermelho. Ácido nítrico foi adicionado sempre que necessário para completar a digestão. O ácido nítrico foi evaporado quando os conteúdos dos tubos estavam claros, de coloração branca a amarela. O resíduo foi dissolvido com o volume apropriado de solução de ácido nítrico e lantânio para se obter uma concentração final de 1% HNO_3 + 0,5% lantânio. A solução assim obtida foi utilizada para a determinação de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, cobre, manganês e zinco por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama. Um instrumento Perkin-Elmer controlado através de microprocessador, modelo 5100 PC com lâmpada de deutério como corretor de fundo foi utilizado. As condições de leitura foram as recomendadas pelo fabricante do instrumento. Os padrões usados para calibração foram das empresas Carlo Erba, Merck e J.T. Baker. Os padrões foram preparados com a mesma concentração de ácido nítrico e lantânio das amostras. Água deionizada (Milli-Q) com resistividade de 18 megaohm foi utilizada sempre que necessário. Toda a vidraria e frascos de polietileno foram deixados em banho de ácido nítrico 10% por 24 horas e então lavados com água deionizada antes do uso.

As perdas pelo cozimento foram calculadas em base seca para cada amostra individualmente e a média calculada.

Fração Solúvel dos Elementos Minerais

A fração solúvel dos elementos minerais foi determinada da seguinte maneira: triplicatas foram preparadas para cada amostra. A amostra foi pesada (10g) em tubos de polipropileno para centrífuga e agitada por uma hora com 8 mL de solução 0,15 M de acetato de amônio (pH 7,0). Este pH foi escolhido por tratar-se do mesmo existente no intestino delgado onde ocorre a absorção dos elementos minerais no organismo humano (NARAGINSA RAO, 1994). Depois de centrifugar por 30 minutos a 10.000 rpm, o sobrenadante foi separado, o resíduo no tubo foi lavado com 10 mL de água deionizada e o tubo foi novamente centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos. O segundo sobrenadante foi coletado e adicionado ao primeiro e esta solução foi denominada de fração solúvel. Os elementos minerais desta fração solúvel foram determinados por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama como descrito para a determinação do conteúdo total de elementos minerais.

O aumento na solubilidade foi calculado em base seca como o aumento na concentração de minerais presentes na fração solúvel após o cozimento para cada amostra individualmente e então calculada a média.

3.3. Resultados e Discussão

Cozimento das Amostras

O tempo de três minutos foi o encontrado como adequado para o cozimento dos vegetais. Não houve carbonização da amostra mesmo sem a adição de água e os vegetais foram cozidos com sua própria umidade.

Controle de Qualidade Analítico

Na comparação entre os tratamentos de amostra, a digestão em bomba Parr e a digestão convencional em tubos abertos foram os tratamentos que mostraram melhores resultados em relação ao valor certificado para o zinco (Tabela 3.1.) da amostra de referência. A digestão convencional em tubos abertos foi escolhida devido à capacidade de processamento de um grande número de amostras simultaneamente, uma característica importante para o trabalho planejado.

Os resultados do material de referência preparado no próprio laboratório podem ser vistos na Tabela 3.2.. O material de referência foi incluído em cada batelada de análises e seus resultados foram verificados por comparação com a média previamente determinada para cada elemento. Os resultados dentro de um desvio padrão da média de cada elemento assinalaram a aceitação da batelada de amostras de hortaliças analisadas simultaneamente com aquela amostra de material de referência.

Teores Totais de Elementos Minerais

As médias dos teores totais de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco encontrados em alface, agrião, rúcula, couve, couve chinesa, escarola e repolho estão apresentados em base úmida na Tabela 3.3.. Na mesma tabela estão os teores de sólidos totais médios das amostras, acompanhados do desvio padrão. Nota-se que o teor de água das hortaliças não varia tanto como os teores dos diversos elementos minerais. O nível de potássio é o mais alto entre todos os elementos. E contrasta principalmente com os teores de sódio que são muito baixos, recomendando portanto todas estas hortaliças para dietas com baixo teor de sódio. Teores elevados de potássio são um fato esperado em hortaliças e frutas.

Em ordem decrescente, seguindo o potássio, os teores de cálcio, magnésio e sódio são os mais elevados encontrados nas hortaliças. A escarola é uma exceção pois

apresenta níveis de magnésio e sódio praticamente equivalentes. A hortaliça que possui os maiores teores de potássio, cálcio e magnésio é a couve. Supondo a ingestão de duas porções diárias de 50g cada, a couve pode contribuir com 35% da RDA para cálcio e 15% da RDA para magnésio propostas pelo NRC (1989) para homens adultos (25-50 anos). Com relação à quantidade mínima recomendada para potássio, a couve forneceria 35% desta. Já a couve chinesa apresenta os menores teores dos elementos minerais estudados. No entanto, mesmo assim, pode contribuir com 11%, 6% e 4% dos valores recomendados para potássio, cálcio e magnésio, respectivamente. Sempre supondo duas ingestões diárias de 50g cada e os valores estabelecidos pelo NRC (1989) para homens adultos (25-50 anos).

Quanto ao teor total dos elementos traço (cobre, ferro, manganês e zinco) não há grande variação entre as hortaliças estudadas. Os teores são baixos, mas alguns elementos destacam-se quando comparados com os valores recomendados pelo NRC. Como exemplos temos: o manganês encontrado na couve e no alface contribuiriam com cerca de 10% da média estabelecida como segura; o agrião e a rúcula poderiam fornecer aproximadamente 5% da RDA para zinco. Apesar do alto teor de água destas hortaliças, verificamos que contêm teores razoáveis de alguns elementos minerais, tornando-as uma valiosa adição à dieta.

Comparando com os poucos dados disponíveis sobre teores de elementos minerais nas hortaliças examinadas, os valores obtidos no presente trabalho seguem, em termos qualitativos, o mesmo perfil dos dados já publicados. Em termos quantitativos, porém, os valores são de uma maneira geral discordantes. As duas fontes nacionais mais completas e mais consultadas sobre o assunto são as tabelas de composição de alimentos do IBGE (1977) e a organizada por FRANCO (1992). Nas duas tabelas, principalmente no que diz respeito aos elementos minerais, há carência de informações. A tabela do IBGE (1977) é antiga e apresenta dados apenas do conteúdo total de cálcio, fósforo e ferro. Já a tabela de FRANCO (1992), apesar de fornecer dados sobre os vários elementos minerais essenciais em diversos tipos de

alimentos, não possui dados satisfatórios para as hortaliças abordadas no presente trabalho. Não há dados sobre a rúcula, uma hortaliça muito consumida no sudeste do país. E pode ser gerada confusão quanto à denominação de várias hortaliças e possíveis comparações quanto à sua composição, a inclusão do nome científico evitaria muitos equívocos. A couve manteiga aparece com o teor de sódio de 243,8 mg/100g enquanto para a couve comum o teor de sódio especificado é de 15,0 mg/100g, este último valor é concordante com o encontrado no presente trabalho para a couve. O único senão é que, a couve utilizada neste estudo foi adquirida como sendo couve manteiga.

Outro fator evidenciado pelo presente trabalho, devido à amostragem ter sido realizada durante o período de um ano, é a grande variação que ocorre nos teores dos elementos minerais nas hortaliças. Tal variação demonstra que a apresentação de dados sem indicação da faixa de variação traz pouca informação aos usuários de dados de composição nutricional.

Efeito do Cozimento nos Teores Totais dos Elementos Minerais

Na maioria dos casos, as perdas pelo cozimento (Tabela 3.4.) apresentaram a mesma ordem de grandeza do erro analítico entre repetições da análise da mesma amostra (Tabela 3.5.). Consequentemente, as perdas pelo cozimento podem ser consideradas marginais. Em alguns casos pode-se notar que houve um ganho aparente (Tabela 3.4.). Isto pode ser atribuído à soma das incertezas na determinação de sólidos totais e na determinação de minerais. Os ganhos aparentes contribuem também para a conclusão de que as perdas pelo cozimento são desprezíveis.

Nas tabelas de composição de alimentos nacionais há escassez de informações sobre alimentos que sofreram algum tipo de processamento, como é o caso do cozimento de hortaliças. FRANCO (1992) apresenta alguns dados sobre repolho cru e cozido com relação ao teor total de elementos minerais que são conflitantes com os

obtidos no presente trabalho. FRANCO (1992) indica a perda de vários minerais após o cozimento. Reporta perdas de ferro em quase 50% e de sódio em mais de 70%. Na tabela de FRANCO (1992) não são descritas as condições em que a hortaliça foi processada.

Fração Solúvel dos Elementos Minerais

A extração a pH 7 para determinação da fração solúvel dos elementos minerais, cujos resultados estão apresentados na Tabela 3.3., mostra que mesmo elementos como potássio e sódio que formam sais inorgânicos quase sempre solúveis em água, não estão totalmente solúveis nestas condições nas hortaliças analisadas. Nas hortaliças cruas, a solubilidade do potássio e do sódio variaram entre 20 - 50% e 30 - 80%, respectivamente. Estes resultados indicam que estes eletrólitos devem estar ligados no tecido vegetal de maneira mais complexa, possivelmente ligados a macromoléculas de tal maneira que não estão diretamente disponíveis à absorção. Evidentemente, espera-se que o processo digestivo modifique a solubilidade dos elementos minerais.

O cálcio e o magnésio mostraram solubilidades na faixa de 20 - 45% e na mesma hortaliça observa-se que a solubilidade destes dois elementos é praticamente igual.

Os elementos ditos traço, seguiram um perfil muito semelhante quanto à solubilidade relativa nas diversas hortaliças, apresentando pequenas variações apenas com relação às quantidades absolutas.

É interessante notar que as hortaliças comumente consumidas cruas são exatamente as que apresentam maior solubilidade dos elementos minerais quando comparadas com os dados das hortaliças cruas que normalmente são consumidas cozidas. O grande destaque é a rúcula com os maiores níveis de solubilidade e a hortaliça com menores níveis de solubilidade é o agrião. Já a couve chinesa que se

apresenta como relativamente pobre em níveis totais de elementos minerais quando comparada com outras hortaliças, quando crua mostra níveis de solubilidade maiores que as outras hortaliças que são consumidas tanto cruas como cozidas (repolho, escarola e couve).

Efeito do Cozimento na Fração Solúvel

O aumento na solubilidade devido ao cozimento (Tabela 3.6.) indica claramente o efeito benéfico deste procedimento para a maioria dos elementos minerais estudados, tornando os minerais potencialmente mais disponíveis para a absorção. O ganho médio na fração solúvel, após um breve cozimento de três minutos, é da ordem de 8 - 200 vezes o erro analítico determinado para as repetições de cada amostra analisada (Tabela 3.5.), exceto para o ferro e cobre. Não deixando dúvidas, portanto, com relação à magnitude do efeito ocorrido. O cobre apresenta teores totais mais baixos dentre os elementos minerais determinados nas hortaliças. Mas, em contraste com o zinco, tanto o cobre como o ferro mostram-se insolúveis mesmo após o cozimento.

Tabela 3.1. Determinação de zinco ($\mu\text{g/g}$) em amostra de referência certificada Tomato Leaves NIST SRM nº 1573a utilizando diferentes procedimentos de preparação de amostra.

Incineração via seca		Incineração via úmida		Valor certificado
400°C/16h	500°C/2h	tubo aberto	bomba Parr	
25,7 $\pm$ 0,6	26,0 $\pm$ 0,8	29,0 $\pm$ 2,2	30,0 $\pm$ 4,6	30,9 $\pm$ 0,7

As determinações foram feitas em triplicata.

Tabela 3.2. Material de referência preparado no próprio laboratório.

Minerais	Concentração (mg/g)
Potássio	125 $\pm$ 46
Sódio	16 $\pm$ 3
Cálcio	10,1 $\pm$ 0,4
Magnésio	7 $\pm$ 1
Ferro	0,12 $\pm$ 0,03
Manganês	0,12 $\pm$ 0,02
Cobre	0,012 $\pm$ 0,001
Zinco	0,10 $\pm$ 0,01

Os valores representam a média e o desvio padrão de 15 determinações realizadas em triplicata em dias e horários diferentes.

Tabela 3.3. Total e fração solúvel de K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn (mg/100g base úmida) e sólidos totais (%) em hortaliças cruas e cozidas.

Mineral	Alface		Rúcula		Agrião	
	Total	Solúvel	Total	Solúvel	Total	Solúvel
Potássio	318±59	162±23	363±92	183±27	271±54	73±29
Sódio	5±2	3,1±0,5	4±2	3±1	14±4	4±1
Cálcio	47±14	16±7	98±12	43±10	127±24	30±12
Magnésio	18±5	7±2	30±9	13±5	30±5	8±4
Ferro	0,5±0,2	0,2±0,2	1,1±0,6	1±2	0,9±0,2	0,2±0,2
Manganês	0,4±0,3	0,11±0,06	0,3±0,3	0,1±0,1	0,2±0,1	0,2±0,1
Cobre	0,04±0,02	nd	0,1±0,2	nd	0,2±0,1	0,2±0,1
Zinco	0,33±0,04	0,10±0,03	0,4±0,1	0,16±0,04	0,8±0,4	0,2±0,1
Sól. Totais (%)	4,7±0,4		6,3±0,4		7,6±0,9	

Os resultados expressam a média de cinco amostras coletadas durante um ano.

Os desvios padrão indicam variabilidade entre amostras e não representam o erro analítico.

nd - não detectado.

Tabela 3.3 (cont.). Total e fração solúvel de K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn (mg/100g base úmida) e sólidos totais (%) em hortaliças cruas e cozidas.

Mineral	Couve				Escarola			
	Crua		Cozida		Crua		Cozida	
	Total	Solúvel	Total	Solúvel	Total	Solúvel	Total	Solúvel
Potássio	712±517	159±63	816±517	334±93	638±593	163±39	718±659	278±92
Sódio	12±4	4±1	15±5	9±2	19±9	7±3	22±9	17±4
Cálcio	286±43	97±20	331±47	153±17	50±6	9±2	54±7	7±2
Magnésio	51±4	14±2	58±6	25±3	17±4	4±1	18±3	7±2
Ferro	0,4±0,2	0,05±0,09	0,5±0,2	0,1±0,2	0,5±0,2	0,02±0,02	0,6±0,2	0,03±0,02
Manganês	0,3±0,1	0,1±0,1	0,4±0,2	0,2±0,1	0,3±0,1	0,06±0,04	0,3±0,1	0,10±0,03
Cobre	0,04±0,02	nd	0,06±0,05	nd	0,06±0,03	nd	0,08±0,02	0,01±0,02
Zinco	0,29±0,05	0,7±0,3	0,3±0,1	0,1±0,1	0,24±0,03	0,08±0,02	0,28±0,04	0,15±0,04
Sól. Totais (%)	10,2±1,4		11,8±2,5		5,8±1,2		6,7±1,5	

Os resultados expressam a média de cinco amostras coletadas durante um ano.

Os desvios padrão indicam variabilidade entre amostras e não representam o erro analítico.

nd - não detectado.

Tabela 3.3 (cont.). Total e fração solúvel de K, Na, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn (mg/100g base úmida) e sólidos totais (%) em hortaliças cruas e cozidas.

Mineral	Couve Chinesa				Repolho			
	Crua		Cozida		Cru		Cozido	
	Total	Solúvel	Total	Solúvel	Total	Solúvel	Total	Solúvel
Potássio	228±112	119±35	256±110	197±48	266±87	93±24	275±103	145±21
Sódio	5±2	3±2	5±2	5±3	3±1	1±1	3±1	2±1
Cálcio	47±6	16±4	50±5	23±4	44±6	11±2	46±5	25±11
Magnésio	13±3	5±2	14±5	8±3	14±2	4±2	15±3	8±2
Ferro	0,20±0,03	0,01±0,03	0,22±0,03	0,03±0,04	0,14±0,03	nd	0,16±0,04	nd
Manganês	0,14±0,05	0,03±0,02	0,2±0,1	0,07±0,04	0,2±0,1	0,05±0,05	0,2±0,1	0,1±0,1
Cobre	0,04±0,02	nd	0,04±0,03	0,01±0,01	0,05±0,05	0,01±0,01	0,04±0,04	0,01±0,01
Zinco	0,23±0,04	0,11±0,02	0,3±0,1	0,20±0,03	0,2±0,1	0,04±0,02	0,2±0,1	0,11±0,04
Sól. Totais (%)	4,2±0,4		5,1±0,7		5,8±1,2		7,4±0,5	

Os resultados expressam a média de cinco amostras coletadas durante um ano.

Os desvios padrão indicam variabilidade entre amostras e não representam o erro analítico.

nd - não detectado.

Tabela 3.4. Média das perdas de elementos minerais (%) devido ao cozimento em hortaliças folhosas.

Mineral	Couve	Escarola	Couve Chinesa	Repolho
Potássio	+4	+1	3	7
Sódio	+17	+4	5	+21
Cálcio	+4	7	9	+2
Magnésio	+1	8	6	+2
Ferro	+117	+11	5	+1
Manganês	+6	+7	2	+11
Cobre	+30	+10	11	+3
Zinco	+3	+2	+4	+5

Os valores foram calculados em base seca para cada amostra individualmente e então calculada a média.

Um sinal de (+) indica ganho aparente após o cozimento.

Tabela 3.5. Média dos desvios padrão das repetições das determinações da concentração total de cada elemento mineral nas amostras cruas e cozidas.

Mineral	Couve	Escarola	Couve Chinesa	Repolho
Potássio	7	3	3	3
Sódio	6	5	1	4
Cálcio	6	5	3	4
Magnésio	3	3	1	4
Ferro	6	4	5	2
Manganês	7	3	3	3
Cobre	12	6	9	7
Zinco	3	3	2	3

Tabela 3.6. Efeito do cozimento na solubilidade de elementos minerais em hortaliças folhosas expresso como aumento médio (%) na fração solúvel após cozimento por três minutos.

Mineral	Couve	Escarola	Couve Chinesa	Repolho
Potássio	110	46	45	68
Sódio	100	39	54	200
Cálcio	72	56	25	123
Magnésio	45	41	33	114
Ferro	15	15	53	4
Manganês	62	31	67	91
Cobre	nd	19	*	5
Zinco	65	39	64	208

Os valores foram calculados em base seca como o aumento da concentração de cada elemento mineral na fração solúvel após o cozimento para cada amostra individualmente e então foi calculada a média.

* - não detectado na fração solúvel no vegetal cru e detectado em baixa concentração na fração solúvel no vegetal cozido.

nd - não detectado na fração solúvel de ambas as formas, crua ou cozida.

3.4. Conclusões

Os resultados do presente trabalho indicam a inadequação das tabelas de composição de alimentos atualmente empregadas no Brasil com relação a teores de elementos minerais. A grande variação verificada nos resultados obtidos com amostras colhidas em diferentes épocas do ano recomendam fortemente que tabelas de composição mineral devem conter a média dos resultados de várias amostras acompanhada da faixa de variação encontrada (expressa como desvio padrão) e informação sobre a denominação taxonômica.

Comparação com as ingestões recomendadas pelo NRC (1989) mostra que as hortaliças estudadas podem oferecer uma contribuição à dieta em termos de potássio, cálcio e magnésio.

O cozimento das hortaliças, nas condições utilizadas no trabalho, aumenta consideravelmente a solubilidade de potássio, sódio, cálcio, magnésio, manganês e zinco. Ferro e cobre apresentam-se insolúveis além de aparecerem em concentrações muito baixas e não são afetados pelo cozimento. Por outro lado, as perdas dos elementos minerais estudados mostraram-se negligíveis com o cozimento utilizado.

A determinação da fração solúvel dos elementos minerais nas hortaliças foi capaz de oferecer mais informações sobre a disponibilidade que determinações de teores totais somente.

O método empregado para determinação da fração solúvel dos elementos minerais mostrou-se simples de executar e capaz de ser aplicado a várias amostras simultaneamente. Esta é uma consideração importante quando se tem pela frente um trabalho extenso de aquisição de dados como o que foi realizado no presente trabalho e como os que se fazem necessários nos alimentos nacionais de uma maneira geral.

3.5. Referências Bibliográficas

- ARNAUD, J., BOUILLET, M.C., ALARY, J. & FAVIER, A. (1992). Zinc determination in human milk by flameless atomic absorption spectrometry after dry ashing. *Food Chem.*, **44**, 213-219.
- BARBERÁ, R. & FARRÉ, R. (1992). Revisión: Biodisponibilidad de los elementos traza. *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim.*, **32**, 381-399.
- BENZO, Z., SCHORIN, H. & VELOSA, M. (1986). Simultaneous quantitative determination of manganese, iron, copper and zinc by atomic absorption spectroscopy in tropical cereals, fruit and legume materials. *J. Food Sci.*, **51**, 222-224.
- BOTHWELL, T.H., CHARLTON, R.W., COOK, J.D. & FINCH, C.A. (1979). *Iron metabolism in man.* Blackwell, Oxford.
- CLYDESDALE, F.M. (1988). Mineral interactions in foods. In: *Nutrient interactions*, eds. C.E. Bodwell & J.W. Erdman Jr., Marcel Dekker Inc. New York, p. 73-113.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1992). Bioavailability of trace elements. *Food Chem.*, **43**, 213-217.
- FRANCO, G. (1992). *Tabela de composição química dos alimentos*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu Editora. 307p. (Série Enfermagem. Nutrição).
- GIBSON, R.S. (1994). Zinc nutrition in developing countries. *Nutr. Res. Rev.*, **7**, 151-173.
- IBGE (1977). *Tabelas de composição de alimentos*. Secretaria do Planejamento da Presidência da República. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
- KRATZER, F.H. & VOHRA, P. (1986). *Chelates in Nutrition.* CRC Press, Boca Raton. 169p.
- MCCARTHY, H.T. & ELLIS, P.C. (1991). Comparison of microwave digestion with conventional wet ashing and dry ashing digestion for analysis of lead, cadmium, chromium, copper, and zinc in shellfish by flame atomic absorption spectroscopy. *J. Assoc. Off Anal. Chem.*, **74**, 566-569.
- MILLER, D.D. (1989). Calcium in the diet: Food sources, recommended intakes, and nutritional bioavailability. *Advan. Food Nutr. Res.*, **33**, 103-156.

- NARAGINSA RAO, B.S. (1994). Methods for the determination of bioavailability of trace metals: A critical evaluation. *J. Food Sci. Technol.*, **31**(5), 353-361.
- NRC (1989). *Recommended Dietary Allowances*. 10th ed. Food and Nutrition Board, Commission on Life Sciences, National Research Council. Washington: National Academic Press. 284p.
- O'DELL, B.L. (1984). Bioavailability of trace elements. *Nutr. Rev.*, **42**, 301-308.
- RAZAGUI, I.B. & BARLOW, P.J. (1992). A chemical clean-up procedure to reduce trace metal contamination from laboratory blenders. *Food Chem.*, **44**, 309-312.
- TURNLUND, J.R. (1991). Bioavailability of dietary minerals to humans: The stable isotope approach. *Critic. Rev. Food Sci. Nutr.*, **30**, 387-396.

4. ANEXOS

	Comprimento de onda (nm)	Fenda (nm)	Altura do queimador	Ar/Acetileno
Cálcio	422,7	0,7	7-8	10,0 / 3,0
Cobre	324,8	0,7	7	10,0 / 2,0
Ferro	248,3	0,2	9	10,0 / 2,0
Potássio	766,5	1,4	9	10,0 / 2,0
Magnésio	202,6	0,7	7	10,0 / 2,0
Manganês	279,5	0,2	9	10,0 / 2,0
Sódio	589,0	0,4	8	10,0 / 2,0
Zinco	213,9	0,7	9	10,0 / 2,0

Anexo 1. Condições de operação do espectrômetro de Absorção Atômica para a determinação dos minerais.

Mineral	Limite de Detecção (mg/L)
Cálcio	0,04
Cobre	0,012
Ferro	0,02
Potássio	0,03
Magnésio	0,14
Manganês	0,02
Sódio	0,0124
Zinco	0,012

Os limites de detecção foram determinados segundo o método fornecido pelo manual do Espectrômetro de Absorção Atômica 5100 PC (Perkin-Elmer) (ACS, 1980), porém, no cálculo final utilizou-se o fator de três desvios padrão e não dois como o método recomenda.

Referência Bibliográfica

ACS, Committee on Environm. Improvement (1980). Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. *Anal. Chem.*, **52**, 2242-2249.

Anexo 2. Limites de detecção de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, sódio e zinco.

MATERIAL DE REFERÊNCIA: ESPINAFRE

	Ca (µg/g)	Cu (µg/g)	Fe (µg/g)	K (µg/g)	Mg (µg/g)	Mn (µg/g)	Na (µg/g)	Zn (µg/g)
I	9153	11,81	113,71		6388	106,45	16200	145,44
II	10744	12,90	110,64	78925	6860	132,51	16128	105,40
III	10581	12,07	116,22	84606	6831	139,54	19294	102,19
IV	9848	10,20	226,73	75207	6787	158,56	10248	103,40
V	9797	10,05	115,44	107091	10737	125,59	13267	102,28
VI	10107	12,77	110,96	125109	6590	110,03	16991	110,93
VII	10134	12,40	86,76	118066	6604	97,15	15295	110,83
VIII	10163	13,34	80,84	118758	7513	102,96	15062	106,61
IX	9977	13,42	113,72	133489	7498	112,29	16562	100,04
X	10082	12,95	111,44	81452	6710	122,15	17956	97,47
XI	10097	13,68	103,63	190647	6637	126,86	13480	95,37
XII	9980	12,90	133,32	226837	7439	135,36	20220	96,49
XIII	10263	13,59	104,75	164277	6942	118,88	22184	96,84
XIV	10121	12,81	110,45	158526	6460	136,14	14015	103,78
XV	10153	12,71	109,69	90174	6781	127,50	15008	100,91
Média	10080	12,51	116,55	125226	7118	123,46	16127	105,20
s	354	1,10	32,82	45716	1063	16,12	2,99	12,12

Anexo 3. Valores médios obtidos em 15 determinações realizadas em dias e horários diferentes

MATERIAL: ESPINAFRE

Amostra	Ca (µg/g)	
1	9083,816	m = 9153,069
2	9022,397	s = 175,842
3	9352,993	CV = 1,92%
4	10695,615	m = 10743,985
5	11001,276	s = 236,840
6	10535,063	CV = 2,20%
7	10566,497	m = 10581,467
8	10757,973	s = 169,517
9	10419,931	CV = 1,60%
10	9780,776	m = 9848,445
11	9775,329	s = 121,954
12	9989,230	CV = 1,24%
13	9816,184	m = 9797,06
14	10034,715	s = 247,771
15	9540,281	CV = 2,52%
16	10076,517	m = 10106,651
17	10178,935	s = 62,887
18	10064,502	CV = 0,62%
19	10223,254	m = 10134,329
20	10158,867	s = 103,402
21	10020,865	CV = 1,02%
22	10047,346	m = 10163,022
23	9924,893	s = 312,0462
24	10516,827	CV = 3,07%
25	9849,853	m = 9977,145
26	9806,527	s = 258,906
27	10275,055	CV = 2,60%
28	10056,516	m = 10081,578
29	10239,567	s = 147,068
30	9948,652	CV = 1,46%
31	9883,983	m = 10097,004
32	10205,722	s = 184,494
33	10201,306	CV = 1,83%
34	9899,625	m = 9979,629
35	9945,314	s = 101,605
36	10093,949	CV = 1,02%
37	10471,781	m = 10262,893
38	10070,768	s = 201,031
39	10246,130	CV = 1,96%
40	10358,821	m = 10121,144
41	9883,468	s = 336,125
42		CV = 3,32%
43	10105,650	m = 10153,068
44	10202,416	s = 48,412
45	10151,139	CV = 0,48%

Anexo 4. Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

MATERIAL: ESPINAFRE

Amostra	Cu ($\mu\text{g/g}$)	
1	11,15	m = 11,807
2	13,27	s = 1,27
3	11,00	CV = 10,75%
4	12,803	m = 12,897
5	13,021	s = 0,112
6	12,867	CV = 0,87%
7	12,170	m = 12,07
8	12,287	s = 0,281
9	11,752	CV = 2,33%
10	10,118	m = 10,204
11	10,261	s = 0,076
12	10,232	CV = 0,74%
13	10,061	m = 10,046
14	10,035	s = 0,013
15	10,042	CV = 0,13%
16	12,663	m = 12,77
17	12,858	s = 0,099
18	12,789	CV = 0,77%
19	12,434	m = 12,405
20	12,428	s = 0,045
21	12,354	CV = 0,36%
22	13,488	m = 13,337
23	13,412	s = 0,199
24	13,112	CV = 1,49%
25	13,547	m = 13,424
26	13,288	s = 0,130
27	13,437	CV = 0,97%
28	13,298	m = 12,947
29	12,972	s = 0,365
30	12,570	CV = 2,82%
31	13,517	m = 13,683
32	13,929	s = 0,218
33	13,602	CV = 1,59%
34	12,960	m = 12,896
35	12,867	s = 0,055
36	12,862	CV = 0,43%
37	13,503	m = 13,589
38	13,065	s = 0,572
39	14,200	CV = 4,21%
40	12,815	m = 12,806
41	12,797	s = 0,013
42		CV = 0,10%
43	12,919	m = 12,708
44	12,515	s = 0,203
45	12,689	CV = 1,59%

Anexo 4 (cont.). Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

MATERIAL: ESPINAFRE

Amostra	Fe ($\mu\text{g/g}$)	
1	114,244	m = 113,712
2	114,107	s = 0,805
3	112,786	CV = 0,71%
4	110,957	m = 110,641
5	112,936	s = 2,468
6	108,031	CV = 2,23%
7	118,666	m = 116,218
8	117,955	s = 3,641
9	112,034	CV = 3,13%
10	229,342	m = 226,731
11	227,371	s = 2,983
12	223,479	CV = 1,32%
13	119,915	m = 115,437
14	111,467	s = 4,247
15	114,930	CV = 3,68%
16	86,216	m = 110,959
17	123,219	s = 21,429
18	123,443	CV = 19,31%
19	88,141	m = 86,757
20	85,648	s = 1,269
21	86,481	CV = 1,46%
22	74,873	m = 80,836
23	79,131	s = 6,974
24	88,505	CV = 8,63%
25	115,715	m = 113,725
26	114,542	s = 2,501
27	110,918	CV = 2,20%
28	110,262	m = 111,435
29	112,608	s = 1,659
30	105,905	CV = 1,49%
31	103,345	m = 103,634
32	105,272	s = 1,514
33	102,285	CV = 1,46%
34	132,363	m = 133,320
35	142,612	s = 8,852
36	124,986	CV = 6,64%
37	100,309	m = 104,750
38	104,518	s = 4,561
39	109,422	CV = 4,35%
40	105,457	m = 110,45
41	115,443	s = 7,061
42		CV = 6,39%
43	113,689	m = 109,686
44	102,296	s = 6,407
45	113,072	CV = 5,84%

Anexo 4 (cont.). Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

MATERIAL: ESPINAFRE

Amostra	K (µg/g)	
1		
2		
3		
4	77438,742	m = 78925,272
5	79542,234	s = 1293,553
6	79794,839	CV = 1,64%
7	85011,433	m = 84605,691
8	82277,559	s = 2154,114
9	86528,082	CV = 2,55%
10	73638,875	m = 75207,316
11	74620,148	s = 1932,140
12	77364,926	CV = 2,57%
13	109672,975	m = 107091,453
14	105319,303	s = 2286,904
15	106282,080	CV = 2,14%
16	119535,151	m = 125108,83
17	135094,110	s = 13502,583
18	130486,358	CV = 10,79%
19	123323,755	m = 118065,993
20	108793,544	s = 8054,194
21	122080,679	CV = 6,82%
22	131487,191	m = 118757,559
23	110693,848	s = 11154,322
24	114091,638	CV = 9,39%
25	132742,530	m = 133488,525
26	127121,647	s = 6770,768
27	140601,398	CV = 5,07%
28	85235,668	m = 81452,049
29	80315,743	s = 3362,680
30	78804,735	CV = 4,13%
31	196083,953	m = 190647,309
32	186703,096	s = 4865,247
33	189154,878	CV = 2,55%
34	229336,716	m = 226837,419
35	223479,162	s = 3021,770
36	227696,380	CV = 1,33%
37	159648,736	m = 164277,100
38	157866,086	s = 9601,842
39	175316,479	CV = 5,84%
40	139986,473	m = 158526,962
41	177067,451	s = 26220,211
42		CV = 16,54%
43	93017,915	m = 90174,491
44	88965,067	s = 2471,611
45	88540,492	CV = 2,74%

Anexo 4 (cont.). Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

MATERIAL: ESPINAFRE

Amostra	Mg ($\mu\text{g/g}$)	
1	6631,743	m = 6387,489
2	6368,751	s = 235,445
3	6161,972	CV = 3,69%
4	6739,216	m = 6860,205
5	7095,026	s = 203,393
6	6746,372	CV = 2,96%
7	6804,603	m = 6831,151
8	6698,704	s = 147,524
9	6990,146	CV = 2,16%
10	6698,520	m = 6786,768
11	6777,922	s = 92,988
12	6883,863	CV = 1,37%
13	10577,551	m = 10736,789
14	10911,622	s = 167,581
15	10721,193	CV = 1,56%
16	6609,908	m = 6590,367
17	6562,734	s = 24,606
18	6598,458	CV = 0,37%
19	6548,408	m = 6604,484
20	6520,408	s = 122,180
21	6744,637	CV = 1,85%
22	7505,689	m = 7512,733
23	7474,964	s = 41,740
24	7557,547	CV = 0,56%
25	7676,676	m = 7498,124
26	7379,257	s = 157,437
27	7438,438	CV = 2,10%
28	6815,160	m = 6710,370
29	6605,579	s = 148,196
30	6480,887	CV = 2,21%
31	6655,027	m = 6637,162
32	6455,588	s = 173,333
33	6800,870	CV = 2,61%
34	7638,429	m = 7439,023
35	7380,799	s = 177,602
36	7297,841	CV = 2,39%
37	6953,630	m = 6942,448
38	6931,591	s = 11,023
39	6942,124	CV = 0,16%
40	6612,203	m = 6459,917
41	6307,631	s = 215,365
42		CV = 3,33%
43	7014,622	m = 6780,531
44	6738,129	s = 216,034
45	6588,841	CV = 3,19%

Anexo 4 (cont.). Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

MATERIAL: ESPINAFRE

Amostra	Mn (µg/g)	
1	103,671	m = 106,45
2	106,146	s = 2,086
3	104,533	CV = 1,96%
4	130,694	m = 132,512
5	139,509	s = 6,289
6	127,332	CV = 4,75%
7	136,922	m = 139,540
8	141,983	s = 2,535
9	139,716	CV = 1,82%
10	160,202	m = 158,565
11	160,672	s = 3,252
12	154,820	CV = 2,05%
13	123,722	m = 125,586
14	126,112	s = 1,665
15	126,925	CV = 1,33%
16	107,770	m = 110,031
17	112,504	s = 2,374
18	109,820	CV = 2,16%
19	96,706	m = 97,152
20	95,915	s = 1,511
21	98,836	CV = 1,56%
22	104,602	m = 102,965
23	105,955	s = 4,063
24	98,339	CV = 3,95%
25	118,537	m = 112,294
26	114,277	s = 7,436
27	104,068	CV = 6,62%
28	121,897	m = 122,148
29	124,200	s = 1,939
30	120,347	CV = 1,59%
31	129,534	m = 126,863
32	124,558	s = 2,508
33	126,496	CV = 1,98%
34	137,878	m = 135,356
35	135,374	s = 2,532
36	132,815	CV = 1,87%
37	119,874	m = 118,879
38	117,039	s = 1,595
39	119,724	CV = 1,34%
40	137,495	m = 136,135
41	134,775	s = 1,923
42		CV = 1,41%
43	126,321	m = 127,497
44	127,870	s = 1,040
45	128,299	CV = 0,82%

Anexo 4 (cont.). Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

MATERIAL: ESPINAFRE

Amostra	Na (µg/g)	
1	16049,933	m = 16199,589
2	16868,800	s = 608,356
3	15680,018	CV = 3,76%
4	15736,690	m = 16128,224
5	16563,917	s = 415,378
6	16084,066	CV = 2,58%
7	18993,878	m = 19294,441
8	19477,210	s = 262,315
9	19412,236	CV = 1,36%
10	11148,585	m = 10247,923
11	10171,383	s = 864,935
12	9423,802	CV = 8,44%
13	13505,184	m = 13267,333
14	13650,828	s = 543,007
15	12645,987	CV = 4,09%
16	17602,472	m = 16991,407
17	16875,603	s = 562,181
18	16496,145	CV = 3,31%
19	15380,931	m = 15295,212
20	15130,228	s = 142,917
21	15374,478	CV = 0,93%
22	15231,594	m = 15061,465
23	15110,873	s = 199,476
24	14841,929	CV = 1,32%
25	17404,230	m = 16562,267
26	16211,332	s = 732,518
27	16071,240	CV = 4,42%
28	18099,882	m = 17956,317
29	17939,943	s = 136,119
30	17829,126	CV = 0,76%
31	14079,748	m = 13479,562
32	13482,624	s = 601,722
33	12876,315	CV = 4,46%
34	20313,994	m = 20219,882
35	19747,659	s = 432,909
36	20597,994	CV = 2,14%
37	22872,575	m = 22184,083
38	21683,905	s = 616,304
39	21995,768	CV = 2,78%
40	14416,916	m = 14015,254
41	13613,592	s = 568,036
42		CV = 4,05%
43	15120,196	m = 15008,390
44	15054,232	s = 140,455
45	14850,741	CV = 0,94%

Anexo 4 (cont.). Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

MATERIAL: ESPINAFRE

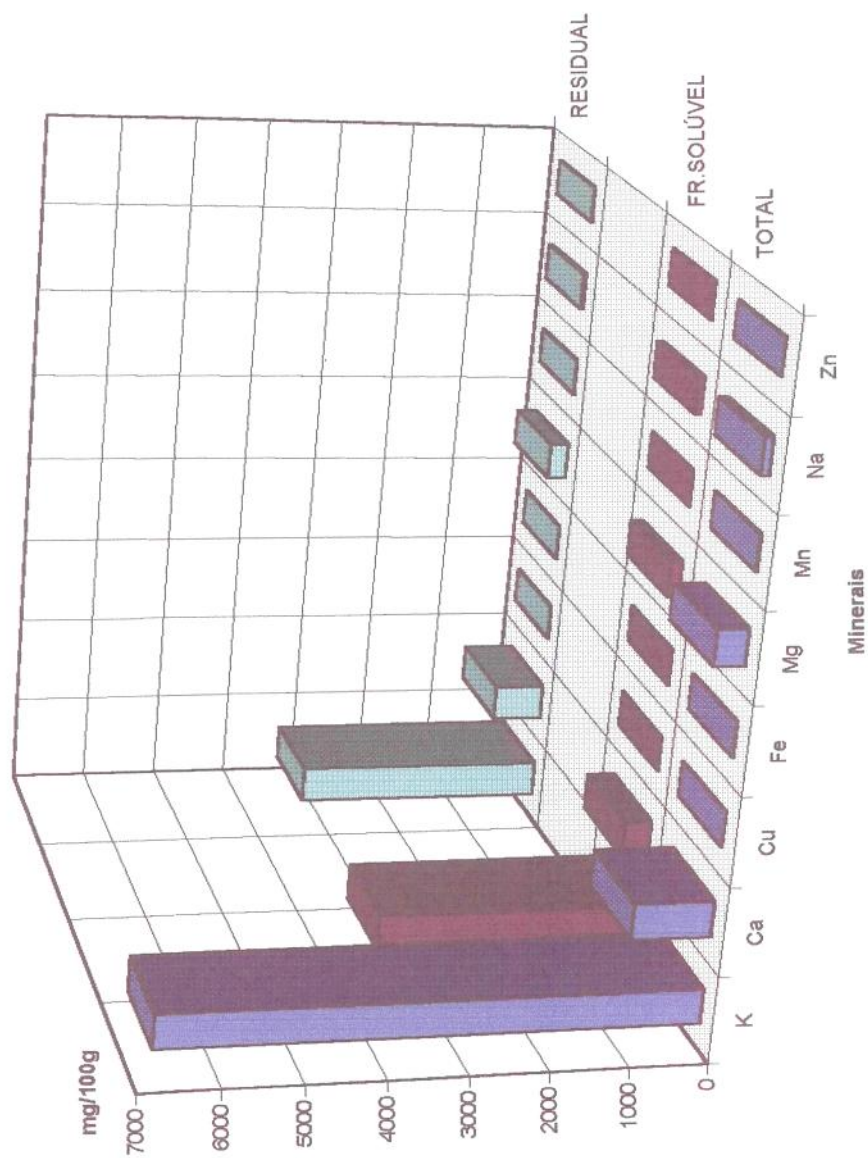
Amostra	Zn (µg/g)	
1	142,109	m = 145,439
2	153,912	s = 7,394
3	140,295	CV = 5,08%
4	105,356	m = 105,398
5	106,292	s = 0,874
6	104,546	CV = 0,83%
7	100,963	m = 102,190
8	103,757	s = 1,428
9	101,849	CV = 1,40%
10	102,586	m = 103,404
11	103,964	s = 0,724
12	103,662	CV = 0,70%
13	101,967	m = 102,282
14	103,059	s = 0,677
15	101,819	CV = 0,66%
16	109,117	m = 110,927
17	113,843	s = 2,550
18	109,820	CV = 2,30%
19	110,522	m = 110,829
20	110,775	s = 0,337
21	111,190	CV = 0,30%
22	108,732	m = 106,610
23	107,296	s = 2,536
24	103,802	CV = 2,38%
25	103,014	m = 100,044
26	97,002	s = 3,007
27	100,116	CV = 3,00%
28	96,964	m = 96,628
29	97,980	s = 1,548
30	94,94	CV = 1,60%
31	97,150	m = 95,372
32	93,753	s = 1,704
33	95,212	CV = 1,79%
34	96,514	m = 96,490
35	160,841	s = 0,034
36	96,466	CV = 0,04%
37	96,451	m = 96,842
38	96,625	s = 0,534
39	97,450	CV = 0,55%
40	105,457	m = 103,780
41	102,102	s = 2,372
42		CV = 2,29%
43	101,918	m = 100,911
44	99,304	s = 1,406
45	101,511	CV = 1,39%

Anexo 4 (cont.). Valores das 45 determinações realizadas para caracterizar a amostra como amostra de referência.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	8305,2973	701,6252	0,6949	10,006	262,5319	5,4428	87,5338	6,7163
2	4753,3145	811,6537	0,5392	6,8945	299,041	2,8598	62,4746	6,7954
3	7755,4651	1118,3404	0,7593	9,9461	502,0395	18,7019	167,4127	7,5427
4	8013,9571	1643,9366	1,7674	7,3681	555,2071	10,017	101,3531	6,737
5	6947,0107	793,9555	0,8229	16,2101	343,2376	7,9742	95,1806	7,7745
média	6755,00894	1013,90228	0,91674	10,08498	392,41142	8,99914	102,79096	7,11318
s	1306,88072	385,567314	0,48707422	3,71157716	128,962726	6,05328717	39,0324997	0,50543071
CV(%)	19,3468392	38,0280547	53,1311187	36,8030925	32,8641624	67,2651739	37,9726969	7,10555215

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	2917,7749	207,2031	0	8,0057	70,2486	2,0619	63,0871	2,0605
2	3157,9458	337,1715	0	3,2281	116,5378	1,455	69,0248	2,7542
3	3223,2221	262,3547	0	1,5845	166,078	4,7863	57,4625	1,9997
4	4042,2455	636,3504	0	7,5637	215,2064	2,4168	87,3709	1,4361
5	3888,3229	293,3492	0,3259	5,756	158,2052	1,2375	56,8168	2,5777
média	3445,90224	347,28578	0,06518	5,2276	145,2552	2,3915	66,75242	2,16564
s	490,608084	168,379225	0,14574691	2,77148819	54,6469143	1,41889848	12,5373358	0,52130016
CV(%)	14,2374348	48,4843419	223,606798	53,0164549	37,6213136	59,3309001	18,7818446	24,0714136

Anexo 5. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em alfafa.

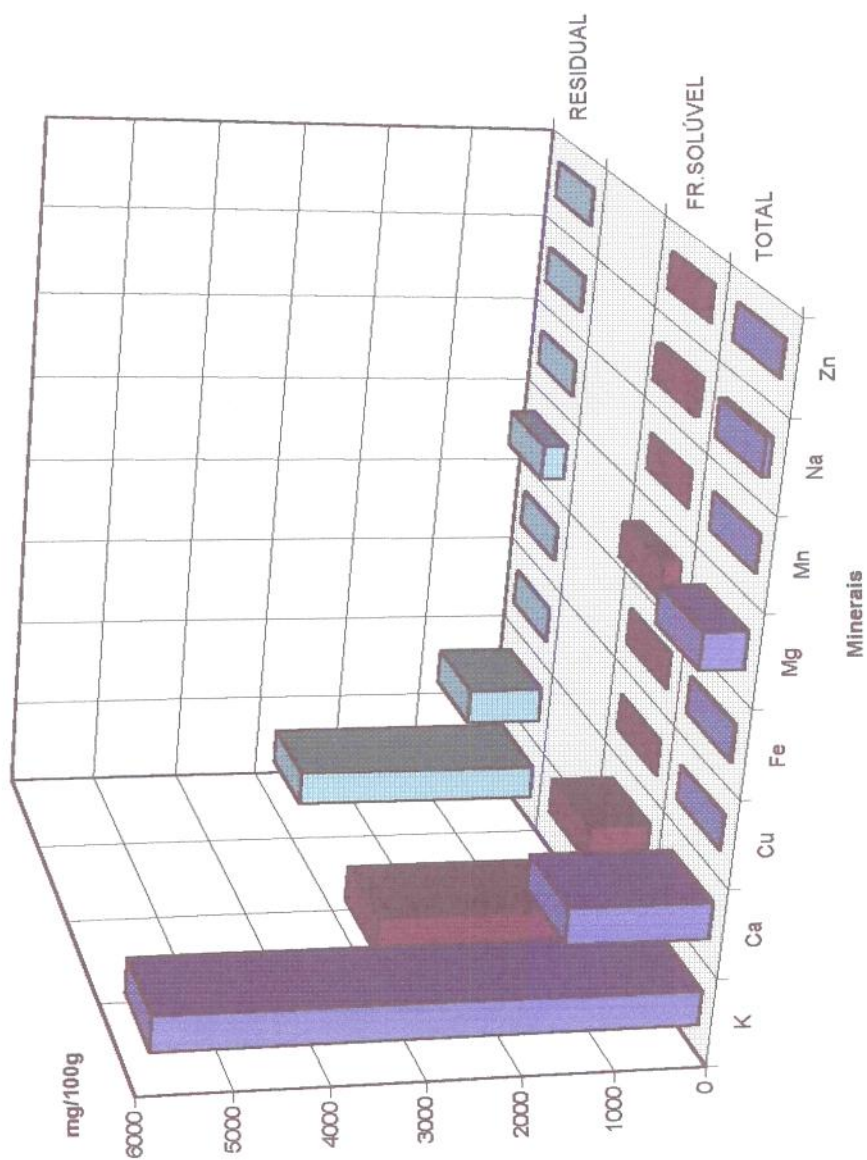


Anexo 6. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em alfafa.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	3068,6959	1407,9534	1,0294	4,4525	193,1526	1,8468	40,3708	4,3894
2	5949,225	1364,2341	0,4953	16,2739	514,6327	13,1287	69,2567	8,7218
3	6907,7265	1367,5054	1,5226	16,6579	542,0332	4,6664	89,1887	7,2844
4	7272,1253	1930,2003	1,4732	17,4128	598,1623	4,0773	104,3417	6,5062
5	5853,3251	1741,9235	6,7914	30,1715	529,8897	3,2881	36,2802	6,804
média	5810,21956	1562,36334	2,26238	16,99372	475,5701	5,40146	67,88762	6,74116
s	1649,153	259,1395	2,56539047	9,10690162	160,997025	4,44707345	29,7519525	1,56588431
CV(%)	28,3836606	16,5863787	113,393438	53,5898063	33,8534793	82,3309522	43,8252991	23,2287071

FR.SOLUVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	2262,9466	784,2413	0	2,2217	84,8867	1,048	48,9059	2,0121
2	2857,0369	415,7985	0	1,0467	194,1811	3,4022	34,6005	3,4789
3	3279,9696	705,5074	0	7,0742	231,5277	0,9598	69,226	2,7057
4	3427,8499	858,5555	0	7,8415	244,4967	0,5724	86,8927	2,4369
5	2958,9188	676,487	0	1,8038	268,2148	0,4875	21,6264	2,2897
média	2957,34436	688,11794	0	3,99758	204,2614	1,29398	52,2503	2,58466
s	452,137928	167,991229	0	3,19825831	71,6806907	1,20289876	26,2144711	0,55923502
CV(%)	15,2886466	24,4131447	0	80,0048806	35,0926268	92,9611554	50,1709484	21,6366957

Anexo 7. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em rúcula.

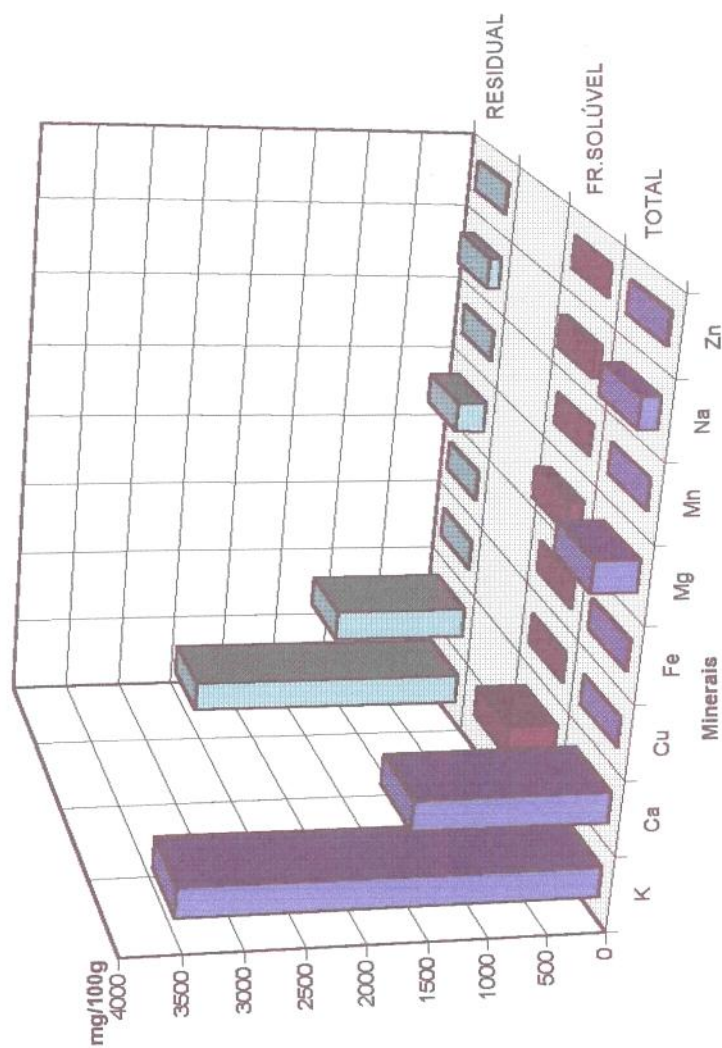


Anexo 8. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em rúcula.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	3436,0206	1610,354	1,5037	7,2134	317,9587	3,5662	115,7578	14,9721
2	3106,6874	1612,9578	1,9135	9,35	461,8148	3,9385	199,4793	15,0083
3	3473,6387	1643,6805	5,899	9,4239	479,723	2,5839	159,9955	17,3774
4	3813,6093	1898,5356	0,9443	13,2873	402,0915	1,202	149,2265	12,692
5	4274,2793	1441,9609	1,2872	11,5375	299,119	4,0851	221,5598	10,8165
6	3048,5233	1527,8293	0,7516	12,5471	353,1508	0,9341	114,6253	10,1397
média	3525,45977	1655,88635	2,04988333	10,5615333	385,642967	2,7183	160,107367	13,501
s	459,844392	172,008711	1,92987853	2,29571011	74,8959983	1,38394822	43,5441361	2,77927776
CV(%)	13,0435297	10,3877123	94,1457741	21,7365229	19,421072	50,9122694	27,1968348	20,5857178

FR. SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	1639,4115	600,1376	0,2278	5,7421	152,2551	1,2252	78,1709	6,0816
2	1265,3241	639,4242	0,5768	7,3975	150,7485	0,534	82,2184	4,136
3	1737,2707	588,8724	0	0	238,3822	0,359	65,2673	3,9467
4	577,7873	272,0537	0,111	0,2482	59,6279	0	26,593	1,5288
5	864,7182	234,2614	0,2071	0,3584	65,1148	0	54,1211	1,8458
6	51,39956	287,3537	0,1172	0,3378	73,5013	0	32,4562	2,0858
média	1022,65189	437,017167	0,20665	2,34733333	123,271633	0,35303333	56,47115	3,27075
s	650,559898	190,451513	0,19865195	3,31478623	70,3637552	0,48318875	23,1780788	1,76498705
CV(%)	63,6149698	43,57987	96,1296658	141,214977	57,080249	136,867741	41,0441063	53,9627625

Anexo 9. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em agrião.

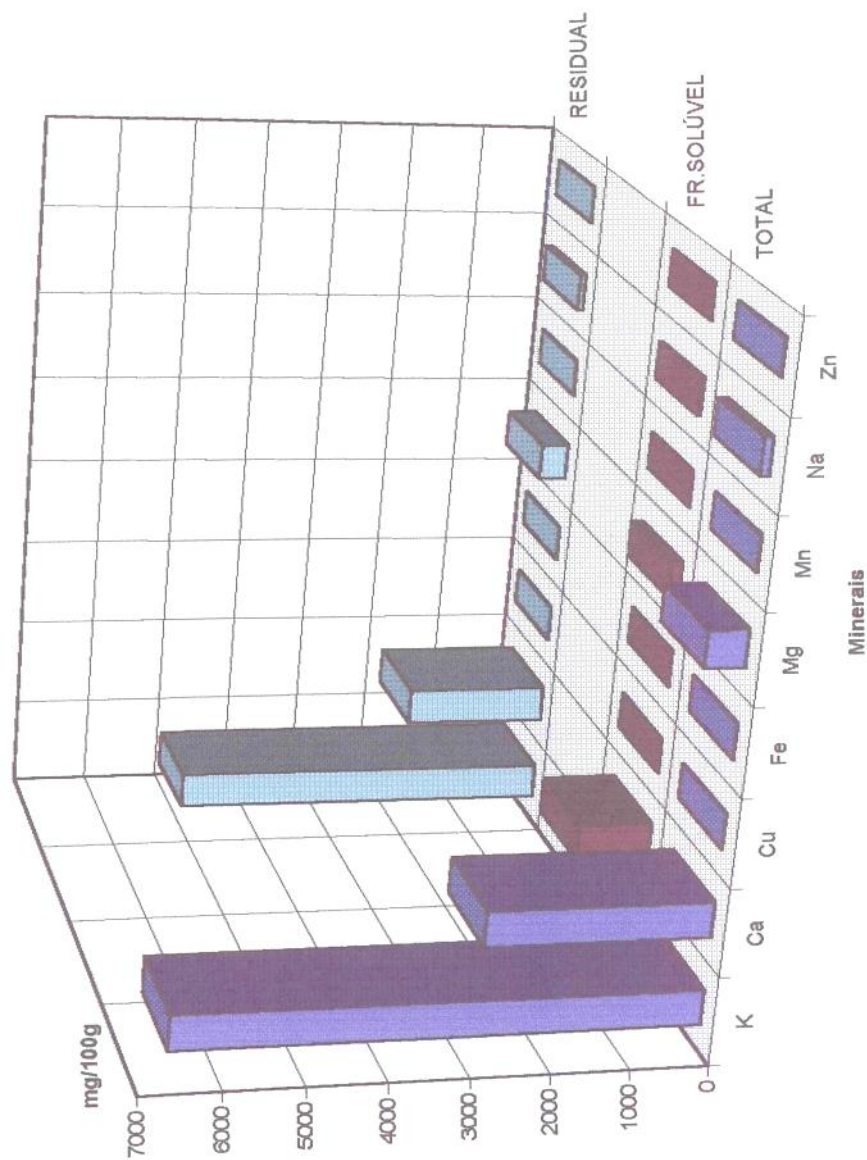


Anexo 10. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em agrião.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	13063,2566	2185,4174	0,221	4,3198	396,5026	2,3286	125,543	1,6616
2	5891,1966	3134,876	0,1718	5,1224	474,82	4,183	52,9826	2,8308
3	4012,1451	2860,2329	0,347	0,347	572,2247	2,3558	167,9318	3,4386
4	5398,7521	2311,1962	0,7093	2,4435	484,8429	2,9344	76,0154	3,3788
5	4781,5919	3769,821	0,2891	5,7471	621,0269	4,4914	149,5408	3,2601
média	6589,38846	2852,3087	0,34764	3,59596	505,88342	3,25864	111,61765	2,91398
s	3675,78713	644,065726	0,2128278	2,20029952	89,8228959	1,01972603	55,7226408	0,73933372
CV(%)	55,7834334	22,5805056	61,220746	61,1880977	17,7556513	31,2929942	49,9227862	25,3719559

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	1031,718	731,6085	0	0	105,151	0,6407	43,7225	0,4495
2	2432,4802	1286,1433	0	0	172,8495	1,4971	34,3341	1,1578
3	1670,385	997,1086	0	0	163,5346	0,4138	60,3962	0,7854
4	1838,3296	930,023	0	1,8199	126,8402	1,2506	27,4739	0,9057
5	867,944	831,8605	0	0,6937	126,9321	0,8954	33,4088	0,33
média	1568,17136	955,30878	0	0,50272	139,06148	0,93952	39,8671	0,72568
s	634,145771	210,457114	0	0,79523875	28,2266102	0,44025212	12,8668488	0,33748831
CV(%)	40,4385508	22,0302711	0	158,187213	20,297936	46,8592598	32,2743535	46,5037351

Anexo 11. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve crua.

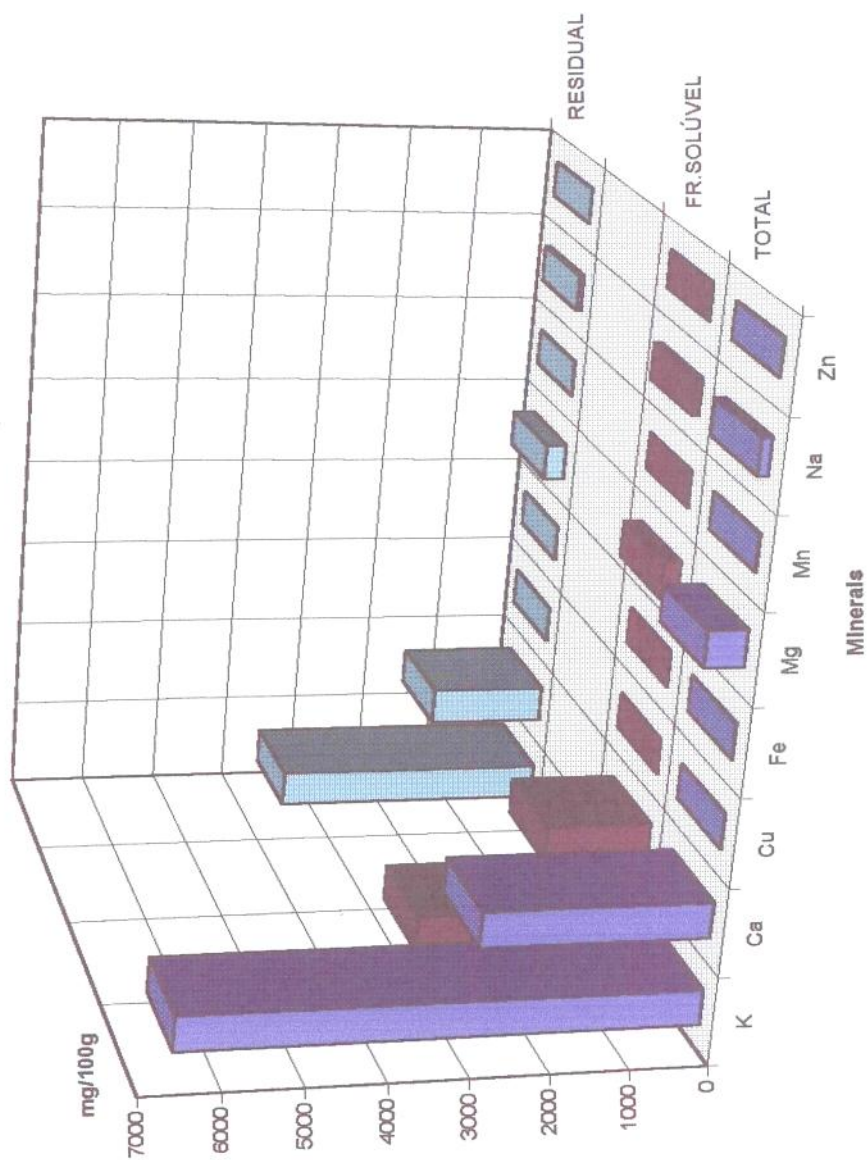


Anexo 12. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve crua.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	11062,9429	2155,8371	0,2379	4,2097	398,697	2,2477	133,6174	1,8454
2	5687,5868	2203,3561	0,2254	4,9728	417,7259	5,6937	59,546	3,1595
3	5222,4901	3297,7088	0,3345	2,1419	571,5332	2,6853	168,5553	2,7415
4	6046,5822	3161,1904	1,1636	4,1897	517,3559	2,3786	126,5014	3,6062
5	4592,4327	3678,1714	0,4271	5,5308	639,4022	4,61	149,4331	3,4867
média	6522,40294	2899,25276	0,4777	4,20898	493,29525	3,52306	127,53064	2,96786
s	2595,88155	683,928321	0,39200916	1,28489504	110,432047	1,54363939	41,2999992	0,71143413
CV(%)	39,7994661	23,5898136	82,0817887	30,5274684	22,3866026	43,8153022	32,3843738	23,9712834

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	1437,0248	808,2029	0	0	140,8029	0,8509	70,1094	0,5347
2	2726,4877	1296,6407	0	0	175,7935	1,5749	49,5693	1,8685
3	3254,0791	1765,0336	0	0	298,3355	0,5992	95,9449	0,8855
4	3903,9406	1222,4969	0	3,0572	216,349	1,3203	70,4327	1,6338
5	3413,027	1706,6257	0	1,3057	279,5348	2,0623	93,4523	0,8328
média	2946,91184	1359,79996	0	0,87258	222,16314	1,28152	75,90172	1,15106
s	942,85004	391,025234	0	1,34576805	66,8901568	0,58055734	19,1481684	0,56997133
CV(%)	31,9945112	28,7560852	0	154,226386	30,1085754	45,3022456	25,2275817	49,5170822

Anexo 13. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve cozida.

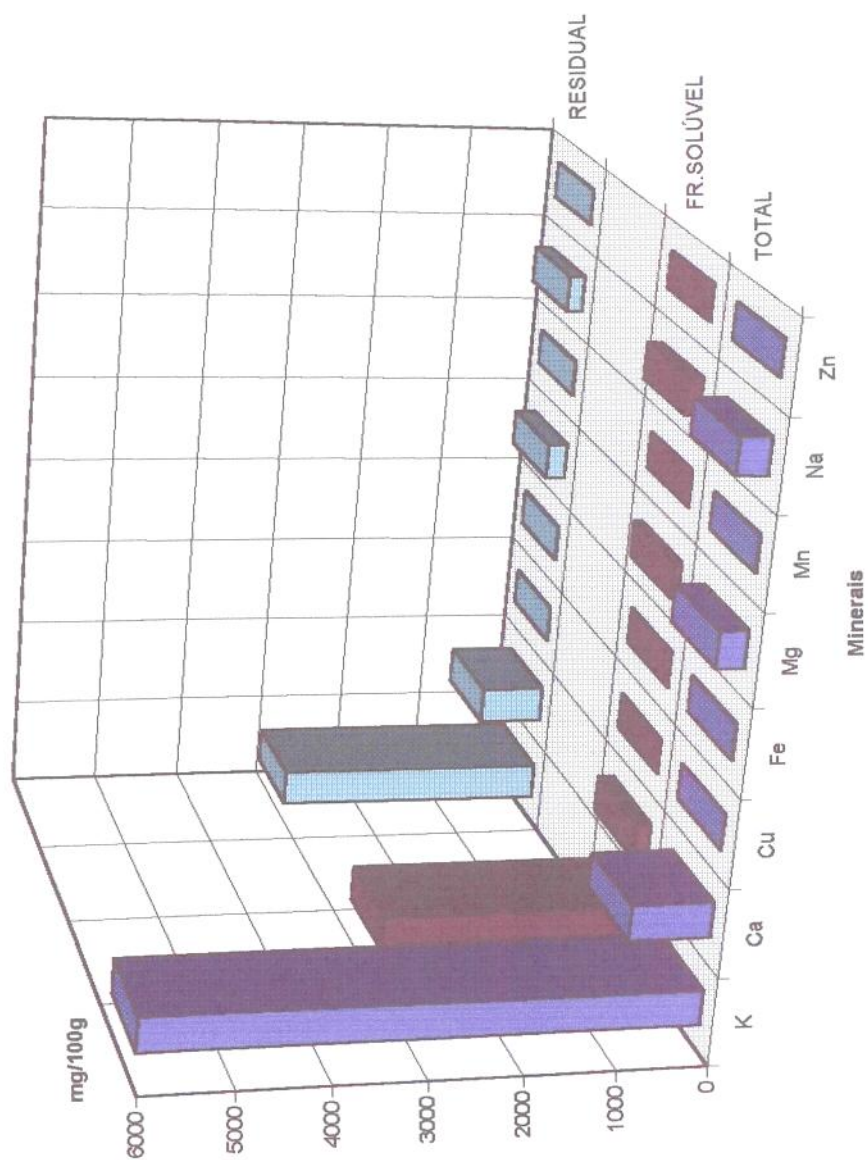


Anexo 14. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve cozida.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	2426,27487	720,7105	0,7251	12,807	344,7773	2,6325	146,0345	2,9789
2	6870,7236	1011,9614	0	9,7928	379,7815	8,1511	260,1363	5,4621
3	8606,0416	987,9862	1,1424	6,9555	282,6772	6,4812	418,6484	5,429
4	7098,2438	860,8979	1,157	9,5108	215,4266	2,4029	482,7942	3,3188
5	6782,7328	874,9538	1,5592	6,984	307,8678	4,6909	364,2792	4,6192
média	5956,80333	891,30196	0,856675	9,21002	306,10608	4,87172	334,37852	4,3616
s	1981,56741	116,4041	0,66492711	2,41900763	62,6464583	2,47419852	133,236683	1,16362493
CV(%)	33,2656175	13,0600072	77,6171956	26,2849553	20,465604	50,7869607	39,8460651	26,6788548

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	3112,6007	170,8748	0	0	80,4697	2,6325	146,0345	2,9789
2	3869,3813	153,392	0	0	126,6868	2,9235	219,7534	2,4347
3	3166,9938	221,042	0	0,5062	91,1279	1,5074	172,875	1,6194
4	2555,1623	161,798	0,4007	0,498	53,4681	0,5561	165,3443	1,2996
5	1815,0645	131,0455	0,2851	0,6428	57,6702	0,6972	84,5202	1,2534
média	2903,84052	167,63066	0,13716	0,3294	81,88454	1,66334	157,70548	1,9172
s	766,829378	33,3108684	0,19220963	0,30615049	29,5318146	1,08524174	49,0680835	0,75923616
CV(%)	26,4074206	19,8715846	0	92,9418597	36,0651896	65,2447329	31,1137466	39,8013018

Anexo 15. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em escarola crua.

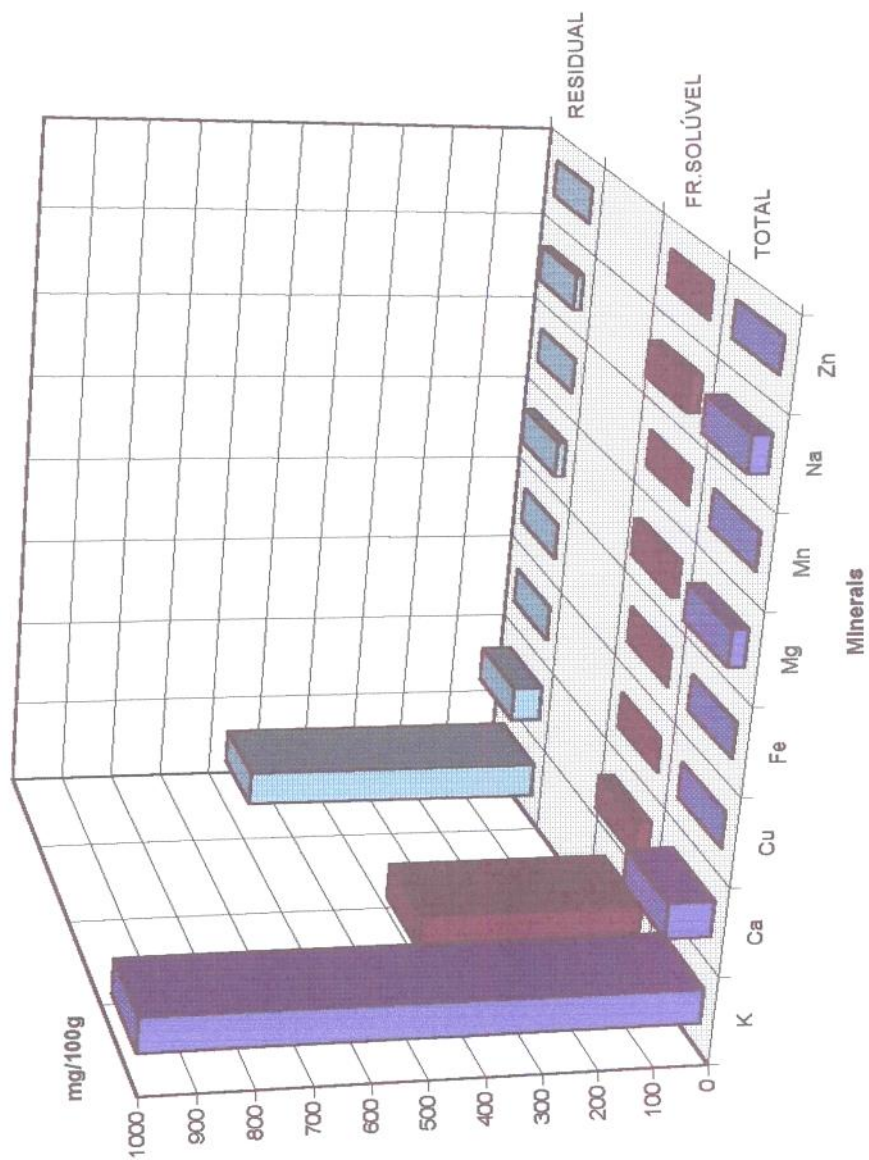


Anexo 16. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em escarola crua.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	2229,85123	59,74288	0,11978	0,85957	28,30504	0,21017	14,24705	0,27075
2	791,40837	109,82713	0,09748	1,00486	36,21595	0,90082	34,01243	0,70189
3	683,16171	96,50497	0,15152	0,63363	27,74353	0,53978	48,49906	0,51802
4	658,6104	82,67956	0,11701	0,9698	20,85599	0,24087	43,86393	0,35158
5	605,44621	67,89897	0,1423	0,56336	27,78259	0,42276	31,26105	0,4222
média	993,695584	83,330702	0,125618	0,806244	28,14062	0,46288	34,376704	0,452888
s	694,343546	20,4363018	0,02150075	0,19863961	5,51233936	0,27949305	13,2711281	0,16630055
CV(%)	69,8748749	24,5243365	17,1159817	24,6376539	19,5885498	60,3813184	38,6050044	36,7200164

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	516,58998	25,81765	0	0	11,97465	0,10703	11,3896	0,14045
2	443,40244	25,35338	0	0	14,50457	0,30392	22,94719	0,45423
3	483,60005	36,44894	0	0,07781	13,60884	0,19836	32,89711	0,27615
4	314,82401	20,12046	0,04392	0,05256	6,61552	0,08727	20,4906	0,14996
5	319,44391	23,00711	0,05348	0,07586	9,73477	0,1563	16,60123	0,21737
média	415,572078	26,149508	0,01948	0,041246	11,28767	0,170576	20,865146	0,247632
s	93,5384258	6,18559484	0,02688738	0,03894075	3,17996467	0,08621827	8,01888866	0,12790582
CV(%)	22,5083519	23,6547274	0	94,4109629	28,1720202	50,5453703	38,4319796	51,6515733

Anexo 17. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em escarola cozida.

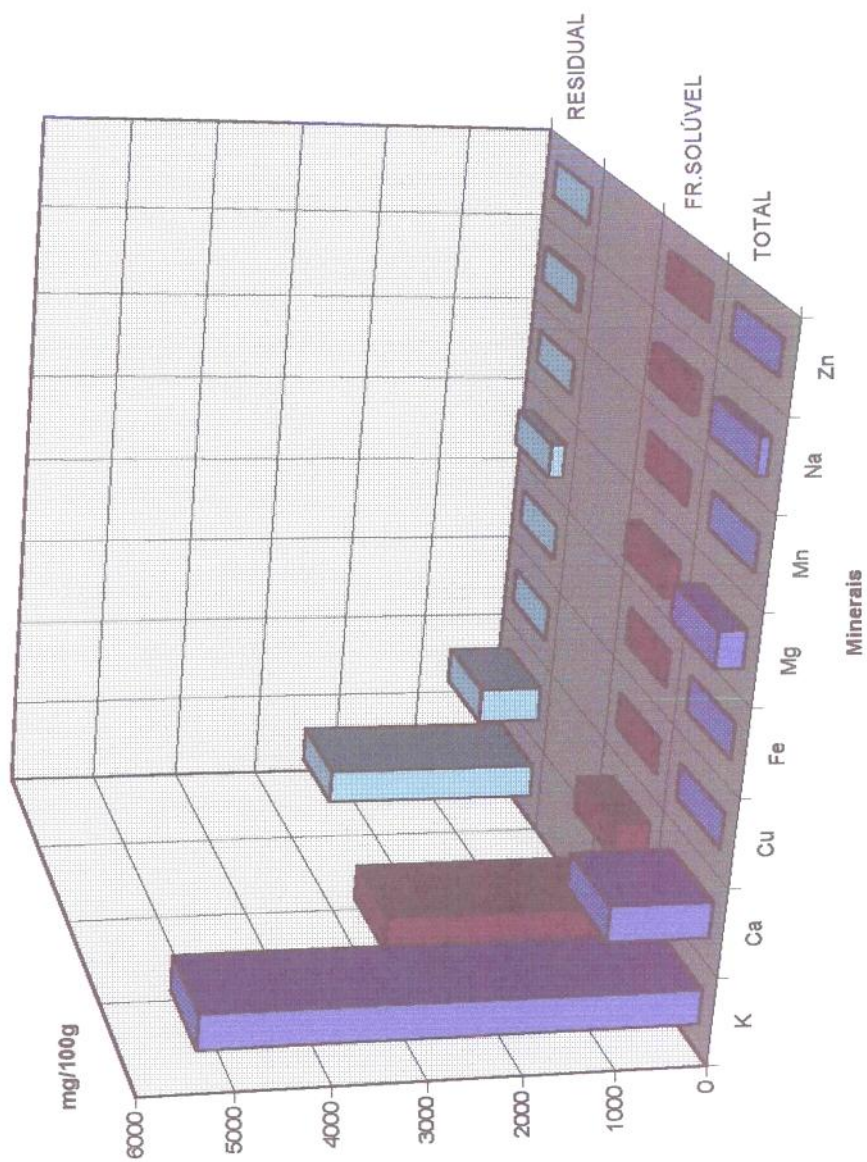


Anexo 18. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em escarola cozida.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	9713,1953	1084,4838	0,5909	3,9584	422,6893	4,3526	96,8381	5,8495
2	3879,7665	1601,4513	0,5606	6,6458	344,3062	2,6346	167,2717	5,8578
3	4285,4851	1071,743	1,1723	3,883	280,9999	2,2972	97,7704	4,6621
4	5133,8237	902,2502	1,5564	4,8847	248,1454	3,4186	170,4535	6,3698
5	3700,9632	945,3708	0,8199	4,4236	205,2632	4,1283	48,6762	5,1372
média	5338,64676	1121,05982	0,94002	4,7591	300,2808	3,3663	116,20198	5,57528
s	2507,02226	279,861667	0,4225374	1,12878742	85,2060357	0,89919882	52,0234507	0,67306909
CV(%)	46,9598827	24,9640261	44,9498312	23,7185061	28,3754525	26,7117849	44,7698487	12,0723818

FR.SOLUVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	3373,9155	424,005	0	0	201,7402	1,2217	57,01	2,5376
2	3485,6539	615,5527	0	0	164,0501	1,5192	180,8479	3,5066
3	3694,6234	389,6861	0	0	120,8357	0	59,5872	2,6684
4	1989,7015	274,7098	0	1,2651	93,6576	0,8605	71,0449	2,4902
5	1725,2419	235,9748	0	0,3185	71,349	0,7555	18,508	1,7087
média	2853,82724	387,98568	0	0,31672	130,32652	0,67138	77,3996	2,5823
s	921,55481	149,185928	0	0,54780527	52,7973171	0,57342055	61,1211316	0,63941402
CV(%)	32,291892	38,4514005	0	172,962008	40,5115682	85,6060261	78,9682784	24,761415

Anexo 19. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve chinesa crua.

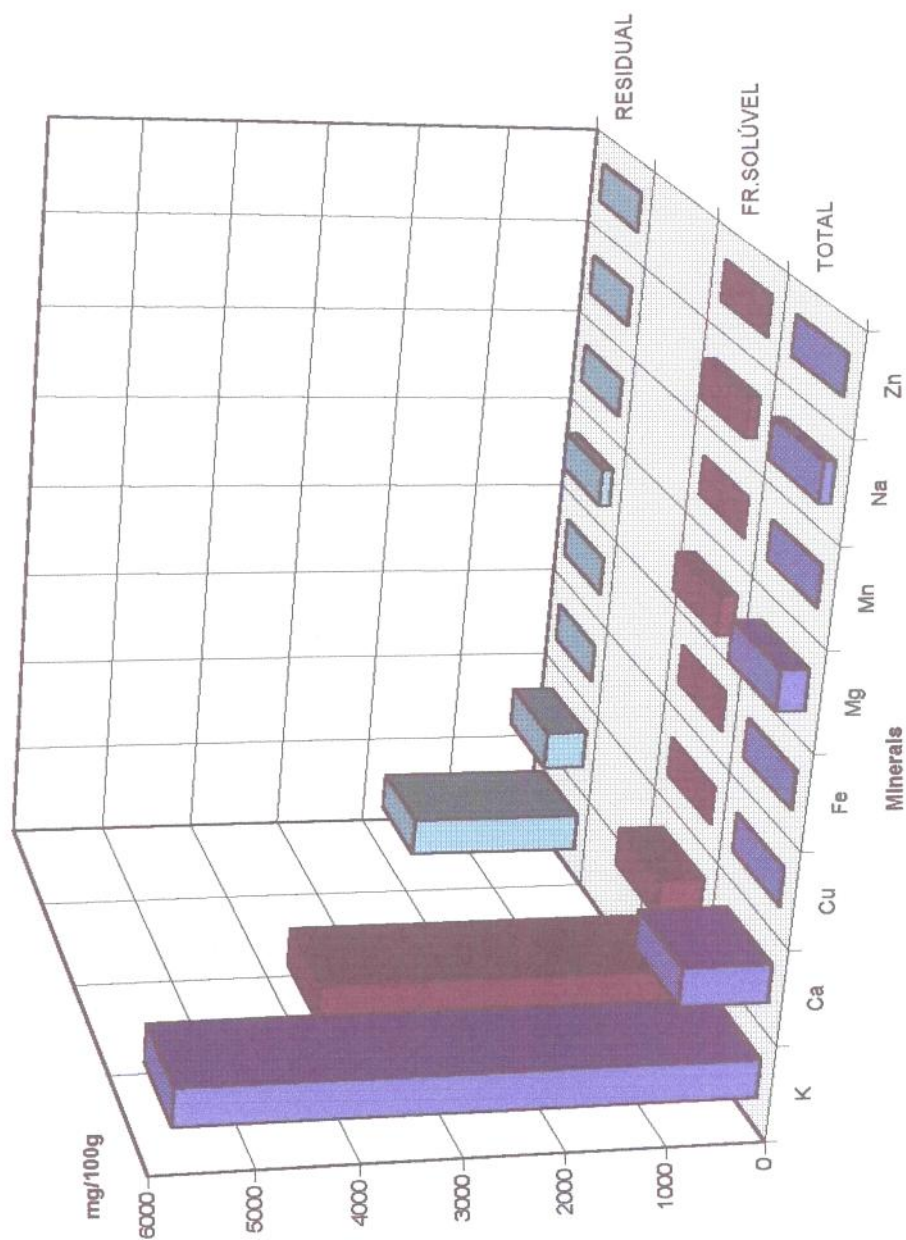


Anexo 20. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve chinesa crua.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	7906,2983	856,3069	0,6378	4,3453	391,3271	4,9727	90,1438	7,5213
2	3946,7487	1460,0551	0,4277	5,7644	300,1831	2,5205	154,8366	5,2671
3	3770,6341	846,7369	1,1801	2,9047	258,057	2,0028	88,9808	4,9423
4	4866,2258	952,2884	1,6159	5,1247	248,3301	3,5279	169,4505	6,543
5	4427,272	942,6484	0,4531	4,2972	202,3327	3,7275	47,4473	4,7641
média	5733,26537	899,49515	0,86292	4,48726	280,046	3,35028	110,1718	5,82756
s	1894,65675	55,6716209	0,5185629	1,07216929	71,2701856	1,15220741	50,7283225	1,22046153
CV(%)	33,0467304	6,18920745	60,0939717	23,8936297	25,4494567	34,3913765	46,0447433	20,9429253

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	3896,9508	476,2653	0	0	255,4816	2,5371	70,237	3,8539
2	4090,8114	663,7761	0	0	180,8879	1,8554	221,4837	4,2709
3	4759,0155	396,5101	0,4515	0	141,9672	0,4908	80,3346	4,1858
4	3344,4121	339,1649	0	1,4602	143,2398	1,4241	116,9088	4,3368
5	3483,2406	421,0441	0	1,1121	112,1473	1,2998	41,521	3,572
média	3874,88608	459,3521	0,0903	0,51446	186,74476	1,52144	106,09702	4,04388
s	568,937247	124,435537	0,20191694	0,71512324	55,2755562	0,75231521	69,9118842	0,32258512
CV(%)	14,6826632	27,0893584	223,606798	139,004634	33,149801	49,4475765	65,8942958	7,9771189

Anexo 21. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve chinesa cozida.

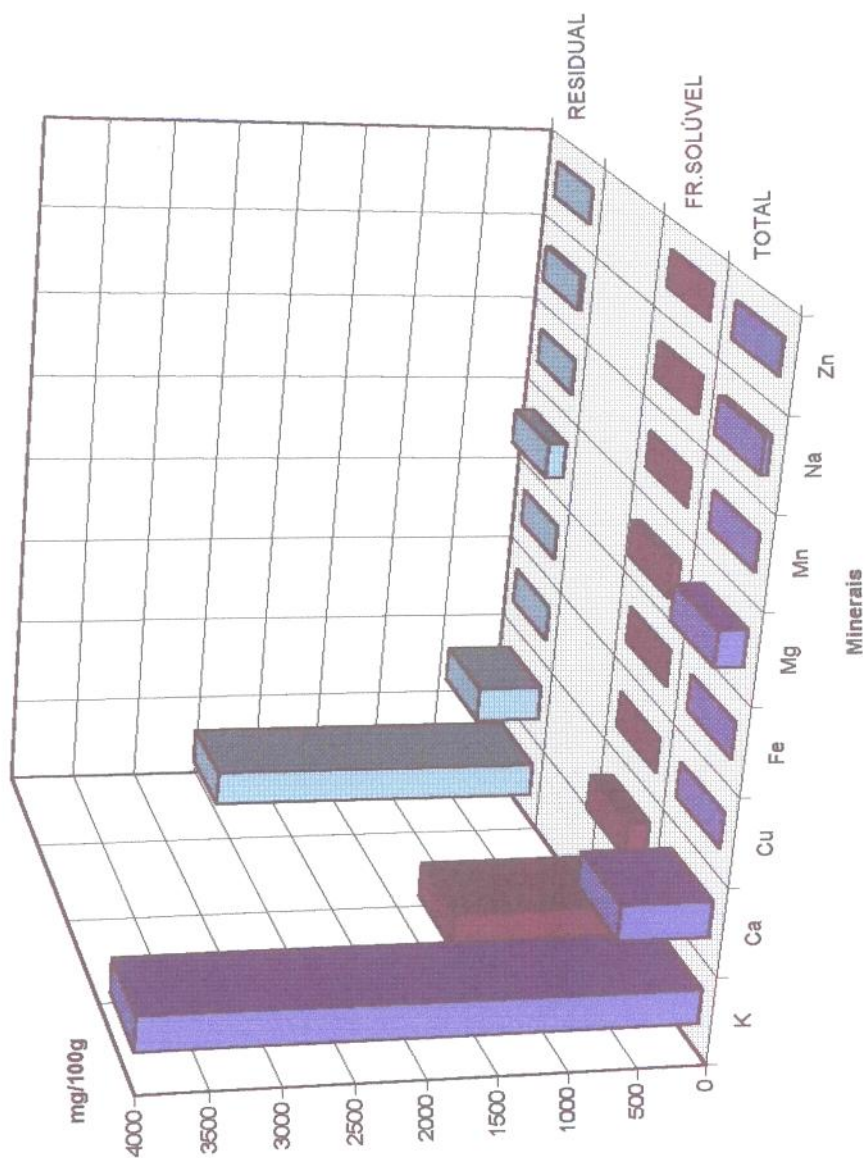


Anexo 22. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em couve chinesa cozida.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	6560,0836	664,8204	0,3258	2,4682	264,2808	4,0126	32,6877	2,225
2	3454,2325	748,1629	0	1,7413	195,472	4,1901	64,5038	4,4025
3	3512,2233	554,328	0,3253	1,5337	194,5685	1,7893	35,767	2,2642
4	2935,017	841,4341	0,4929	2,4466	189,3383	3,9942	54,2783	2,7342
5	3401,8851	512,196	1,4584	2,3416	174,6999	2,2812	25,2582	2,4786
média	3972,6883	664,1828	0,52048	2,10628	203,6719	3,25348	42,499	2,8209
s	1464,41259	135,682673	0,55392905	0,43681734	34,8868811	1,12819965	16,2925577	0,90707723
CV(%)	36,8620057	20,428345	106,426576	20,7388067	17,1289614	34,6767046	38,336332	32,155597

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	1679,9256	201,08	0	0	107,8899	0	18,3401	0,775
2	1964,4756	201,1202	0	0	67,8603	1,5795	35,6758	1,2385
3	1313,4396	158,2621	0	0	61,6888	0,2334	11,3037	0,3181
4	1242,3731	161,6092	0,203	0	33,2954	0,4796	15,6724	0,6654
5	827,3664	86,3828	0	3,9875	39,4849	1,3302	4,4976	0,2914
média	1405,51606	161,29086	0,0406	0,7975	62,04386	0,72454	17,09792	0,65768
s	435,053759	46,9205691	0,09078436	1,78326421	29,4584328	0,69353316	11,6302815	0,38750841
CV(%)	30,9533111	29,0906559	0	223,606798	47,480013	95,7204786	68,0216162	58,9205098

Anexo 23. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em repolho cru.

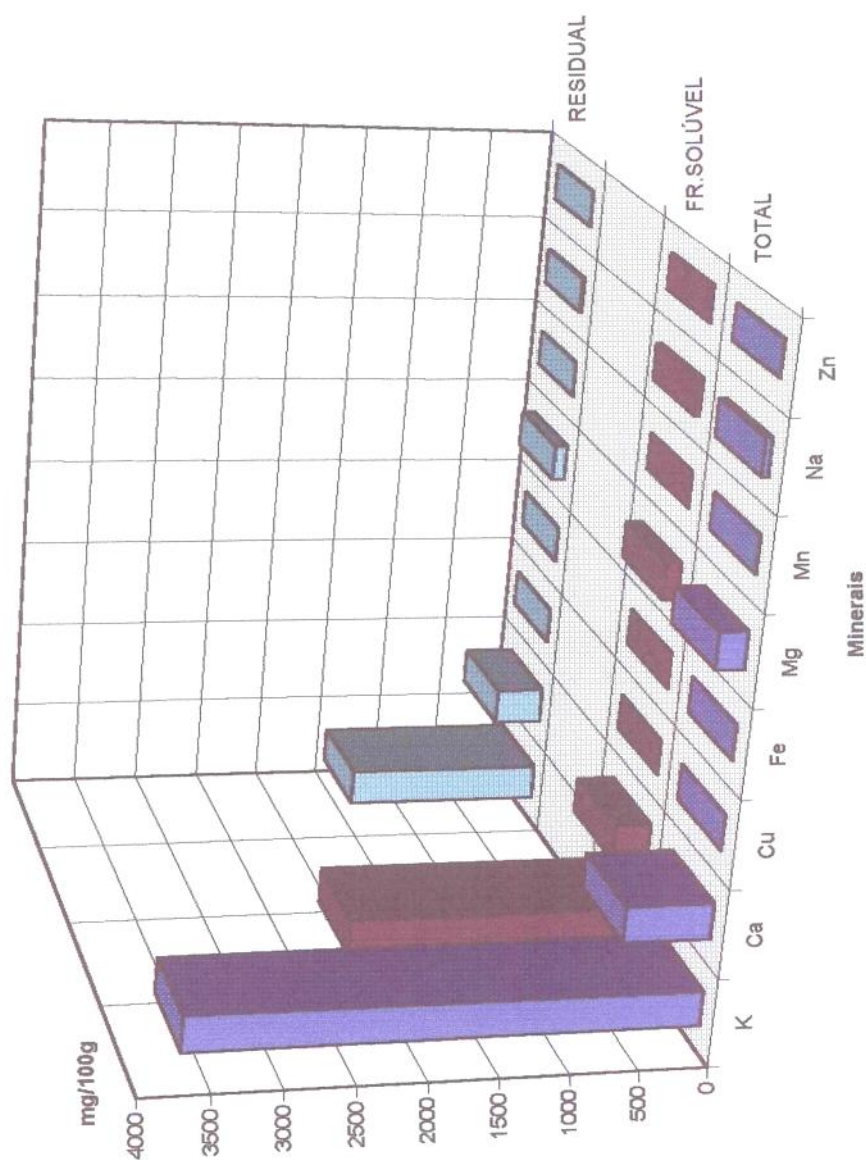


Anexo 24. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em repolho cru.

TOTAL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	5797,7118	615,8627	0,3355	2,6041	253,1574	4,0044	32,0543	2,2681
2	3248,8663	598,7048	0,2009	1,8653	171,6762	3,5313	58,8414	4,2558
3	2938,2984	516,4417	0,3277	1,3965	176,1786	1,7597	30,9796	2,1168
4	2889,0158	724,8534	0,5359	2,2712	181,5687	4,1049	47,3793	2,9694
5	3370,3959	715,8171	1,4619	2,5402	245,4912	1,3573	61,5695	3,0501
média	3668,85764	634,33594	0,57238	2,13546	205,61442	2,95152	46,16482	2,93204
s	1203,4735	87,0954657	0,51150622	0,50520084	40,1464801	1,29778262	14,3976777	0,8475121
CV(%)	32,802404	13,7301799	89,3647959	23,6577058	19,5251287	43,9699754	31,1875529	28,9052026

FR.SOLÚVEL	K(mg/100g)	Ca(mg/100g)	Cu(mg/100g)	Fe(mg/100g)	Mg(mg/100g)	Mn(mg/100g)	Na(mg/100g)	Zn(mg/100g)
1	2178,7631	276,2244	0	0	154,8884	2,4414	23,3794	1,3895
2	2028,8992	229,4972	0	0	78,6513	1,8458	35,7248	2,1467
3	1519,7369	203,1651	0,136	0	86,1324	0,446	17,8019	0,8394
4	3241,1301	360,0588	0,2552	0	101,7651	2,0442	50,0207	2,5688
5	1939,1998	294,5084	0	4,8642	144,1941	1,6826	37,4368	1,6312
média	2181,54582	272,69078	0,07824	0,97284	113,12626	1,692	32,87272	1,71512
s	640,849089	60,8711168	0,11512553	2,17533637	34,4802636	0,75198138	12,6517898	0,66988568
CV(%)	29,375917	22,3223964	0	223,606798	30,4794516	44,4433441	38,4872011	39,0576567

Anexo 25. Teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em repolho cozido.



Anexo 26. Gráfico dos valores médios do teor total e fração solúvel (mg/100g base seca) de potássio, sódio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco em repolho cozido.

Mineral	Couve1		Couve2		Couve3		Couve4		Couve5	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Potássio	1621,15	1713,6	568,5505	693,3168	350,2603	482,0358	580,3658	741,3085	440,8628	450,0584
Sódio	15,5799	20,6973	5,293	7,2587	14,6604	15,5576	8,1717	15,5091	13,7877	14,6444
Cálcio	271,2103	333,9392	313,1741	268,5891	249,6983	304,3785	248,4536	387,562	347,5775	360,4608
Magnésio	49,206	61,7582	47,4345	50,9208	49,9552	52,7525	49,9706	63,4278	57,2587	62,6614
Ferro	0,5361	0,6521	0,5117	0,6062	0,0303	0,1977	0,2627	0,5137	0,5299	0,542
Manganês	0,289	0,3482	0,4179	0,6941	0,2057	0,2478	0,3154	0,2916	0,4141	0,4518
Cobre	0,0274	0,0368	0,0172	0,0275	0,0295	0,0309	0,0762	0,1427	0,0288	0,0419
Zinco	0,2062	0,2859	0,2828	0,3652	0,3002	0,253	0,3632	0,4421	0,3006	0,3417
Sólidos Totais	12,41	15,49	9,99	12,19	8,73	9,23	10,75	12,26	9,22	9,81

Anexo 27. Total de minerais (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de couve crua e cozida.

Mineral	Couve1		Couve2		Couve3		Couve4		Couve5	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Potássio	128,0362	222,5951	243,0048	332,3589	145,8248	300,3515	197,6204	478,6231	80,0244	334,4766
Sódio	5,426	10,86	3,43	6,0425	5,2726	8,8557	2,9534	8,635	3,0803	9,1583
Cálcio	90,7926	125,1908	128,4857	158,0605	87,0476	162,9126	99,9775	149,8781	76,6791	167,2493
Magnésio	13,0492	21,8104	17,2677	21,4292	14,2766	27,5364	13,6353	26,5244	11,7031	27,3944
Ferro	0	0	0	0	0	0	0,1956	0,3748	0,064	0,128
Manganês	0,0795	0,1318	0,1496	0,192	0,0381	0,0553	0,1344	0,1619	0,0826	0,2021
Cobre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zinco	0,0558	0,0828	0,1157	0,2266	0,0686	0,0817	0,0974	0,2003	0,0304	0,0816
Sólidos Totais	12,41	15,49	9,99	12,19	8,73	9,23	10,75	12,26	9,22	9,81

Anexo 28. Minerais solúveis (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de couve crua e cozida.

Mineral	Escarola1		Escarola2		Escarola3		Escarola4		Escarola5	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Potássio	1691,114	1893,144	285,8221	384,6245	334,9263	376,4221	477,7118	521,6194	398,8247	416,547
Sódio	10,1786	12,0958	10,8217	16,53	21,2255	26,723	32,492	34,7402	21,4196	21,5076
Cálcio	50,2335	50,7217	42,0976	53,376	50,0909	53,1742	57,9384	65,4822	51,4473	48,7145
Magnésio	24,031	24,031	15,7989	17,601	14,3317	15,2867	14,4982	16,3595	18,1026	19,1144
Ferro	0,8926	0,7298	0,4074	0,4884	0,3526	0,3491	0,6401	0,7681	0,4107	0,3876
Manganês	0,1835	0,1784	0,3391	0,4378	0,3286	0,2974	0,1617	0,1908	0,2758	0,2909
Cobre	0,0505	0,1017	0	0,0474	0,058	0,0835	0,0779	0,0927	0,0917	0,0979
Zinco	0,2076	0,2299	0,2272	0,3411	0,2752	0,2854	0,2234	0,2784	0,2716	0,2905
Sólidos Totais	6,97	8,49	4,16	4,86	5,07	5,51	6,73	7,92	5,88	6,88

Anexo 29. Total de minerais (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de escarola crua e cozida.

Mineral	Escarola1		Escarola2		Escarola3		Escarola4		Escarola5	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Potássio	216,9483	438,5849	160,9663	215,4936	160,5666	266,4636	171,9624	249,3406	106,7258	219,7774
Sódio	10,1786	9,5698	9,1417	11,1523	8,7648	18,1263	11,1277	16,2286	4,9698	11,4216
Cálcio	11,91	21,9192	6,3811	12,3217	11,2068	20,0834	10,889	15,9354	7,7055	15,8289
Magnésio	5,6087	10,1665	5,2702	7,0492	4,6202	7,4985	3,5984	5,2395	3,391	6,6975
Ferro	0	0	0	0	0,0257	0,0429	0,0335	0,0416	0,0378	0,0522
Manganês	0,1835	0,0909	0,1216	0,1477	0,0764	0,1093	0,0374	0,0891	0,041	0,1075
Cobre	0	0	0	0	0	0	0,027	0,0348	0,0168	0,0368
Zinco	0,2076	0,1192	0,1013	0,2208	0,0821	0,1522	0,0875	0,1188	0,0737	0,1496
Sólidos Totais	6,97	8,49	4,16	4,86	5,07	5,51	6,73	7,92	5,88	6,88

Anexo 30. Minerais solúveis (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de escarola crua e cozida.

Mineral	Couve Chinesa 1		Couve Chinesa 2		Couve Chinesa 3		Couve Chinesa 4		Couve Chinesa 5	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Potássio	415,7248	445,9152	135,7918	157,0808	185,122	218,3197	240,7763	238,4451	164,6929	222,2491
Sódio	4,1447	5,0841	5,8545	6,1625	4,2432	5,152	7,9943	8,3031	2,1661	2,3818
Cálcio	46,4159	48,2957	58,0508	58,1102	46,5137	49,0261	42,3155	46,6621	42,069	47,321
Magnésio	18,0911	22,0708	12,0507	11,9473	12,1954	14,9415	11,638	12,1682	9,1342	10,1571
Ferro	0,1694	0,2451	0,2326	0,2294	0,1685	0,1682	0,2291	0,2511	0,1968	0,2157
Manganês	0,1863	0,2805	0,0922	0,1003	0,0997	0,116	0,1603	0,1729	0,1837	0,1871
Cobre	0,0253	0,036	0,0196	0,017	0,0509	0,0683	0,073	0,0792	0,0365	0,0227
Zinco	0,2504	0,4298	0,205	0,2066	0,2023	0,2862	0,2987	0,3206	0,2286	0,2392
Sólidos Totais	4,28	5,64	3,5	3,98	4,34	5,79	4,69	4,9	4,45	5,02

Anexo 31. Total de minerais (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de couve chinesa crua e cozida.

Mineral	Couve Chinesa 1		Couve Chinesa 2		Couve Chinesa 3		Couve Chinesa 4		Couve Chinesa 5	
	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida	Crua	Cozida
Potássio	144,4036	445,9152	121,9979	157,0806	160,3467	218,3197	93,317	238,4451	76,7733	222,2491
Sódio	2,44	5,0841	6,3297	6,1625	2,5861	5,152	3,332	8,3031	0,8236	2,3818
Cálcio	18,1474	48,2957	21,5443	58,1102	16,9124	49,0261	42,3155	48,6621	42,069	47,321
Magnésio	8,6345	22,0708	5,7418	11,9473	5,2443	14,9415	4,3925	12,1682	3,175	10,1571
Ferro	0	0,2451	0	0,2294	0	0,1682	0,0593	0,2511	0,0142	0,2157
Manganês	0,0523	0,2805	0,0532	0,1003	0	0,116	0,1603	0,1729	0,1837	0,1871
Cobre	0,0253	0,036	0,0196	0,017	0,0509	0,0683	0,073	0,0792	0,0365	0,0227
Zinco	0,2504	0,4298	0,205	0,2096	0,2023	0,2862	0,2987	0,3208	0,2286	0,2392
Sólidos Totais	4,28	5,64	3,5	3,98	4,34	5,79	4,69	4,9	4,45	5,02

Anexo 32. Minerais solúveis (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de couve chinesa crua e cozida.

Mineral	Repolho1		Repolho2		Repolho3		Repolho4		Repolho5	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Potássio	411,9732	425,552	222,1072	258,2849	238,8312	222,723	185,7866	195,1827	271,1302	249,0723
Sódio	2,0528	2,3528	4,1476	4,8779	2,4322	2,3482	3,4358	3,0939	2,0131	4,55
Cálcio	41,7507	45,2043	48,1069	47,597	37,6943	39,1463	53,2628	47,3329	40,822	52,8989
Magnésio	16,5988	18,5818	12,5688	13,6483	13,2307	13,3543	11,9851	11,8564	13,9236	16,1418
Ferro	0,155	0,1911	0,112	0,1483	0,1043	0,1058	0,1549	0,1483	0,1866	0,1877
Manganês	0,252	0,2939	0,2694	0,2807	0,1217	0,1334	0,2528	0,268	0,1618	0,1003
Cobre	0,0205	0,0246	0	0,016	0,0221	0,0248	0,0312	0,035	0,1162	0,108
Zinco	0,1397	0,1665	0,2831	0,3383	0,154	0,1604	0,1731	0,1939	0,1975	0,2254
Sólidos Totais	6,28	7,34	6,43	7,95	6,8	7,58	6,33	6,53	7,97	7,39

Anexo 33. Total de minerais (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de repolho cru e cozido.

Mineral	Repolho1		Repolho2		Repolho3		Repolho4		Repolho5	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Potássio	105,4993	159,9212	126,3158	161,2975	89,3139	115,1961	78,8422	211,8458	85,9411	143,3069
Sódio	1,1518	1,716	2,294	2,8401	0,7686	1,3494	0,9921	2,9311	0,3585	2,7666
Cálcio	12,6278	45,2043	12,932	16,245	10,6258	15,3999	10,2299	23,5118	6,8847	21,7642
Magnésio	6,7755	11,3688	4,3634	6,2528	4,1948	6,5288	2,1076	6,6453	3,147	10,6559
Ferro	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3178	0,3594
Manganês	0	0,1792	0,1016	0,1467	0,0159	0,0338	0,0304	0,1335	0,106	0,1243
Cobre	0	0	0	0	0	0,0103	0,0128	0,0167	0	0
Zinco	0,0487	0,102	0,0796	0,1707	0,0216	0,0636	0,0421	0,1578	0,0232	0,1205
Sólidos Totais	6,28	7,34	6,43	7,95	6,8	7,58	6,33	6,53	7,97	7,39

Anexo 34. Minerais solúveis (mg/100g base úmida) e sólidos totais das amostras de repolho cru e cozido.

Mineral	B 1	B 2	B 3	B 4	B 5	B 6	B 7	B 8	B 9	B 10	B 11	B 12	B 13	B 14
Potássio	87	91	86	92	90	82	83	86	80	87	86	79	90	90
Sódio	17	17	17	15	13	16	19	15	14	13	15	16	17	18
Cálcio	10,1	9,9	10,5	10,0	10,5	10,2	10,0	10,4	10,5	10,3	10,5	10,5	10,5	9,8
Magnésio	7	7	8	7	8	7	7	7	7	7	7	7	7	8
Ferro	0,09	0,11	0,10	0,10	0,15	0,09	0,09	0,09	0,09	0,12	0,11	0,13	0,12	0,12
Manganês	0,12	0,11	0,14	0,14	0,14	0,12	0,14	0,13	0,14	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14
Cobre	0,012	0,011	0,013	0,011	0,012	0,011	0,011	0,011	0,011	0,013	0,013	0,011	0,013	0,013
Zinco	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,09	0,10	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11	0,10

Anexo 35. Valores (mg/g) obtidos para a amostra de referência em cada batelada de amostras de hortaliças analisadas.