

Determinação de folatos em espinafre – avaliação da influência do tipo de cultivo, época de colheita e cozimento

Juliana Azevedo Lima-Pallone, Rodrigo Ramos Catharino, Helena Teixeira Godoy

Centro de Ciências Exatas, Ambientais e de Tecnologias, Faculdade de Química, Pontifícia Universidade Católica de Campinas.
Brasil, UNICAMP, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil

RESUMO. O objetivo desse trabalho foi avaliar o teor das diferentes formas da vitamina, em espinafres produzidos por diferentes tipos de cultivo (orgânico e tradicional), distintas épocas de colheita e após cozimento em água. Para tanto utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Espinafres cultivados de forma tradicional e orgânica não apresentaram diferença significativa nos teores de folatos, assim como também não se observou diferença significativa entre valores obtidos em diferentes períodos do ano. Os níveis de folatos medidos como 5-metilTHF e 5-formilTHF, variaram de 226 a 527 µg/100g e 4.6 to 10 µg/100g, respectivamente. O cozimento em água resultou em perdas de aproximadamente 74% para o 5-metilTHF e 56% para o 5-formilTHF. Com base na determinação da concentração de folatos na água de cozimento, pode-se afirmar que as perdas se deram, principalmente, devido ao processo de lixiviação. **Palavras-chave:** Folatos, espinafre, tipo de cultivo, cozimento, época de colheita, métodos analíticos.

SUMMARY. Folate determination in spinach. Influence of cultivation, harvest and cooking methods. The aim of this work was to determine vitamin contents in spinach produced by different cultivation type (organic and traditional), harvesting period and after cooking in water. The determination was carried out by High Performance Liquid Chromatography. There was no significant difference in folate contents between spinach cultivated by traditional and organic method and there was also no significant difference between the values obtained at different periods of the year. Folate levels determined as 5-methylTHF and 5-formylTHF varied from 226 to 527 µg/100g and 4.6 to 10 µg/100g, respectively. Cooking in water resulted in approximately 74% of losses of 5-methylTHF and 56% of 5-formylTHF. The mainly losses occurred by leaching.

Key words: Folates, spinach, type of cultivation, cooking, harvesting period, analytical methods.

INTRODUÇÃO

Os folatos são compostos pertencentes ao grupo das vitaminas hidrossolúveis do complexo B. São atualmente considerados nutricionalmente essenciais por serem precursores de uma grande variedade de derivados que atuam como coenzimas nas reações de transferência de carbono. Cada uma das diferentes formas de folatos que são sintetizadas a partir de reações de metilação e replicação celular no organismo humano, desempenha um papel específico no metabolismo intracelular (1). Essa vitamina está presente em várias fontes incluindo vegetais verdes escuros, leveduras, fígados, grãos, produtos à base de leite fermentado entre outros, sendo o 5-metiltetraidrofolato (5-metilTHF) o congêneres majoritário (2,3).

As deficiências nutricionais estão se tornando uma das maiores causas de preocupação em relação ao bem estar da população mundial. No caso particular da deficiência de folatos, um dos maiores problemas que acometem o organismo humano são os defeitos causados na síntese de ácidos nucleicos (1). Dentre os principais problemas causados pela deficiência de folatos estão as malformações congênitas, que têm desencadeado campanhas de incentivo ao seu consumo em vários países, além de problemas cardíacos, associados ao

acúmulo de homocisteína no sangue, doenças degenerativas, incluindo mal de Alzheimer, por dificultar a síntese de mielina e anemia megaloblástica (2-4).

Em se tratando do teor de folatos, observa-se uma grande variação entre os valores apontados para um mesmo alimento. Particularmente para o espinafre, considerado uma das maiores fontes dessa vitamina, os dados apresentados na literatura variam de 95,5 a 1540µg/100g, conforme apresentado no Quadro 1. Esse fato pode ser explicado como resultado de variações edafoclimáticas, já que a síntese de folatos em vegetais é dependente de fatores como incidência de luz e presença de minerais no solo (9), da variedade de espécies, além da própria metodologia empregada na sua determinação.

Nos últimos anos tem crescido a oferta de alimentos cultivados de formas alternativas, como a agricultura orgânica (17). Entretanto, há pouquíssimos dados sobre a influência do tipo de cultivo nos níveis de nutrientes. Em relação aos folatos, não há nenhuma avaliação a respeito de possíveis alterações decorrentes da aplicação de diferentes técnicas de cultivo. Os folatos apesar de estarem naturalmente presentes em muitos alimentos são sensíveis a parâmetros como temperatura, oxigênio e luz, entre outros. Leichter et al. (18) investigaram o efeito do cozimento no conteúdo de folatos em vegetais e observaram que a água de cozimento, em geral,

apresentava maior quantidade de folatos do que o próprio vegetal cozido. Chen et al. (15) constataram perdas em torno de 33%, também devido a lixiviação.

QUADRO 1

Teor de folatos totais para espinafre em diversos estudos

Folatos totais ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	Referências
302 ± 17	(2)
261 ± 92	(5)
95,5	(6)
100	(7)
193	(8)
364	(9)
224	(10)
1540	(11)
150	(12)
251	(13)
300	(14)
284	(15)
198	(16)

Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram o estabelecimento do teor de folatos em espinafres cultivados em sistema tradicional e orgânico, verificação da influência das diferentes épocas de colheita no teor da vitamina e avaliação da estabilidade dos folatos após o cozimento do vegetal em água.

MATERIAL E MÉTODO

Produtos avaliados

Influência do tipo de cultivo

Foram adquiridos cinco diferentes lotes de espinafre (*Spinacea oleracea*) cultivados de forma tradicional e de forma orgânica (certificado por IBD), comercializados na cidade de Campinas –SP, Brasil. Os lotes foram diferenciados pela data de colheita, sendo cada lote representado por um maço, que foi finamente picado e homogeneizado. Apenas as folhas foram utilizadas. Todas as determinações foram feitas em triplicatas, imediatamente após a aquisição do material.

Influência da época de colheita

Foram adquiridos cinco diferentes lotes de espinafre, procedentes da cidade de Campinas–SP, Brasil, no período de setembro a novembro de 2002 e outros cinco diferentes lotes, produzidos nos meses de maio a julho de 2003. Os lotes mais uma vez foram diferenciados pela data de colheita, sendo cada um, representado por um maço de espinafres. As folhas foram

retiradas, picadas e homogeneizadas antes da retirada da amostra para análise. As determinações foram realizadas em triplicatas.

Influência do cozimento em água

Cinco diferentes lotes do vegetal foram adquiridos em mercados da cidade de Campinas-SP, Brasil, com datas de colheita diferentes. Cada lote foi composto por um maço de espinafres. As folhas foram separadas, picadas. Dividiu-se o lote em duas porções, uma para a determinação do material cru e outra no cozido.

Para os ensaios de cozimento, pesou-se 100,0 g de espinafre, adicionou-se 1,0 L de água e cozinhou-se em fogo médio por cinco minutos após ebulição. Ao final do cozimento, imediatamente as folhas foram escorridas. Tanto as folhas, como a água de cozimento, foram imediatamente esfriadas até a temperatura ambiente, para posterior análise. O processo de cozimento e as determinações foram realizados em triplicatas, para cada lote. O cálculo da porcentagem de perda foi feito através da diferença, em base seca, do conteúdo de folatos no material cru e cozido.

Determinação de umidade

Utilizou-se o método por secagem em estufa (Nova Ética, 400/3ND) a temperatura de 105°C até peso constante (aproximadamente 3h). As determinações foram feitas em triplicatas.

Determinação de folatos

Para a análise dos folatos em espinafre utilizou-se a metodologia desenvolvida por Catharino et al. (19), adaptada à matriz.

Para a extração tomou-se 10,0 g de espinafre, após homogeneização total da amostra. Os folatos foram extraídos com 50,0 mL de tampão fosfato, composto por Na_2HPO_4 (0,25mol/L)/ KH_2PO_4 (0,37mol/L), em homogeneizador tipo Turatec (5 minutos, 27000 rpm).

A coluna Microsorb-MV, ODS-2, 5 μm , 250X4,6mm d.i. (Rainin Instrument Company) foi utilizada para o processo cromatográfico, protegida por uma coluna de guarda Bondesil C₁₈, 5 μm , 10X4,6mm d.i (Varian). Os folatos foram separados em sistema de eluição por gradiente, iniciando com 100% de solução aquosa de ácido acético (2%), a pH 2,8, chegando em 25 minutos a 76% de solução de ácido acético e 24% de acetonitrila, mantendo-se essa proporção até 30 minutos, com fluxo de 0,5 mL/min. As condições iniciais foram retomadas e a coluna re-equilibrada durante 15 minutos, antes da próxima injeção. A detecção foi feita em detector de fluorescência e arranjo de diodos (DAD). Para THF, 5-metilTHF, 5-formilTHF utilizou-se o comprimento de onda de leitura (λ) a λ excitação de 290 nm e λ emissão de 360nm. Para o 10-formilAF utilizou-se o mesmo λ excitação e o λ emissão de 445nm. Já para o 10-

metilAF utilizou-se o λ de 290nm, em DAD. A identificação das diferentes formas da vitamina foi feita por comparação dos tempos de retenção, obtidos com padrões analisados nas mesmas condições, co-cromatografia e pela comparação dos espectros de absorção e fluorescência, obtidos.

Reagentes

Os padrões de tetraidrofolato (THF), 5-metil-5,6,7,8-tetraidrofolato de cálcio (5-metilTHF), 10-metil- ácido-fólico (10-metilAF), 5-formil-5,6,7,8-tetraidrofolato de cálcio (5-formilTHF), 10- formil-ácido-fólico (10-formilAF) foram adquiridos do Laboratório Dr. Schircks (Jona, Suíça). A acetonitrila grau cromatográfico, o ácido acético e o hidróxido de potássio, grau analítico foram adquiridos da Merck, Brasil. O ácido tricloroacético, fosfato de potássio monobásico anidro e fosfato de sódio dibásico anidro grau analítico, foram adquiridos da Synth, Brasil. A água utilizada no preparo das amostras e das fases móveis, foi purificada no sistema Milli-Q (Millipore). As fases móveis foram filtradas em filtros Millipore (HAWP e FHLP 04700 Millipore), com poros de 0,45 μ m de diâmetro.

Equipamento

Utilizou-se um cromatógrafo a líquido Agilent Technologies série 1100, com injetor automático com capacidade de 1 a 100 μ L, degaseificador, bomba quaternária, equipado com detector de arranjo de diodos (DAD – UV-visível) e de fluorescência, dispostos em sequência. O sistema foi controlado pelo software HP-Chemstation, que permitiu o melhor tratamento dos dados.

Análise Estatística

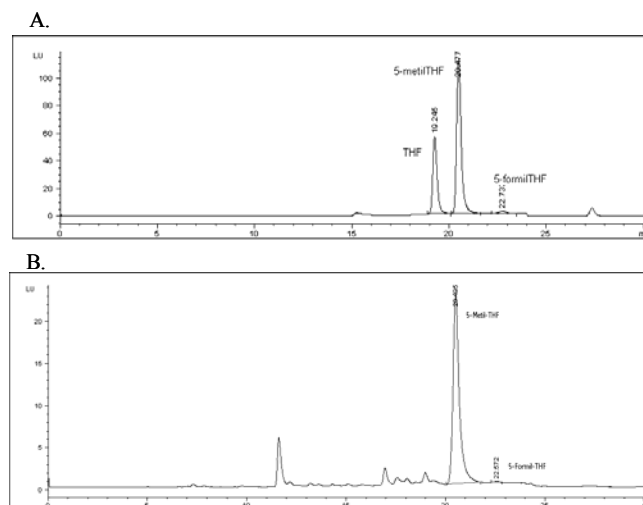
Utilizou-se o programa GraphPad Prism (versão 2.01) para análise de variância.

RESULTADOS

Duas formas da vitamina foram detectadas e identificadas, sendo o tempo de retenção para 5-metilTHF e para 5-formilTHF de aproximadamente 20,5 e 22,6 minutos, respectivamente, conforme apresentado na Figura 1, onde é possível observar-se o perfil cromatográfico do extrato de espinafre e dos padrões de folatos. O teor de folatos totais encontrado nas amostras avaliadas no trabalho variou de 300 a 610 μ g/100g, aproximadamente, enquanto Iwatani et al. (3) encontram 302 \pm 17 g/100g para espinafres comercializados em Sydney, Austrália. De acordo com Pandrangi e Laborde (20) amostras de espinafres cultivados na Pensilvânia, USA apresentaram teor de folatos totais variando de 84 a 225 μ g/100g (média de 160 \pm 42 μ g/100g).

FIGURA 1

Perfil cromatográfico dos padrões de folatos (A) e do extrato de espinafre (B). Coluna Microsorb-MV, ODS-2, 5 μ m, 250X4,6mm. Fase móvel: 100% de solução aquosa de ácido acético (2%) no início da corrida, chegando em 25 minutos a 76% de solução de ácido acético e 24% de acetonitrila. Fluxo de 0,5mL/min. Detecção por fluorescência (λ_{exc} . 290nm e λ_{emis} .360nm)



Influência do tipo de cultivo

Os dados referentes ao teor de 5-metilTHF e 5-formilTHF se encontram na Tabela 1. O 5-metilTHF foi a forma predominante de folato encontrada, tanto no espinafre cultivado de forma tradicional, como no orgânico, representando, em média, 99% do teor de folatos totais. Observa-se que para os diferentes lotes de espinafre cultivados de forma tradicional o teor de 5-metilTHF variou de 386,0 a 550,4 μ g/100g, já para 5-formilTHF os valores ficaram entre 4,0 e 6,3 μ g/100g. No caso dos lotes de espinafre orgânico, os valores para essas mesmas formas da vitamina oscilaram entre 295,3 e 599,9 μ g/100g e 5,0 a 7,7 μ g/100g, respectivamente. Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) no teor de folatos entre os lotes, porém, entre os valores médios obtidos, para os dois tipos de cultivo, não houve diferença significativa ($p > 0,05$).

Influência da época de plantio

Os resultados mostraram que o teor de 5-metilTHF variou de 225,8 a 527,3 μ g/100g no período de setembro a novembro e de 386,0 a 550,4 μ g/100g no período de maio a julho, enquanto os teores de 5-formil-THF ficaram entre 4,6 e 7,8 μ g/100g e 4,0 e 6,3 μ g/100g, nos mesmos períodos avaliados. Os valores estão apresentados na Tabela 2. A análise estatística dos dados mostrou não haver diferença significativa, entre os valores obtidos nas distintas épocas do ano avaliadas ($p > 0,05$), entretanto, entre lotes foi verificada diferença significativa.

TABELA 1
Teor de folatos em espinafres cultivados de forma tradicional e orgânica

Cultivo/ Lote	Teor de 5-metilTHF ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		Teor de 5-formilTHF ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		
	M \pm DP	%CV	M \pm DP	%CV	
Tradicional	1	550,4 \pm 4,5 a	0,8	6,3 \pm 0,6 a	9,5
	2	511,5 \pm 8,6 b	1,7	6,1 \pm 0,5 a	8,2
	3	386,0 \pm 7,3 c	1,9	4,3 \pm 0,3 b	7,0
	4	520,3 \pm 5,6 a	1,1	4,0 \pm 0,5 b	12,5
	5	397,8 \pm 6,9 c	1,7	5,8 \pm 0,4 a	6,9
Média dos lotes	473,2 \pm 75,7	15,9	5,3 \pm 1,1	20,7	
Orgânico	1	599,9 \pm 4,5 a	0,8	7,7 \pm 0,5 a	6,5
	2	295,3 \pm 2,9 c	1,0	6,9 \pm 0,5 a	7,3
	3	558,9 \pm 6,9 b	1,2	7,2 \pm 0,4 a	5,6
	4	302,7 \pm 7,4 c	2,4	5,9 \pm 0,2 b	3,4
	5	590,4 \pm 4,1 a	0,7	5,0 \pm 0,2 b	4,0
Média dos lotes	469,4 \pm 156,3	33,3	6,5 \pm 1,1	16,9	

* Valores são médias de determinações em duplicatas.

** M \pm DP %CV : média dos valores estimativa do desvio padrão % coeficiente de variação.

***letras iguais na mesma coluna, para o mesmo tipo de cultivo, significa não haver diferença significativa ($p>0,05$).

TABELA 2
Teor de folatos em espinafres cultivados em diferentes épocas do ano

Lote/Período	Setembro – Novembro 2002				
	5-metilTHF ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		5-formilTHF ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		
	M \pm DP	%CV	M \pm DP	%CV	
1	527,3	9,5 b	1,8	7,8 \pm 0,5 a	6,4
2	485,6 \pm 2,9 a	0,6	7,5 \pm 0,3 a	4,0	
3	274,4 \pm 3,8 a	1,4	5,1 \pm 0,4 a	7,8	
4	225,8 \pm 2,3 a	1,0	4,6 \pm 0,2 a	4,4	
5	255,8 \pm 10,9 a	4,3	9,9 \pm 0,5 a	5,1	
Média dos lotes	353,8 \pm 141,2	40,0	7,0 \pm 2,2	31,4	
Lote/Período	Maio – Junho 2003				
	5-metilTHF ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		5-formilTHF ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		
	M \pm DP	%CV	M \pm DP	%CV	
1	550,4 \pm 4,5 b	0,8	6,3 \pm 0,6 a	9,5	
2	511,5 \pm 8,6 a	1,7	6,1 \pm 0,5 a	8,2	
3	386,0 \pm 7,3 a	1,9	4,3 \pm 0,3 a	7,0	
4	520,3 \pm 5,6 a	1,1	4,0 \pm 0,5 b	12,5	
5	397,8 \pm 6,9 a	1,7	5,8 \pm 0,4 a	6,9	
Média dos lotes	473,2 \pm 75,7	15,9	5,3 \pm 1,1	20,7	

* Valores são médias de determinações em triplicatas.

** M \pm DP %CV : média dos valores estimativa do desvio padrão % coeficiente de variação.

***letras iguais na mesma coluna, para o mesmo tipo de cultivo, significa não haver diferença significativa ($p>0,05$).

Influência do cozimento em água

Na Tabela 3 encontram-se os valores obtidos para a determinação da umidade das amostras in natura e cozidas. Para os lotes de espinafre in natura a umidade média foi 94,4%, enquanto que para o vegetal cozido o valor obtido foi 92,9%. Esses valores indicam que após o cozimento, aproximadamente 1,5 % da água contida no vegetal foi perdida. Iwatani et al. (3) encontraram 92 % de umidade em espinafres frescos, disponíveis comercialmente em Sydney, Austrália.

TABELA 3
Determinação da umidade das amostras de espinafres in natura e cozidas

Espinafre/lotos	Umidade (%)		
	M \pm DP	%CV	
In natura	1	93,8 \pm 0,3	0,3
	2	94,2 \pm 0,1	0,1
	3	94,7 \pm 0,4	0,4
	4	94,7 \pm 0,1	0,1
	5	94,6 \pm 0,1	0,1
Média dos lotes	94,4 \pm 0,4	0,4	
Cozido	1	92,2 \pm 0,3	0,3
	2	92,5 \pm 0,5	0,5
	3	93,2 \pm 0,4	0,4
	4	93,3 \pm 0,3	0,3
	5	93,2 \pm 0,4	0,4
Média dos lotes	92,9 \pm 0,5	0,5	

M \pm DP – média dos valores e estimativa do desvio padrão de determinações em triplicatas.

%CV – coeficiente de variação.

A Tabela 4 apresenta o teor de folatos nos lotes de espinafres crus e cozidos, bem como a concentração das diferentes formas da vitamina na água de cozimento e as perdas totais ocorridas devido à degradação térmica da vitamina e ao processo de lixiviação. Para essas amostras 5-metilTHF e 5-formilTHF foram detectados e constatou-se que aproximadamente 58% do teor de 5-metilTHF e 39% de 5-formilTHF migraram para a água de cocção, sendo parte (aproximadamente 20 %) dessas duas formas da vitamina, provavelmente, degradada durante esse processamento caseiro. Essa constatação corrobora com as afirmações de Leichter et al. (18) e Chen et al. (15) que, também, verificaram que a maior perda da vitamina se deve a lixiviação. A degradação térmica da vitamina também foi verificada. De acordo com Scott et al. (4) as reações de oxidação que levam à destruição do 5-metilTHF levam à formação de 4a-hidroxi-5-metildihidrofolato, que não apresenta atividade vitamínica.

TABELA 4
Teor de folatos em espinafres in natura, cozido e na água de cozimento e porcentagem de perda total da vitamina

Espinafre/ Folatos	In natura		Cozido		Água de Cozimento		% Perda Total	
	M ± DP	%CV	M ± DP	%CV	M ± DP	%CV	M ± DP	%CV
5-MetilTHF								
(µg/100g)								
1	527,3 ± 9,5	1,8	117,4 ± 4,1	3,5	300,3 ± 4,9	1,6	77,7	
2	485,6 ± 12,9	2,7	90,5 ± 11,5	12,0	320,6 ± 2,9	0,9	81,4	
3	274,4 ± 3,8	1,4	83,5 ± 2,4	2,9	138,2 ± 2,7	1,8	71,9	
4	225,8 ± 7,3	3,2	77,0 ± 4,8	6,2	106,8 ± 5,9	4,7	65,8	
5	255,8 ± 10,9	4,3	64,5 ± 3,7	5,7	130,1 ± 2,2	1,7	74,8	
Média dos valores	353,8 ± 141,2	40,0	87,6 ± 20,1	22,9	205,2 ± 96,7	7,1	74,3 ± 5,9	8,0
5- FormilTHF								
(µg/100g)								
1	7,8 ± 0,5	6,4	3,2 ± 0,2	6,3	3,5 ± 0,5	14,3	59,0	
2	7,5 ± 0,3	4,0	3,6 ± 0,3	8,3	2,4 ± 0,1	4,2	52,0	
3	5,1 ± 0,4	7,8	2,2 ± 0,1	4,6	1,7 ± 0,1	5,9	56,9	
4	4,6 ± 0,2	4,4	2,1 ± 0,1	4,8	1,5 ± 0,2	13,3	54,4	
5	9,9 ± 0,5	5,1	4,0 ± 0,4	10,0	4,0 ± 0,1	2,2	59,6	
Média dos valores	7,0 ± 2,2	31,4	3,0 ± 0,8	26,7	2,7 ± 1,3	48,1	56,4 ± 3,2	5,7

* Valores são médias de determinações em triplicatas.

** M ± DP %CV: média dos valores ± estimativa do desvio padrão % coeficiente de variação.

Observou-se que os valores para 5-metilTHF variaram 225,8 a 527,3 µg/100g e de 52 a 117,4 µg/100g, para espinafres crus e cozidos, respectivamente. Já para o 5-formilTHF o teor ficou entre e 4,6 a 9,9 µg/100g e 2,1 a 3,6 µg/100g, para as mesmas amostras. Constatou-se também uma grande variação entre os lotes, tanto para 5-metilTHF quanto para 5-formilTHF, que provavelmente se devem às diferentes condições edafoclimáticas ocorridas durante o plantio até a colheita, já que a síntese de folatos pelos vegetais é bastante influenciada por fatores como luz e composição do solo.

Quanto à porcentagem de perda total das diferentes formas da vitamina, verificou-se aproximadamente 75% de 5-metilTHF e 57% de 5-formil THF, o que confirma as observações de alguns pesquisadores (1) de que o 5-formilTHF é mais estável do que o 5-metilTHF. Os valores obtidos neste trabalho foram superiores aos declarados por Chen et al. (18) que observaram perda de 33% no teor de folatos totais, utilizando um método microbiológico, após o cozimento de espinafre em água, entretanto estão próximos aos observados por De Souza e Eitenmiller (13) que apontaram perdas de 83 % de perda da vitamina e Puupponen-Pimia et al (21) que observaram 70 % . McKillop et al (22) verificaram que 51% dos folatos foram perdidos após cozimento de espinafre em água.

Esses dados são muito importantes e indicam a instabilidade e o teor dessa vitamina quando o espinafre é consumido após cozimento em água, sua forma mais comum de ingestão, além de colaborar com pesquisas realizadas na área de saúde, que relacionam o consumo de determinados

tipos de alimentos pela população, com a diminuição ou aumento de incidência de doenças carenciais ou crônicas.

No Brasil são consumidos menos de 0,4 g de espinafre/pessoa/dia (0,156 kg/pessoa/ano) de acordo com dados do IBGE (23). Aproximadamente 360 µg de folatos são fornecidos após o consumo de 100 g espinafre cru e 90 µg da vitamina são encontrados no vegetal cozido. A biodisponibilidade dos folatos é, em média, 50% (4). Considerando-se que a recomendação para ingestão diária de folatos é de 200 µg/dia para adultos e de 400 µg/dia para gestantes, o consumo de 0,4 g de espinafre/dia pode contribuir para a ingestão de menos de 1% das necessidades de gestantes e adultos.

CONCLUSÕES

A determinação da influência do cozimento no teor da vitamina, mostrou que para as duas formas de folatos avaliadas, a maior parte é perdida por lixiviação. Para evitar esse tipo de perda da vitamina, a água de cozimento também deveria ser ingerida, já que dada a sua consistência o espinafre raramente é consumido sem cozimento.

Em relação à influência do tipo e época de cultivo, considerando-se não haver diferença significativa entre os lotes avaliados nos dois ensaios, pode-se concluir que essas duas variáveis não parecem causar diferença no teor de folatos, de acordo com os dados observados para as amostras avaliadas neste trabalho.

As amostras de espinafre avaliadas no trabalho apresentaram alta quantidade de folatos, entretanto, a hortaliça

é pouco consumida pela população brasileira. O incremento no consumo de espinafre, juntamente com a água utilizada na cocção, poderia ser de grande importância para que a ingestão diária recomendada da vitamina seja atingida.

REFERÊNCIAS

- Hawkes JG, Villota TH. Folates in foods: Reactivity, Stability during processing and nutritional implications. *Critical Rev Food Sci Nutr* 1989; 28 (6): 439-539.
- Gregory III JF. Chemical and nutritional aspects of folate research: analytical procedures, methods of folate synthesis, stability, and bioavailability of dietary folates. *Adv Food Nutr Res* 1989; 3: 1-101.
- Iwatani Y, Arcot J, Shrestha AK. Determination of folate contents in some Australian vegetables. *J Food Comp Anal* 2003, 16: 37-48.
- Scott J, Rébeille F, Fletcher J. Review: Folic acid and folates: the feasibility for nutritional enhancement in plant foods. *J Sci Food Agric* 2000, 80: 795-824.
- Yon M, Hyun TH. Folate content of foods commonly consumed in Korea measured after trienzyme extraction. *Nutr Res* 2003, 23:735-746.
- Freisleben A, Schieberle P, Rychlik M. Compararison of folate quantification in foods by HPLC-fluorescence detection to that by satable isotope dilution assays using HPLC-tandem mass spectrometry. *Anal Biochem* 2003, 31: 247-255.
- Konings EJM, Roomans HHS, Dorant E, Goldbohm RA. Folate intake of the Dutch population according to newly established liquid chromatography data for foods. *Am J Clin Nutr* 2001, 73:765-776.
- Shrestha AK, Arcot J, Paterson J. Folate assay of foods by traditional and trienzyme treatments using cryoprotected *Lactobacillus casei*. *Food Chem* 2000, 71:545-552.
- Lin BF, Lin RF. Effect of chinese stir-fry cooking on folate content of vegetables. *J Chinese Agric Chem Soc*, 1999, 37:443-454.
- Aiso K, Tamura T. Trienzyme treatment for food folate analysis. Optimal pH and incubation for α -amilase and protease treatments. *J Nutr Sci Vitam* 1998, 44: 361-370.
- Clifford AJ, Heid MK, Peerson JM, Bills ND. Bioavailability of food folates and evaluation of food matrix effects with a rat bioassay. *J Nutr* 1991, 121(4): 445-453.
- McCane RA, Widdowson EM. *The Composition of foods*. 5th Edn. Cambridge: The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1991, 462p.
- DeSouza SC, Eitenmiller RR. Effects of processing and storage on the folate content of spinach and broccoli. *J Food Sci* 1986, 51:526-628.
- Kirsch AJ, Chen TS. Comparison of conjugase treatment procedures in the microbiological assay of food folacin. *J Food Sci* 1984, 49:94-98.
- Chen TS, Song YO, Kirsh AJ. Effects of blanching, freezing and storage on folacin content of spinach. *Nutr Rep Intern* 1983, 28: 317-324.
- Mullin WJ, Wood DF, Howsam SG. Some factors affecting content of spinach, swiss chard, broccoli and brusses sprouts. *Nutr Rep Int* 1982, 26(1):7-11.
- Saba A, Messina F. Attitudes towards organic foods and risk/benefit perception associated with pesticides. *Food Quality Pref*, 2003, 14: 637-645
- Leichter J, Switzer VP, Landymore AF. Effect of cooking on folate content of vegetables. *Nutr Rep Int* 1978, 18(4): 475-482.
- Catharino RR, Godoy HT, Lima-Pallone JA. Metodologia analítica para determinação de folatos e ácido fólico em alimentos. *Quim Nova*, 2006, 29(5): 972-976.
- Pandurangi S, Laborde LF. Retention of folate, carotenoids, and other quality characteristics in commercially packaged fresh spinach. *Food Chem Toxicol*, 2004, 69(9): 702-707.
- Puupponem-Pimia R, Hakkinen ST, Aarni M, Suortti T, Lampi A-M, Euroala M, Piironen V, Nuutila, AM, Oksman-Caldentey K-M. Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *J Sci Food Agric*, 2003, 83: 1389-1402.
- McKillop DJ, Pentieva K, Daly D, McPartlin JM, Hughes J, Strain JJ, Scott JM, McNulty H. The effect of different cooking methods on folate retention in various foods that are amongst the major contributors to folate intake in the UK diet. *British J. Nutr*, 2002, 88: 681-688.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-3: aquisição alimentar domiciliar per capita. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002aquisicao/default.shtm>.

Recibido: 15-08-2007

Aceptado: 22-11-2007