

Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro dos alimentos

Maria de Lourdes Pires Bianchi¹, Hugo Candido Silva², José Eduardo Dutra de Oliveira³

Universidade de São Paulo
Ribeirão Preto, Brasil

RESUMO. Neste artigo se apresenta uma revisão documentada com mais de 60 referências sobre o tema da disponibilidade do ferro. O trabalho oferece uma seção dedicada à terminologia empregada, enfatizando a conveniência do termo "biodisponibilidade ou disponibilidade biológica de nutrientes" que têm criado certa discrepância. Depois estuda os factores extrínsecos ou fisiológicos e os factores intrínsecos ou dietéticos que afetam a disponibilidade do ferro. A continuação se apresenta uma discussão sobre a biodisponibilidade do ferro dos alimentos de origen animal e vegetal, dos alimentos fortificados com sais de ferro e dos alimentos com ferro provenientes de contaminação. O artigo refere como pesquisadores compararam métodos "in vitro" e "in vivo" para determinar a biodisponibilidade do ferro, concluindo que ambos os métodos devem ser associados. Para

finalizar explica que apesar das mudanças ocorridas em diversos âmbitos, novas questões surgem sobre a importância do ferro dos alimentos na solução do problema da deficiência desse mineral.

RESUMEN. Consideraciones sobre la biodisponibilidad del hierro de los alimentos. Se presenta una revisión documentada con mas de 60 referencias sobre el tema. El trabajo ofrece una sección dedicada a la terminologia empleada continuando con un estudio sobre los factores intrínsecos o fisiológicos y extrínsecos o dietéticos que afectan la disponibilidad del hierro. Finalmente se presenta una discusión sobre la biodisponibilidad del hierro de los alimentos de origen animal, vegetal, de los alimentos fortificados y se comenta el hierro como contaminante.

A anemia ferropriva é um dos mais importantes problemas nutricionais, tanto nos países desenvolvidos, como nos países em desenvolvimento (1) (2) (3). Os alimentos naturalmente ricos em ferro e os enriquecidos com esse mineral são, sem dúvida, importantes elementos na prevenção da anemia ferropriva.

O conteúdo total do ferro num alimento ou dieta, nao indica a quantidade que será biodisponível. Isto porque tanto a absorção como a sua utilização são influenciados por vários factores. E' importante, portanto, fazer-se a

distinção entre a quantidade total de ferro e a quantidade biodisponível, quando se calcula o valor nutricional dos alimentos (4).

DEFINIÇÃO DE TERMOS

O termo disponibilidade biológica ou biodisponibilidade tem sido extensivamente usado na área de alimentos, nutrição. Sua origem conceitual entretanto, foi no campo da farmacologia experimental especificamente em relação a drogas.

Existem muitas discrepâncias na literatura relacionadas à definição do termo biodisponibilidade ou disponibilidade biológica de nutrientes e isto tem gerado confusão.

Alguns pesquisadores consideram biodisponibilidade igual absorção verdadeira. Absorção verdadeira é a proporção de um nutriente no alimento o qual é transportado do lumen intestinal. através da célula da mucosa para o

1 Professor Doutor da Faculdade de Ciências Farmaceuticas de Ribeirao Preto Departamento de Análises Clínicas~ Toxicologicas e Bromatológicas Disciplina de Bromatologia Ribeirao Preto, Sao Paulo Brasil.

2 Professor Associado do mesmo Departamento.

3 Professor Titular da Faculdade de Medicina de Ribeirao Preto Departamento de Clinica Medica Ribeirao Preto Sao Paulo Brasil. Presidente da Uniao Internacional de Nutricao.

corpo. Para conhecer a absorção verdadeira, a excreção fecal do nutriente precisa ser corrigida pela perda endógena que ocorre nas secreções descamações das células intestinais. A absorção aparente é a diferença entre o conteúdo do nutriente no alimento ingerido e nas fezes excretadas, sem fazer a correção da perda endógena (6).

Biodisponibilidade de uma forma mais ampla tem sido definida: é a medida do uso em potencial de um mineral, nutriente ou droga, por um organismo (7); é a proporção de um nutriente do alimento o qual é absorvido e utilizado. Por utilização entende o processo de transporte, assimilação celular e conversão em forma (s) biologicamente ativas. Assim o conceito de biodisponibilidade é mais abrangente do que absorção "per se" (6).

O termo biodisponibilidade relacionado a ferro é a medida daquela fração do ferro alimentar capaz de ser absorvida pelo trato gastrointestinal e subsequentemente armazenada e incorporada ao heme (8).

Está claro que para garantir uma alimentação adequada em ferro, é necessário conhecer não somente a quantidade deste mineral mas também a sua biodisponibilidade.

É interessante que, embora tenha sido mostrado conclusivamente que a anemia ferropriva continua sendo um dos maiores problemas de saúde pública, paradoxalmente, a média de ferro total presente na dieta esteja em diversos lugares acima das quantidades diárias necessárias para suprir o seu uso metabólico normal. Isto é atribuído à baixa biodisponibilidade do ferro nos alimentos, ou seja, a quantidade de ferro realmente absorvida pelo trato gastrointestinal e subsequentemente armazenada ou incorporada à hemoglobina, não está sendo satisfatória (9).

FATORES QUE AFETAM A BIODISPONIBILIDADE

A biodisponibilidade do ferro é influenciada por fatores intrínsecos ou fisiológicos bem como por fatores extrínsecos ou dietéticos como mostra a Tabela 1.

A biodisponibilidade do ferro muda de acordo com certos estados fisiológicos, como por exemplo, o crescimento e a gravidez. Sabe-se que as maiores necessidades do organismo durante estes estados freqüentemente levam a um aumento da absorção de ferro (10) (11).

Outros fatores como, o estado nutricional, são importantes nos estudos relacionados ao ferro. Indivíduos anêmicos absorvem duas a três vezes mais do que indivíduos normais (12).

Doenças que causam aumento ou diminuição das secreções gástricas e intestinais, o aumento da motilidade do trato gastrointestinal, as hemorragias crônicas e outros fatores também afetam a absorção do ferro, variando de intensidade em cada caso (13) (14).

A forma do ferro alimentar pode afetar sua

disponibilidade. Baseando-se no mecanismo de absorção, existem duas formas de ferro; a forma heme e a forma não heme. O ferro heme é ligado ao anel protoporfirina das hemoproteínas. Ele é predominantemente encontrado em alimentos de origem animal sob a forma de hemoglobina e mioglobina correspondendo em média cerca de 40% do ferro não heme dos alimentos de origem animal, é encontrado em componentes como ferritina e hemossiderina do fígado, lactoferrina do leite da vaca, fosvitina da clara do ovo, entre outros (15). No peixe esse ferro é ligado organicamente, formando um complexo nucleoproteína, ferro e cobre. com o ferro no estado férrico (6).

Nos alimentos vegetais, são poucas as informações a respeito da forma do ferro não heme. O fitato monoférrico é a principal forma do ferro no trigo (17) A forma de fitoferritina é encontrada em sementes de ervilhas e lentilhas (18).

TABELA 1
FATORES QUE AFETAM A BIODISPONIBILIDADE DO FERRO

Corpo	<ul style="list-style-type: none"> - Estado fisiológico - Estado nutricional - Estado patológico
Secreções	<ul style="list-style-type: none"> - Suco gástrico - Secreções pancreáticas - Bile
Fatores Químicos	<ul style="list-style-type: none"> - Forma química: heme e não heme - Estado de oxidação - Solubidade - pH - Capacidade de complexação
Fatores Dietéticos	<ul style="list-style-type: none"> - Constituintes da dieta Facilitadores <ul style="list-style-type: none"> - A'cido Ascórbico - Tecido Animal - Frutose Inibidores <ul style="list-style-type: none"> - Oxalatos - Fibra - Filatos - Taninos - Outros

Uma das explicações para a alta biodisponibilidade do ferro heme em relação ao não heme é que eles são absorvidos por caminhos independentes na mucosa intestinal (19). O “ferro heme” é solúvel nas condições do intestino delgado, sendo facilmente absorvido pela mucosa intestinal sob a forma ferro-porfirina intacta; dentro da célula da mucosa, o ferro é liberado pela ação da enzima heme-oxigenase seguindo, a partir daí, os mesmos caminhos do ferro não-heme. Por causa deste mecanismo absorptivo único e sua solubilidade elevada no pH intestinal, o ferro heme não é afetado por fatores químicos ou alimentares que podem alterar a disponibilidade do ferro não heme.

A absorção do ferro heme é alta, cerca de 15% no indivíduo normal e 35% naqueles com baixa reserva de ferro. A absorção do ferro não heme é usualmente menor (cerca de 1 a 5%) e varia substancialmente em função da presença de fatores químicos e de fatores alimentícios (20).

Para ser absorvido, o ferro precisa atingir a parte superior do intestino delgado na forma solúvel. Depois de liberado do alimento e do envolvimento de vários fatores intra-lúmem, o ferro é então disponível para absorção pela superfície absorptiva do trato gastrointestinal. O ferro não heme pode ser absorvido tanto ligado com a proteína transferrina na mucosa ou pode atravessar a membrana por difusão (19).

Em relação aos fatores químicos (estado de oxidação, solubilidade e pH) que afetam a biodisponibilidade do ferro não heme, sabe-se que o estado de oxidação do ferro varia dependendo do ambiente químico. Na água e nos alimentos, temos os estados de oxidação (Fe^{+2}) e (Fe^{+3}) que são os mais estáveis nestes meios. No meio aquoso, as formas férrica e ferrosa ocorrem no estado livre. Na presença de oxigênio, a forma ferrosa é transformada na forma férrica. A maior solubilidade dos sais ferrosos sobre os sais férricos é, em parte, responsável pela maior biodisponibilidade dos ions ferrosos no trato gastrointestinal.

No meio ácido, os ions ferrosos e férricos não ocorrem em estado livre, são hidratados respectivamente para $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{+2}$ e $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{+3}$. Com o aumento do pH as moléculas de água doam prótons para formar os hidróxidos insolúveis de ferro correspondentes. O $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{+3}$ forma $\text{Fe}(\text{OH})^3$ e 6 $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{+2}$ forma $\text{Fe}(\text{OH})_2$. No pH = 1 do estômago, o ferrô é solúvel e está na forma hidratada. No pH neutro igual a 7, o ion ferroso se transforma no $\text{Fe}(\text{OH})_2$ (gel verde pálido) e o ion férrico se transforma em $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (pó marrom escuro) (21).

A formação destes hidróxidos de ferro insolúveis com o aumento do pH tem significado biológico, pois a solubilidade é pré-requisito para sua absorção pelo intestino. Ions férricos no meio alcalino intestinal, precipitam irreversivelmente e as macromoléculas resultantes de hidróxido férrico são muito grandes para serem absorvidas.

A precipitação do ferro formando complexos insolúveis em pH alcalino pode ser inibido por agentes complexantes ou quelantes que formam complexos solúveis. A maior absorção dos sais ferrosos sobre os férricos procede da hipótese que somente sais ferrosos poderiam ser absorvidos e que os sais férricos deveriam primeiramente serem reduzidos a sais ferrosos para terem algum valor nutricional. Esta suposição tem sido questionada, pois, existem evidências de que a baixa absorção de sais férricos pode ser aumentada se forem complexados com quelantes solúveis de baixo peso molecular como a frutose (21).

Se uma fonte de ferro é adicionada a um alimento e depois ingerido as características de solubilidade ficarão em função de sua reatividade com o ambiente químico do alimento, bem como sua interação com inibidores ou facilitadores os quais podem estar presentes. Não existem dúvidas a respeito da relação entre solubilidade do ferro e absorção. Entretanto cuidado deve ser tomado para não definir-se simplesmente solubilidade de uma fonte de ferro, adicionada a um alimento, como uma medida da disponibilidade (22).

A biodisponibilidade do ferro não heme, de um modo geral, depende também da proporção relativa dos constituintes da alimentação que facilitam ou inibem a absorção do ferro no trato gastrointestinal. O efeito exato e o mecanismo de ação de algum desses fatores são ainda controversos.

Dois fatores de maior significado nutricional têm mostrado consistentemente aumentar a biodisponibilidade do ferro: o ácido ascórbico e a carne ou tecido animal. A ação do ácido ascórbico sobre a absorção do ferro não heme tem sido bem demonstrada em diversos estudos (23)(24)(25)(26).

O ácido ascórbico como um agente redutor, mantém o ferro dos alimentos no estado ferroso que é mais solúvel, também forma um quelato ferro-ascorbato que permanece solúvel a despeito do aumento do pH no intestino delgado proximal (27). O ferro da alimentação que contém frutas e vegetais, que são ricos em ácido ascórbico, normalmente, é altamente disponível. A absorção de ferro aumenta de 3,7% a 10,4% em refeições com pão, ovo e chá depois da adição de 40-50mg de ácido ascórbico (29).

Pessoas com baixas reservas de ferro e ingestão diária de ácido ascórbico menor que 25mg, e carne, aves e peixe menor que 30g, a biodisponibilidade do ferro é baixa, cerca de 5%. No entanto, se mais que 75mg de ácido ascórbico ou mais que 90g de carne, ave ou peixe estão presentes no alimento a biodisponibilidade torna-se alta, em torno de 20%. Portanto, o ácido ascórbico, e os tecidos animais são componentes importantes da alimentação. As carnes não somente por contribuírem com o ferro heme, altamente biodisponível, mas também, porque aumentam de 2 a 4 vezes a absorção do ferro não heme (30).

A importância da proteína animal na absorção do ferro reconhecida pela Organização Mundial da Saúde quando discute as recomendações diárias da ingestão do ferro (31) (32). Para a mulher adulta, quando menos do que 10% das calorias são derivadas de proteína de origem animal, é recomendada a ingestão de 28 mg de ferro por dia e, somente 14 mg por dia, quando mais do que 25% das calorias são fornecidas por proteínas de origem animal. Estas recomendações são deduzidas partindo-se do princípio que todas as proteínas de origem animal são equivalentes em seus efeitos intensificadores sobre a absorção do ferro. Sabemos entretanto, que essa afirmação não é verdadeira. Foram realizados estudos para comparar os efeitos sobre a absorção do ferro de diferentes proteínas. A biodisponibilidade do ferro de tecidos de animais como o porco, o cordeiro, as aves e os peixes, são semelhantes a de carne de vaca. Em contraste, quando outros produtos, como ovos, leite e queijo foram utilizados, não se observou aumento na absorção do ferro (30).

O mecanismo exato pelo qual os tecidos animais facilitam a absorção do ferro é ainda desconhecido, mas tem sido sugerido que aminoácidos ou polipeptídeos provenientes da digestão proteica podem propiciar a formação de quelatos solúveis com o ferro não heme facilitando a absorção. Os aminoácidos histidina, lisina e cisteína, aumentam a absorção da espécie férrica, pois formam quelatos tridentados solúveis. Outros pesquisadores têm também afirmado que a carne auxilia a absorção do ferro por neutralização de certos fatores, no lúmen intestinal, que poderiam interferir na liberação do ferro do alimento ou no seu transporte para a superfície da mucosa da célula (33) (34).

Por outro lado, alguns componentes dos alimentos inibem ou diminuem a absorção do ferro porque formam precipitados, quelatos insolúveis ou macromoléculas de baixa biodisponibilidade.

O efeito dos oxalatos, considerados como potentes inibidores da absorção do ferro (35), têm sido controverso. Alguns pesquisadores mostraram que eles tem efeito neutro (25) outros observaram que eles têm efeito positivo sobre a absorção do ferro (36), tanto em humanos, como em ratos. A fibra e seus componentes têm mostrado vários efeitos sobre biodisponibilidade do ferro. Os componentes da fibra do trigo e milho se ligam ao ferro, "in vitro" (37). Entretanto, a adição da fibra do farelo do trigo ao pão de conteúdo em fitato similar, não teve efeito sobre a absorção do ferro no rato (38). Enquanto a lignina e hemicelulose inibiram a absorção do ferro em humanos, a pectina e celulose mostraram efeito oposto (39).

O efeito inibitório do fitato sobre a absorção do ferro tem sido questionado, baseando-se na grande variedade de resultados. O fitato monoférrico forma sobre a qual cerca de 60% do ferro é encontrado no trigo, foi encontrado ser solúvel e prontamente biodisponível (17).

O tanino presente no chá e café é um inquestionável inibidor da absorção do ferro (25). Este efeito ficou claro quando estudos demonstraram o efeito do chá sobre o ferro absorvido de diferentes alimentos (40)(41)(42). O tanato do chá mostrou formar complexo insolúvel (43). O café, que também contém tanino, inibe significativamente a absorção do ferro. Encontraram que uma xícara de café reduz a absorção de uma refeição a base de hamburger cerca de 33% e uma xícara de chá cerca de 64% (44).

Os minerais traços e sua relação com as proteínas de produtos vegetais, especialmente em relação à soja e seus produtos industrializados, têm sido, por muitos anos, uma área controversa (5). Essas proteínas vegetais, estão sendo cada vez mais usadas, pelas suas propriedades funcionais, seu valor nutricional e seu preço competitivo.

A soja, por ser rica em proteína e conter um alto teor de ferro (9-13 mg/100g), de elevada biodisponibilidade tem sido sugerido o seu uso nos programas orientados para prevenção da deficiência de ferro (45). A elevada biodisponibilidade do ferro quer na soja, quer nos produtos industrializados, tem sido demonstrada em estudos realizados em ratos (46)(47) e em estudos humanos (25)(30). O papel da proteína da soja na biodisponibilidade do ferro vem sendo motivo de grande interesse porque, alguns estudos demonstraram efeitos inibitórios, sobre a absorção de ferro dos produtos de soja, quando usados em combinação com carne (48)(49)(50). Outros autores relataram no entanto, não haver encontrado efeito inibitório da soja sobre a absorção do ferro e discutem que esse efeito ocorre apenas quando grande parte da fonte proteica de origem animal é substituída por soja. Nesta substituição há redução do montante total de ferro da refeição e obviamente menor quantidade de ferro será absorvida. Não foi encontrado efeito inibitório sobre a disponibilidade do ferro, alimentando humanos com quantidades moderadas de produto de soja, diariamente, por seis meses (51) (52).

BIODISPONIBILIDADE DO FERRO DOS ALIMENTOS

Conhecendo todos estes fatores que afetam a absorção do ferro, podemos prever, a grosso modo, se a biodisponibilidade do ferro de certos alimentos será alta, moderada ou baixa (Tabela 2).

A alimentação de um modo geral, contém ferro de quatro origens diferentes: origem animal, origem vegetal, alimentos fortificados com sais de ferro e alimentos com ferro proveniente de contaminação (34). Em geral, o ferro dos alimentos de origem animal, com poucas exceções, é melhor absorvido do que os de origem vegetal (28). Isto é primariamente devido à presença do ferro sob a forma química heme, encontrado na maioria das carnes (vaca, boi, peixe e aves). Todavia, são os alimentos de origem vegetal que contribuem com cerca de 90% do ferro ingerido nos países desenvolvidos e até 100% nos países em

TABELA 2
ORIGEM, FORMA QUÍMICA E BIODISPONIBILIDADE DO FERRO ALIMENTAR

Origem	Forma Química	Biodisponibilidade	Exemplos
Alimentos de origem animal	heme	alta	hemoglobina, mioglobina tecidos musculares, fígado, peixe ovo, ferritina purificada
	não heme	alta baixa	
Alimentos de origem vegetal	não heme	moderada baixa	trigo, milho, feijão, soja arroz, espinafre
Alimentos fortificados	não heme	alta moderada baixa	sais ferrosos (sulfato, fumarato) ortofosfato férrico pirofosfato de ferro sódico
Ferro contaminante	não heme	alta	cerveja fermentada em tanques de ferro hidróxido férrico, óxido férrico
		baixa	

(Morck & Cook, 1981)

desenvolvimento. Os alimentos de origem animal são caros e, portanto, não acessíveis a maioria da população, representando apenas 5 a 10% do ferro total de uma alimentação especialmente entre as populações pobres (53).

Comparando a absorção do ferro de vários alimentos vegetais em pessoas normais e deficientes, a variação foi de 1% no arroz e espinafre para 6% na soja, com valores intermediários de 3% no milho e feijão preto, 4% no alface e 5% no trigo. A absorção média do ferro nos alimentos de origem animal variou de 7% na ferritina purificada, para 22% na carne do músculo de vitela, com valores de 11% no peixe, 12% na hemoglobina e 13% no fígado. A elevada biodisponibilidade do ferro na soja foi inicialmente surpresa para os pesquisadores, uma vez que, os alimentos de origem vegetal, são considerados como tendo restrita biodisponibilidade em ferro (54).

Como mostra o Quadro 1, os alimentos fortificados com ferro não heme, dependendo do sal utilizado, podem apresentar alta, moderada ou baixa biodisponibilidade. Dependendo do tipo de processamento usado, depois da fortificação do alimento com o ferro, a biodisponibilidade pode ser também drasticamente alterada. Supunha-se, até a década passada, que o ferro dos alimentos fosse representado por fração de nutriente inerte e não interativo. Todavia, há uma considerável soma de dados indicando que isso parece não ser verdade (21). Quando o alimento processado novos compostos podem ser formados, o ambiente do alimento pode ser mudado e novos fatores externos podem ser introduzidos. Essas alterações podem ter efeitos dramáticos sobre o estado químico do ferro (22).

O conteúdo do "ferro não heme" de um alimento pode ser aumentado pela sua contaminação durante o processamento, armazenamento, preparo dos alimentos, na

colheita, entre outros. Na indústria de alimentos, os contaminantes mais comumente encontrados nas matérias primas e nos produtos acabados são partículas metálicas e predominantemente o ferro. Tal contaminação vem do desgaste da maquinaria, especialmente nas operações de moagem, lâminas gastas, juntas inadequadas e outras (55). O teor de ferro nos alimentos enlatados aumenta durante o seu armazenamento, como resultado da corrosão interna da lata a qual, varia com as características da folha de flandres, com as condições de armazenagem e natureza do produto alimentício (56). O comitê misto FAO/WHO do Codex Alimentarius tem estabelecido níveis de tolerância para o ferro em muitos produtos enlatados.

Durante a preparação dos alimentos, dependendo dos utensílios domésticos usados, como panela de ferro, o teor deste mineral pode aumentar (57)(58) e foi relatado ser este tipo de ferro biodisponível para ratos (59). Também estudos utilizando método "in vitro" demonstraram que o ferro incorporado aos alimentos proveniente do cozimento em utensílios de ferro tem a mesma biodisponibilidade do ferro intrínseco do alimento (60). No entanto, o valor nutricional do ferro contaminante não está ainda suficientemente esclarecido para o homem (12).

Os métodos de medida da biodisponibilidade do ferro nos alimentos "in vivo" (61)(62)(63) ou "in vitro" (64)(65) tem evoluído bastante e isto tem levado a um conhecimento muito maior nessa área. Recentemente pesquisadores (66), compararam métodos "in vitro" e "in vivo" para a determinação da biodisponibilidade do ferro. Recomendaram o uso do método "in vitro" associado ao "in vivo". Entretanto, a despeito da maior disponibilidade de informações, da variedade de técnicas analíticas sofisticadas, das mudanças nos hábitos alimentares, das

variações nas situações econômicas em diferentes partes do mundo, das mudanças nas práticas agrícolas, das diferentes condições de processamento, questões novas e não respondidas têm aparecido sobre a importância do ferro dos alimentos na solução do problema da deficiência desse mineral.

REFERÊNCIAS

- 1 Araujo, RL; Araujo, MBDG; Machado, RDP; Braga, AA.; Leite, BV & Oliveira, JR.. Evaluation of a program to overcome vitamin A and iron deficiencies in areas of poverty in Minas Gerais, Brasil. *Arch Latinoam Nutr*, 35: 9-22, 1987.
- 2 Roncada, MJ & Szarfarc, SC. Hipovitaminose A e anemia ferropriva em gestante de duas comunidades do Vale do Ribeira (Estado de São Paulo, Brasil). *Rev. Saúde Públ* 9:99 - 106, 1975.
- 3 Szarfarc, SC. Anemia ferropriva em populações da região sul do Estado de São Paulo. *Rev. Saúde Públ*. 6:125-133, 1972.
- 4 Young, NR & Janghorbani, M. Soy proteins in human diet in relation to bioavailability of iron and zinc: a brief overview. *Cereal Chem*. 58(1):12-18, 1981.
- 5 Burk, RF & Solomons, NW. Trace elements and vitamins and bioavailability as related to wheat foods. *Am J Clin Nutr* 41:1091-1102, 1985.
- 6 O' Dell, BL. Trace elements in nutrition of children. New York. Raven Press, 1985, p. 41-62.
- 7 Smith, KT. Effects of chemical environment on iron bioavailability measurements. *Food Techn*. 37(10):115-120, 1983.
- 8 Consaul, JR & Lee, K. Extrinsic tagging in iron bioavailability research: a critical review. *J Agric Food Chem* 31:684-689, 1983.
- 9 Cook, JD Absorption of food iron. *Fed. Proc*. 36(7):2028-2032, 1977.
- 10 Apte, SV & Ivenguar, I. Absorption of dietary iron in pregnancy. *Am J Clin Nutr* 23:73-77, 1970.
- 11 Loh, TT & Kaldor, I. Intestinal iron absorption in suckling rats. *Biol Neonate* 17:173-186, 1971.
- 12 Monsen, ER.; Hallberg, L; Larisse, M; Hegsted, M; Cook, JD; Mertz, W. & Finch, C.A. Estimation of available dietary iron. *Am J Clin Nutr* 31:134, 1978.
- 13 Bezwoda, W; Charlton, R; Bothwell, T; Torrance, J. Mayet, F. The importance of gastric hydrochloride acid in the absorption of non-haem food iron. *J. Lab Clin Med* 92:108-116, 1978.
- 14 Cook, JD; Brown, MG & Valberg, LS. The effect of achylia gastrica on iron absorption. *J Clin Invest* 51:805-815, 1964.
- 15 Greengard, O; Sentenac, A & Mendelson, N. Phosphitin, the iron carrier of egg yolk. *Biochim. Biophys. Acta* 90:406-407, 1964.
- 16 Saha, K & Guha, BC Available iron in fish. *Indian J Med Res* 27:877-881, 1940.
- 17 Morris, ER & Ellis, R. Isolation of monoferric phytate from wheat bran and its biological value as an iron source to the rat. *J. Nutr* 106:753-760, 1976.
- 18 Ponce-Ortiz, Y & Crichton, RR.. Isolation and characterization of plant ferritins. *Biochem Soc Trans* 5:1128-1129, 1977.
- 19 Finch, CA & Cook, JD Iron deficiency. *Am J. Clin Nutr* 39:471-477, 1984.
- 20 Cook, JD. Determinants of non-heme iron absorption in man. *Food Techn*. 37(10):124-126, 1983.
- 21 Lee, K & Clydesdale, FM. Iron sources used in food fortification and their changes due to food processing. *C.R.C. Crit Rev Food Sci Nutr* 11(2):117-153, 1979.
- 22 Clydesdale, FM. Physicochemical determinants of iron bioavailability. *Food Tech* 37(10):133-144, 1983.
- 23 Cook, JD & Monsen, E.R. Vitamin C, the common cold and iron absorption. *Am. J. Clin Nutr*. 30:235-241, 1977.
- 24 Hallberg, L. The pool concept in food iron absorption and some of its implications. *Proc Nutr Soc* 33:285-291, 1974.
- 25 Hallberg, L. Bioavailability of dietary iron in man. *Ann Rev Nutr* 1:123-147, 1981.
- 26 Kuhn, IN; Layrisse, M; Roche, M; Martinez, C. & Walker, R.B. Observations on the mechanism of iron absorption. *Am J Clin Nutr* 21:1184-1193, 1968.
- 27 Conrad, M.E. & Schade, S.G. Ascorbic acid chelate iron absorption. A role for hydrochloric acid an bile. *Gastroenterology* 55:35-45, 1968.
- 28 Layrisse, M; Martinez-Torrez, C. & Gonzalez, M. Measurement of the total dietary iron absorption by the extrinsic tag model. *Am. J. Clin Nutr* 27:152-162, 1974.
- 29 Callender, S.T. & Marney, S.R. & Warner, G.T, Eggs and iron absorption. *Br. J. Haematol*. 19:657-665, 1970.
- 30 Cook, J.D. & Monsen, ER. Food iron absorption in human subjects 3. Comparison of the effect of animal proteins on nonhaem iron absorption. *Am. J. Clin. Nutr* 29:859-867, 1976.
- 31 Nutritional Anemias. Report of a WHO Group of Experts. *WHO Techn. Rept. Ser.* 452, 1972.
- 32 Requirements of ascorbic acid, vitamin D, vitamin B, folate and iron. Report of a joint FAO-WHO. Expert Group. *WHO Techn. Rept. Ser.* 452, 1972.
- 33 Conley, MC & Hathcock, JN. Effects of dietary protein and amino acids on iron utilization by iron depleted rats. *J. Nutr*. 108:475-478, 1978.
- 34 Morck, T.A. & Cook, J.D. Factors affecting the bioavailability of dietary iron. *Cereal Foods World* 26(12):667-672, 1981.
- 35 Forth, W & Rummel, W. Iron absorption. *Physiol Rev* 53:724-792, 1973.
- 36 Gordon, D.T. & Chao, L.S. Relationship of components in wheat bran and spinach to iron bioavailability in the anaemic rat. *J Nutr* 114:526-535, 1984.
- 37 Reinhold, JG; Garcia, L.J.S. & Garzon, P. Binding of fibre of wheat and maize. *Am. J. Clin. Nutr* 34:1384-1391, 1981.
- 38 Fairweather-Tait, S.J. The effect of different levels of wheat bran on iron absorption in rats from bread containing similar amounts of phytate. *Br J. Nutr*. 47:243-249, 1982.
- 39 Gillooly, M; Bothwell, T.H. Charlton, R.W. Torrance, J.D. Bezwoda, W.R. MacPhail, A.P. & Derman, D.P. Factors affecting the absorption of iron from cereals. *Br. J. Nutr*. 51:37-46, 1984.

- 40 Disler, P.B. Lynch, S.R. Chalton, R.W. Torrance, J.D. Bothwell, T.H. Walker, R.B. & Mayet, F. The effect of tea on iron absorption. *Gut*. 16:193-200, 1975a.
- 41 Rao, BS & Prabhavathi, T. Tannin content of foods commonly consumed in India and its influence on ionizable iron. *J. Sci Food Agr*. 33:89-96, 1982.
- 42 Rossander, L; Hallberg, L & Bjorn-Rasmussen, E. Absorption of iron from breakfast meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 2:2484-2489, 1979.
- 43 Disler, PB. Lynch, S.R. Torrance, J.D. Sayers, M.H. Bothwell, T.H & Charlton, R.W. The mechanism of the inhibition of iron absorption of tea. *S. Afr. J. Med. Sci.* 40:109-116, 1975b.
- 44 Morck, T.A. Lynch, S.R. & Cook, J.D. Inhibition of food iron absorption by coffee. *Am. J. Clin. Nutr.* 37:416-420, 1983.
- 45 Martinez-Torrez, C & Layrisse, M. Interest for the study of dietary absorption and iron fortification. *World Rev. Nutr. Diet.* 19:51-70, 1974.
- 46 Bianchi, M.L.P. Biodisponibilidade do ferro em produtos industrializados de soja. São Paulo, 1988, 138p. Tese Doutorado Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.
- 47 Welch, R.M. & Van Campen, D.R. Iron availability of rats from soybeans. *J. Nutr.* 105:253-256, 1975.
- 48 Sayers, M.H. Lynch, S.R. Jacob, S.P. Charlton, R.W. Bothwell, T.H. Walker, R.B. & Mayet, F. The effects of ascorbic acid supplementation on the absorption of iron in maize, wheat and soya. *Br. J. Haematol* 24:209-218, 1973.
- 49 Cook, J.D. Morck, T.A. & Lynch, S.R. The inhibitory effect of soy products on non-haem iron absorption in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 34: 2622-2629, 1981.
- 50 Latunde-Dada, Y. & Neale, R.J. Effect of soybean protein on chicken meat iron absorption. *Proc. Nutr. Soc.* 43(3):131A, 1984.
- 51 Hallberg, L. & Rossander, L. Effect of soy protein on non-haem iron absorption in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 36:514-520, 1982.
- 52 Bodwell, C.E. Effects of soy protein on iron and zinc utilization in humans. *Cereal Foods World* 28(6) 342-348, 1983.
- 53 Hallberg, L. Combatendo a anemia. Receita: Informativo sobre a Nutrição Humana. Edição especial nº 1. Roche, 1981.
- 54 Layrisse, M; Cook, J.D. Martinez, C; Roche, M; Kuhn, I.N; Walker, R.G. & Finch, CA. Food iron absorption: a comparison of vegetable and animal foods. *Blood*. 33(3):430-442, 1969.
- 55 Rosanoff, A; Briggs, G.M & Lumen, B.O Corrosion of iron by ascorbic acid and catalysis of ascorbate oxidation by products of the iron corrosion. *J. Agric Food Chem* 33(5):891-896, 1985.
- 56 Mannheim, C & Passy, N. Internal corrosion and shelf-life of food cans and methods of evaluation *CRC Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 17(4):371-407, 1982.
- 57 Brittin, H.C & Nossaman, CE. Iron content of food cooked in iron utensils. *J. Am. Diet. Assoc.* 86:897-901, 1986.
- 58 Burroughs, A.L & Chan, J.J. Iron content of some Mexican American foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 60:123, 1972.
- 59 Martinez, F.E & Vannuchi, H. Bioavailability of iron added to the diet by cooking food in an iron pot. *Nutr. Res.* 6:421-428, 1986.
- 60 Mistry, A.N; Brittin, H.C & Stoecker, B.J. Availability of iron from cooked in an iron utensil determined by an "in vitro" method. *J Food Sci* 53(5):1546-1573, 1988.
- 61 Johnson, CD & Weaver, C.M. Effect of previous diet on iron absorption from an intrinsically labeled soy flour test meal. *Nutr Rep Intern* 28:1129-1135, 1983.
- 62 Weaver, CM; Nelson, N & Elliott, JC. Bioavailability of iron to rats from processed soybean fractions determined by intrinsic and extrinsic labeling techniques. *J Nutr* 114:1042-1048, 1984.
- 64 Jacobs, A & Greenman, D.A. Availability of food iron. *Br. Med J.* 1:673-676, 1969.
- 65 Miller, D.D. Schricker, B.R. Rasmussen, R.R. & Van Campen, D. An in vitro method for estimation of iron availability from meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:2248-2256, 1981.
- 66 Narasinga-Rao, BS & Prabhavathi, T. An in vitro method for predicting the bioavailability of iron from foods. *Am. J. Clin. Nutr.* 31:169-175, 1978.
- 67 Forbes, A.L. Adams, C.E. Arnaud, M.J. Chichester, C.D. Cook, J.D; Harrison, BN; Hurrell, R.F; Kahn, S.G. Morris, E.R; Tanner, J.T & Whitaker, P. Comparison of in vitro, animal, and clinical determinations of iron bioavailability: International Nutritional Anemia Consultive Group Task Force report on iron bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 49:225-238, 1989.