

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**Campus de Araraquara**

Danilo Alves Rosa Moreira

**DETERMINAÇÃO DAS FRAÇÕES DE ÁCIDO OXÁLICO EM PLANTAS**  
**ALIMENTÍCIAS**

Araraquara  
2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Campus de Araraquara**

Danilo Alves Rosa Moreira

**DETERMINAÇÃO DAS FRAÇÕES DE ÁCIDO OXÁLICO EM PLANTAS  
ALIMENTÍCIAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” para obtenção do grau de Farmacêutico-Bioquímico.

Orientador: Prof. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento

Araraquara  
2016

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, pelo apoio, carinho e dedicação de sempre. Agradeço a eles por sempre confiarem em mim, por terem me dado essa oportunidade de realizar um sonho não só meu, mas de toda nossa família. A vocês, meu eterno obrigado! Vocês são os responsáveis por tudo que construí na minha vida.

Às minhas irmãs, pelo companheirismo, ciúmes e proteção de sempre. Obrigado por estarem presentes no meu dia a dia, mesmo de longe, cada um em uma cidade, sempre estaremos juntos.

Aos meus amigos da Turma 82. Uma turma incrível, da qual tive o prazer de fazer parte. Em especial aos meus companheiros de sempre, Presto, Pudico, Chaves, Ayumi, Máfia, Masca, Jor e Clara. Com vocês tenho histórias incríveis, que vou levar pra vida toda. Vocês são a família que eu escolhi.

Aos meus amigos da Turma 83, que me acolheram de forma especial. Em especial a minha irmã de alma e de coração, Fer Coyado.

À família Intrometeu. Meus meninos. Com vocês vivi momentos inesquecíveis. Obrigado por me acolherem nos momentos difíceis e por serem ótimos companheiros para os melhores momentos. Obrigado também à nossa agregada Alice, a pessoa com o maior coração que conheço e que marcou muito minha graduação e que vou levar para vida toda.

Agradeço também à família All Pharma Jr, que por muitas vezes me fez aguentar a barra de morar em Araraquara e dar continuidade no curso. Foi na APJ que aprendi a construir uma carreira, a buscar meu sonhos e fazer diferença no mundo.

Agradeço à Farmácia Universitária, que muito mais do que 210 horas de prática farmacêutica, me deu uma visão da real função do que é ser farmacêutico. Lá tive exemplos de profissionais incríveis, como a Cris e Sil, que são profissionais exemplares e de um domínio e amor da prática farmacêutica jamais visto por mim.

Agradeço às meninas Andreza, Val, Aline e Bartira e ao mestre das cápsulas, o Drids, pelo companheirismo de sempre, e à minha mãe de Araraquara, Cátinha pelo amor, conversas e conselhos. Meu grande obrigado a todos!

Ao meu professor mais querido e sempre parceiro, e também orientador, Luis Vitor. Obrigado por me acolher num momento complicado, acreditar em mim e não deixar minha peteca cair em nenhum momento. Obrigado por estar presente na minha graduação desde o segundo ano nas aulas de yoga com a APJ e, nas aulas de Botânica até o fim da minha graduação, na hora do TCC.

Agradeço a também a Angélica Barretto, por ter me acolhido tão bem no Laboratório de Botânica, por ter se tornado uma amiga e por todo o apoio no processo do meu TCC.

Enfim, agradeço a todos os servidores da FCF, que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse aqui hoje, com um ensino de qualidade, que não me construiu apenas para o mercado de trabalho, mas assim para as diversas situações da vida.

Obrigado a todos!

## Lista de Figuras

### Figura

- 1 Aspecto visual do teste para a curva de calibração proposta na Tabela 2. Concentração da solução padrão em mg L<sup>-1</sup>(da esquerda para a direita): 0,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0 e 250,0
- 2 Curva de calibração para ácido oxálico conduzida a 18°C
- 3 Curva de calibração para ácido oxálico conduzida a 27°C

## Lista de Quadros

### Quadro

- 1 Relação das espécies empregadas no estudo

## Lista de Tabelas

### Tabela

- 1 Composição da primeira curva analítica testada
- 2 Composição da segunda curva analítica testada
- 3 Resultados para o ensaio da influência da temperatura na reação
- 4 Teores de ácido oxálico (total, solúvel e insolúvel) presentes nas amostras de hortaliças e frutos selecionados para o estudo

## Sumário

Resumo

1. Introdução .....	7
2. Objetivos .....	9
2.1. Objetivo geral .....	9
2.2. Objetivos específicos .....	9
3. Materiais e Métodos .....	9
3.1 Coleta e obtenção do material .....	9
3.2. Extração de ácido oxálico .....	11
3.2.1. Fração solúvel.....	11
3.2.2. Extração de ácido oxálico total .....	11
3.2.3. Fração insolúvel.....	12
3.3. Determinação do ácido oxálico .....	12
3.3.1. Adequação do método.....	12
4. Resultados e discussão.....	14
4.1. Adequação do método .....	14
5. Conclusão .....	19
6. Referências .....	20

## Resumo

O ácido oxálico (ácido etanodióico – IUPAC), é um ácido dicarboxílico ( $C_2H_2O_4$ ), encontrado normalmente nas formas monohidratado e diidratado, apresentando relativa solubilidade em água e forma sais solúveis com cátions de metais alcalinos, como lítio, sódio e potássio, e também com sais ferrosos. Combinado com outros íons forma oxalatos fracamente solúveis em água, como por exemplo, o oxalato de cálcio, que é praticamente insolúvel em pH neutro ou alcalino. Os tecidos vegetais são ricos em formações de oxalato de cálcio o qual pode ser prejudicial, sobretudo a pessoas suscetíveis a formação de cálculos renais. Muitas espécies são empregadas na dieta alimentar ou no tratamento de infecções, com intuito de gerar benefícios, mas também podem gerar riscos ao sistema fisiológico humano. Considerando essa possibilidade, a literatura é carente de informações a respeito do conteúdo de oxalato de cálcio presente nos tecidos vegetais empregados como elementos de dietas ordinárias ou fitoterápicos. Diante disso, objetivou-se realizar a determinação de ácido oxálico em hortaliças e frutos tradicionalmente empregados na alimentação. Os resultados mostraram que dentre as amostras alimentícias escolhidas, o ácido oxálico está presente em todas e demonstra uma adequação efetiva do método proposto em literatura.

## 1. Introdução

O ácido oxálico (ácido etanodióico – IUPAC) é um ácido dicarboxílico ( $C_2H_2O_4$ ), encontrado normalmente nas formas monohidratado e diidratado, apresentando relativa solubilidade em água ( $8-7g/100g^{-1}$  de água a  $20^\circ C$ ), forma sais solúveis com cátions de metais alcalinos, como lítio, sódio e potássio, e também com sais ferrosos. Combinado com outros íons forma oxalatos fracamente solúveis em água, como por exemplo, o oxalato de cálcio, que é praticamente insolúvel em pH neutro ou alcalino ( $0,67\text{ mg}/100\text{ g}^{-1}$  de água) (Hodgkinson & Zarembski, 1968).

Em sua forma aniônica (oxalato) tem a capacidade de formar quelatos com o cálcio oriundo da dieta alimentar, formando assim um complexo não disponível para a absorção e assimilação. Esse complexo é precipitado como sal insolúvel, que sendo acumulado nos glomérulos renais, contribui para o desenvolvimento de cálculos renais (Judprasong et al., 2006).

A excreção do oxalato na urina de indivíduos normais, é de 10 a 24 mg num período de 24 horas, entretanto excreções acima 40 a 45 mg no mesmo período, caracteriza quadro de hiperoxalúria (Asplin, 2002; Milliner, 2005; Robijn et al., 2011).

A hiperoxalúria é caracterizada pelo aumento na excreção urinaria de oxalato, sendo classificada em primária e secundária. A primária é um erro genético no metabolismo devido à atividade de uma enzima defeituosa. Por outro lado, a secundária é causada por um aumento da ingestão de oxalato, ou de precursores do oxalato ou alterações na microbiota intestinal (Bhasin et al., 2015).

A hiperoxalúria primária é classificada em tipos, sendo a do tipo 1 a mais crítica e comum, representando 80% do casos da doença. O que ocorre é uma falha na enzima peroximal hepática dependente de vitamina B6, a alanina glioxilato aminotransferase (AGT), que catalisa a transaminação de L-alanina e glioxilato em

piruvato e glicina. Os tipos 2 e 3, juntos representam 20% dos casos, sendo a primeira causada por uma disfunção na enzima glioxilato/hidroxipiruvato redutase (GRHPR), vindo de uma mutação no gene GRHPR, localizado no cromossomo 10, e a segunda, foi localizada recentemente, que a falha está associada ao gene 9 do cromossomo, que codifica a enzima mitocondrial 4-hidroxi 2-oxoglutarato aldolase, que age na lise de 4-hidroxi 2-oxoglutarato em piruvato e glioxalato, que é convertido em oxalato no organismo (Danpure et al., 1986; Purdue et al, 1990; Cramer et al, 1999; Williams et al., 1971; Bhasin et al., 2015).

Estudos têm mostrado que 50% do oxalato excretado na urina, é proveniente da dieta (Holmes et al., 2001), sendo acreditado anteriormente que a ingestão de oxalato aumentava sua excreção na urina em apenas 10%.

A determinação do ácido oxálico, segundo Naik et al. (2014), é apresentada a partir de vários métodos comparativos e assim concluiu-se que aquele baseado em espectrofotometria e na oxidação de ácido oxálico pelo permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) havia apresentado os melhores resultados. Em função destes resultados e também considerando procedimentos menos elaborados, optou-se por este método para a realização das análises.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi determinar concentrações de ácido oxálico em amostras de plantas alimentícias, adequando metodologia analítica baseada em espectrofotometria, possibilitando estudos e discussões sobre a ocorrência de ácido oxálico em componentes vegetais na dieta humana.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral**

Investigar a concentração de ácido oxálico presente em algumas amostras de espécies vegetais alimentícias.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Executar método de extração de ácido oxálico em material vegetal, caracterizando fração solúvel e fração total;
- Realizar ensaios de adequação metodológica baseados nos procedimentos de Naik et al. (2014) para adoção de metodologia de determinação de ácido oxálico;
- Determinar o teor de ácido oxálico da fração solúvel e total empregando método espectrofotométrico;
- Elaborar classificação do material vegetal com base nos teores encontrados, considerando possíveis riscos para a ingestão.

## **3. Materiais e Métodos**

### **3.1 Coleta e obtenção do material**

Para a realização desse estudo hortaliças e frutos foram adquiridos em mercados hortifrutigranjeiros de Araraquara-SP, compondo amostras de primeira

ordem. No laboratório, estas foram reunidas formando amostras compostas, e conduzidas ao processo de secagem em estufa de circulação de ar forçada, durante 72 horas a 56°C. Depois deste período, as amostras foram trituradas em moinho de facas e o pó obtido foi armazenado em frascos de vidro, e mantidos ao abrigo da luz. O Quadro 1 informa o nome das espécies escolhidas para o estudo.

Quadro 1. Relação das espécies empregadas no estudo.

Nome popular	Nome científico (família botânica)	Parte utilizada
inhame (antigo cará)	<i>Dioscorea</i> sp. (Dioscoreaceae)	tubérculo descascado
couve	<i>Brassica oleracea</i> (Brassicaceae)	folhas
kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i> (Actinidiaceae)	fruto descascado
alface	<i>Lactuca sativa</i> (Asteraceae)	folhas
laranja-pera	<i>Citrus sinensis</i> (Rutaceae)	fruto (parte comestível)
tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> (Solanaceae)	fruto
chicória	<i>Cichorium intybus</i> (Asteraceae)	folhas
couve-chinesa	<i>Brassica pekinensis</i> (Brassicaceae)	folhas
repolho	<i>Brassica capitata</i> (Brassicaceae)	folhas
taro (antigo inhame)	<i>Colocasia esculenta</i> (Araceae)	rizoma descascado
espinafre	<i>Tetragonia tetragonoides</i> (Aizoaceae)	folhas

## **3.2. Extração de ácido oxálico**

Esta etapa foi conduzida de acordo com o trabalho de Savage et al. (2000), a partir da possibilidade de se criar diferencial extrativo com procedimentos de extração.

### **3.2.1. Fração solúvel**

De cada uma das amostras foi amostrado  $\pm 1$ g de material vegetal em béquer (em triplicatas), sendo adicionados 50 mL de água deionizada. Em seguida, os béqueres contendo as amostras foram submetidos a banho-maria a 80°C durante 15 minutos. Após esse processo, procedeu-se filtração e os volumes foram acertados com água, em balões volumétricos de 100 mL.

### **3.2.2. Extração de ácido oxálico total**

De cada uma das amostras foi amostrado  $\pm 1$ g de material vegetal em béquer (em triplicatas), sendo adicionados 50 mL de HCl 2M. Em seguida, os béqueres contendo as amostras foram submetidos a banho-maria a 80°C durante 15 minutos. Após esse processo, procedeu-se filtração e os volumes foram acertados com HCl 2M, em balões volumétricos de 100 mL.

### 3.2.3. Fração insolúvel

As quantidades referentes a esta fração foram estimadas com base na diferença entre a fração total e a fração solúvel.

## 3.3. Determinação do ácido oxálico

### 3.3.1. Adequação do método

Assim, de acordo com a metodologia proposta por Naik et al. (2014), foi construída uma curva de calibração utilizando solução padrão de ácido oxálico (8 mg L<sup>-1</sup>). Como agente oxidante empregou-se uma solução de KMnO<sub>4</sub> 0,003M e para manutenção da acidez uma solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N (Tabela 1). Após a preparação, aguardou-se 15 minutos (incubação em temperatura ambiente – 18°C) e logo em seguida foram realizadas leituras de absorbância a 528 nm usando um espectrofotômetro na faixa do visível, marca FEMTO

Tabela 1. Composição da primeira curva analítica testada.

Concentração do analito (mg L <sup>-1</sup> )	Solução padrão 8 mg L <sup>-1</sup> (mL)	Solução de KMnO <sub>4</sub> (mL)	Solução de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mL)	Volume de água (mL)
0	0	2,0	5,0	2,0
0,4	0,4	2,0	5,0	1,6
0,8	0,8	2,0	5,0	1,2
1,2	1,2	2,0	5,0	0,8
1,6	1,6	2,0	5,0	0,4
2,0	2,0	2,0	5,0	0

A Tabela 2 mostra outra composição para a curva de calibração, onde foi utilizada uma solução padrão de ácido oxálico de maior concentração (2000 mg L<sup>-1</sup>).

Tabela 2. Composição da segunda curva analítica testada.

<b>Concentração do analito (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Solução padrão 2 g L<sup>-1</sup> (mL)</b>	<b>Solução de KMnO<sub>4</sub> (mL)</b>	<b>Solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (mL)</b>	<b>Volume de água (mL)</b>
<b>0</b>	0	2,0	6,0	-
<b>50</b>	0,2	2,0	5,8	-
<b>100</b>	0,4	2,0	5,6	-
<b>150</b>	0,6	2,0	5,4	-
<b>200</b>	0,8	2,0	5,2	-
<b>250</b>	1,0	2,0	5,0	-

De acordo com os resultados de Naik et al. (2014), todos os procedimentos (incluindo os 15 minutos de incubação para estabilidade de reação) foram realizados em temperatura ambiente, neste caso, a 27°C. À época do desenvolvimento das análises deste projeto, a temperatura ambiente do laboratório era de 18°C. Assim, realizou-se a construção de duas curvas de calibração, conforme a composição da Tabela 2, sendo uma delas levada à incubação em estufa a 27°C durante 20 minutos e, outra deixada à temperatura ambiente de 18°C. Após 15 minutos de repouso das amostras, ambas foram submetidas à análise no espectrofotômetro a 528 nm. O processo foi realizado em triplicata.

### **3.3.2. Análise das amostras**

Para a determinação de ácido oxálico das amostras de material vegetal (Quadro 1) empregou-se 1 mL dos extratos (referentes a fração solúvel e a fração

total), adicionado de 5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N e 2 mL de  $\text{KMnO}_4$  0,003M, aguardando-se 15 minutos para a reação em temperatura ambiente ( $18^\circ\text{C}$ ).

## **4. Resultados e discussão**

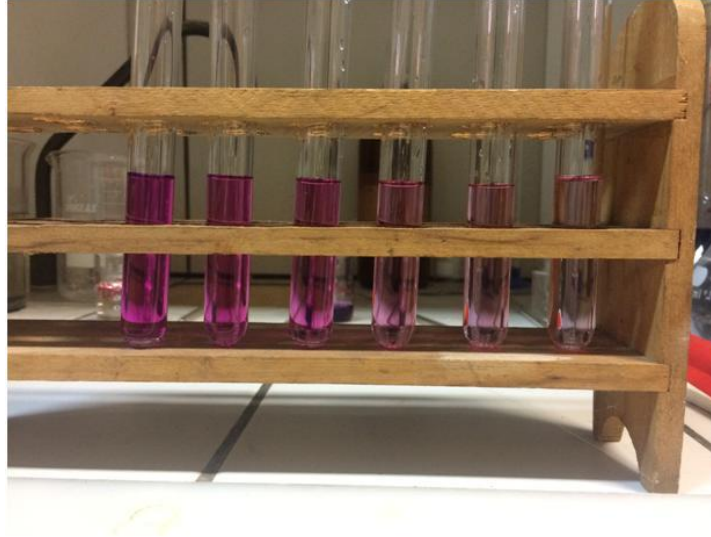
### **4.1. Adequação do método**

A curva de calibração desenvolvida com os parâmetros da Tabela 1 não resultou em resultado analítico satisfatório, pois não houve indicativos de reação química finalizada, ou seja, os pontos contendo alíquotas da solução padrão de ácido oxálico ( $8 \text{ mg L}^{-1}$ ) não diferiram em coloração do ponto  $0,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Então, a composição proposta não foi útil para a aplicação do método proposto.

A curva de calibração desenvolvida com os parâmetros da Tabela 2 resultou em resultados favoráveis para a análise como mostra a Figura 1.

A reação consiste na redução da coloração proporcionada pelo permanganato de potássio conforme a concentração de solução padrão de ácido oxálico no tubo de ensaio é aumentada, e conseqüentemente representando menores valores de absorvância no equipamento de espectrofotometria.

Figura 1. Aspecto visual do teste para a curva de calibração proposta na Tabela 2. Concentração da solução padrão de ácido oxálico (da esquerda para a direita): 0,0 mg L<sup>-1</sup>; 50,0 mg L<sup>-1</sup>; 100,0 mg L<sup>-1</sup>; 150,0 mg L<sup>-1</sup>; 200,0 mg L<sup>-1</sup> e 250,0 mg L<sup>-1</sup>.



Os resultados obtidos para o ensaio da influência da temperatura na reação revelaram melhor ajuste para a curva conduzida a temperatura de 18°C, em função do maior valor estimado para a correlação (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados para o ensaio da influência da temperatura na reação.

(18°C)		(27°C)	
Abs*	Conc.**	Abs*	Conc.***
0,000	-21,833	0,000	-32,990
0,280	45,345	0,284	38,421
0,547	109,405	0,721	148,303
0,911	196,737	0,856	182,248
0,950	206,094	0,934	201,861
0,984	214,251	0,975	212,170

\*:absorvância corrigida conforme Naik et al. (2014); \*\*:concentração de ácido oxálico estimada pela equação obtida na regressão linear da curva de calibração ( $y=0,091+0,0042x - r:0,9146$ ); \*\*\*: concentração de ácido oxálico estimada pela

equação obtida na regressão linear da curva de calibração ( $y=0,1312+0,0040x - r:0,8789$ ).

Figura 2. Curva de calibração para ácido oxálico conduzida a 18°C.

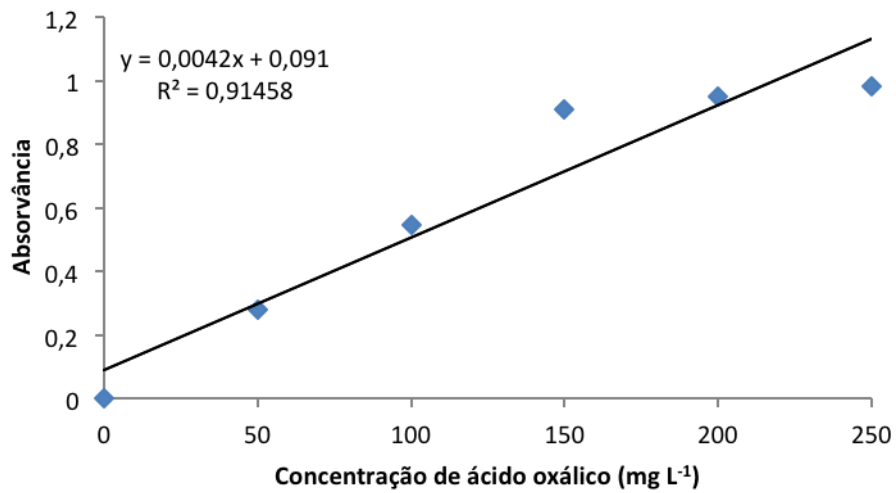
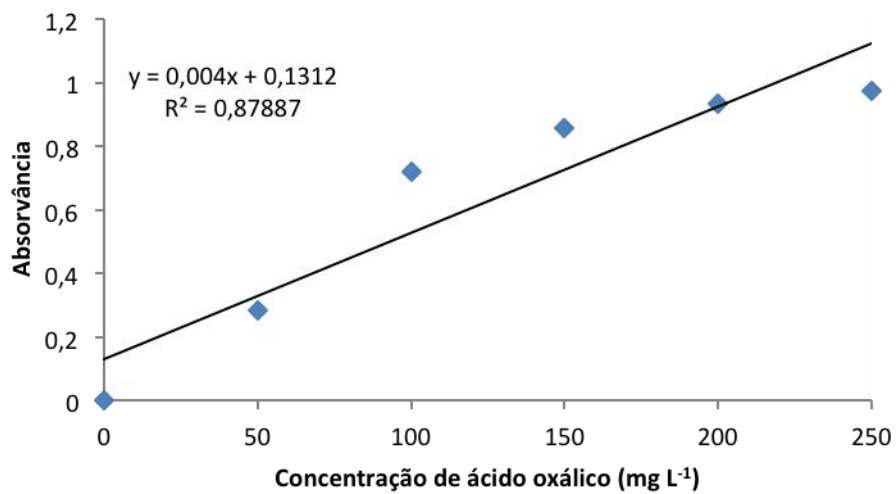


Figura 3. Curva de calibração para ácido oxálico conduzida a 27°C.



Definidos os padrões de concentração do ácido oxálico, foram realizadas as análises em espectrofotômetro,

Tabela 4. Teores de ácido oxálico (total, solúvel e insolúvel) presentes nas amostras de hortaliças e frutos selecionados para o estudo.

<b>Material vegetal</b>	<b>Fração total (g kg<sup>-1</sup> MS*)</b>	<b>Fração solúvel (g kg<sup>-1</sup> MS)</b>	<b>Fração insolúvel (g kg<sup>-1</sup> MS)</b>
inhame (antigo cará)	0,78	0,04	0,74
couve	7,49	7,37	0,12
kiwi	26,22	17,37	8,85
alface	23,99	23,32	0,67
laranja	6,35	3,85	2,50
tomate	24,83	24,54	0,29
chicória	19,35	19,25	0,10
couve chinesa	24,99	24,65	0,34
repolho	7,45	7,33	0,12
taro (antigo inhame)	16,04	8,58	7,46
espinafre	22,80	11,52	11,28

\*: matéria seca

Com base na literatura, é de conhecimento que o oxalato está presente em diversas plantas alimentícias, como se observa na tabela 4. Judprasong et al., em 2006 defendeu que quando associado com íons potássio, sódio e amônio, uma forma solúvel é formada, porém quando associado com íons cálcio, resulta numa forma insolúvel em meio alcalino ou neutro. Por outro lado, em meio ácido resulta numa forma solúvel. A forma insolúvel pode ser precipitada como um sal, sendo acumulada nos glomérulos renais, contribuindo assim para uma complicação renal.

Conforme observado na tabela 4, as amostras analisadas que apresentaram os maiores teores de ácido oxálico na fração solúvel foram: kiwi, alface, tomate, chicória e couve, podendo apresentar maiores riscos frente às demais amostras.

Considerando que a fração solúvel é aquela que pode interagir com o organismo, associando-se com íons cálcio, principalmente, formando sais insolúveis, estes alimentos podem promover o início de formação dos cálculos renais, de oxalato de cálcio.

Alguns estudos, como o de Kulaksizoglu et al. (2007) avaliaram a ação do meio ácido em solubilizar a forma insolúvel, usando sucos cítricos, como laranja e limão, e ambos funcionaram como bons solventes do oxalato de cálcio, sendo o limão um melhor inibidor da agregação dos cristais de oxalato. Nesse estudo, foi utilizada amostra de laranja, que demonstrou valor de uma fração solúvel superior a 50% da fração total, reforçando assim a ação dos meios ácidos na solubilidade dos cristais de oxalato, e também apresentou uma fração significativa de fração insolúvel, que o ácido oxálico que permanece nos cristais e não é liberado no meio, ou seja é eliminado do organismo. No mesmo estudo é apresentada ação dos extratos cítricos na diluição dos cálculos renais, influenciando na melhoria do quadro.

Algumas famílias de plantas apresentam uma quantidade maior de oxalato, que é o caso do espinafre, e no estudo de Nooman e Savage (1999) é demonstrada a influência do ambiente na disponibilidade do oxalato na planta, uma vez que os espinafres cultivados no outono apresentaram menos oxalato ( $540 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ) do que os cultivados no verão, que apresentaram  $740 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ .

Segundo Savage et al. (2000) o cozimento resulta em diminuições do teor de oxalato solúvel de alguns alimentos, como o do espinafre e do bambu, que teve sua proporção de oxalato/cálcio reduzida de 10,7:4 para 7,1/4 após o cozimento. Segundo Puwastien et al. (1999) isso demonstra uma importância no cozimento dos alimentos antes do consumo, a fim de diminuir a ingestão do oxalato.

## 5. Conclusão

As amostras de espécies vegetais alimentícias estudadas apresentam diferentes concentrações de oxalato de cálcio. Os métodos propostos para a determinação espectrofotométrica de ácido oxálico foram modificados para atendimento de exigências analíticas. De acordo com a metodologia empregada (modificada) foi possível caracterizar as frações de ácido oxálico (solúvel e total) e, com isso a fração insolúvel foi estimada. Com base nos teores encontrados, consideram-se os materiais vegetais com maior concentração da fração solúvel, os mais passíveis de oferecimento de riscos para a ingestão.

## 6. Referências

ASPLIN, JR. Hyperoxaluric calcium nephrolithiasis. **Endocrinology Metabolism Clinics of North American**; 31: 927-949; 2002.

BHASIN, Bhavna; U' EKLI, Hatice Melda; ATTA, Mohamed G. Primary and secondary hyperoxaluria: Understanding the enigma. **World Journal of Nephrology**, Pleasanton, CA, v. 4, n. 2, p. 235-244; 2015.

CASTRO, M.D LUQUE DE. Determination of oxalic acid in urine: Review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis**, INGLATERRA, v. 6, n. 1, p. 1-13; 1988.

CRAMER SD et al. The gene encoding hydroxypyruvate reductase (GRHPR) is mutated in patients with primary hyperoxaluria type II. **Human Molecular Genetics**; 8: 2063-2069; 1999.

DANPURE CJ, JENNINGS PR. Peroxisomal alanine: glyoxylate aminotransferase deficiency in primary hyperoxaluria type I. **FEBS Letters**; 201: 20-24; 1986.

HODGKINSON, A.; ZAREMBSKI, P. M.. Oxalic Acid Metabolism in Man: A Review. **Calcif Tissue International**, Leeds, Inglaterra, v. 2, p. 115-132; 1968.

HOLLOWAY, W. D. et al. Organic acids and calcium oxalate in tropical root crops. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, USA, v. 37, p. 377-341; 1989.

HOLMES RP, GOODMAN HO, ASSIMOS DG. Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. **Kidney International**; 59: 270-276; 2001.

HOLMES, ROSS P.; KENNEDY, MARTHA. Estimation of the oxalate content of foods and daily oxalate intake. **Kidney International**, v. 57, p. 1662-1667; 2000.

JUDPRASONG, K. et al. Total and soluble oxalate contents in Thai vegetables, cereal grains and legume seeds and their changes after cooking. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 340-347; 2005.

KULAKSIZOGLU, SEVSEN; SOFIKERIM, MUSTAFA, . In vitro effect of lemon and orange juices on calcium oxalate crystalization. **International urology and nephrology**, [S.L.], v. 40, n.11, p. 589-594, ago. 2007.

LIBERT, BO. Rapid determination of oxalic acid by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatology**, Amsterdam, p. 540-543; 1981.

LIBERT, BO; FRANCESCHI, VINCENT R. Oxalate in Crop Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, n. 6, p. 926-938; 1987.

MESCHI, T. et al. The effect of fruits and vegetables on urinary stone risk factors. **Kidney International**,, Parma, Itália, v. 66, p. 2402-2410; 2004.

Milliner DS. The primary hyperoxalurias: an algorithm for diagnosis. **American Journal of Nephrology**; 25: 154-160; 2005.

NAIK, V. V. et al. Methodology in determination of oxalic acid in plant tissue: an comparative approach. **Journal of global trends in pharmaceutical sciences**, Kolhapur, v. 5, n. 2, p. 1662-1672; 2014.

NAPPI, G. U. et al. Validação de métodos para determinação dos ácidos fítico e oxálico em multimistura. **Ciências Tecnológicas dos Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 811-820; 2006.

NOONAN, S.C., SAVAGE, G.P. Oxalic acid content of foods and its effect on humans. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition** 8 (1), 64–74;1999

ODVINA, CLARITA V. Comparative Value of Orange Juice versus Lemonade in Reducing Stone-Forming Risk. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, [S.L.], v. 1, p. 1269-1274; 2006.

OSCARSSON, K.V.; SAVAGE, G.P. Composition and availability of soluble and insoluble oxalates in raw and cooked taro (*Colocasia esculenta* var. Schott) leaves. **Food Chemistry**, v. 101, p. 559-562; 2012.

PURDUE PE, TAKADA Y, DANPURE CJ. Identification of mutations associated with peroxisome-to-mitochondrion mistargeting of alanine/glyoxylate aminotransferase in primary hyperoxaluria type 1. **The Journal of Cell Biology**; 111: 2341-235; 1990.

PUWASTIEN, P., RAROENGWICHIT, M., SUNGPUAG, P., JUDPRASONG, K.. Thai Food Composition Tables. **Institute of Nutrition Mahidol University (INMU)**; 1999.

ROBIJN S, HOPPE B, VERVAET BA, D'HAESE PC, VERHULST A. Hyperoxaluria: a gut-kidney axis? **Kidney International**; 80: 1146-1158; 2011.

RUTH, B. et al. Mutations in *DHDPSL* are responsible for primary hyperoxaluria Typo III. **American journal of human genetics**, v. 87, n. 3, p. 392-399; 2010.

SAVAGE, G. P. et al. Effect of Cooking on the Soluble and Insoluble Oxalate Content of Some New Zealand Foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, p. 201-206; 2000.

SILVA, F. A. D. M. et al. Determinação de ácidos orgânicos de baixo peso molecular na rososfera de cafeeiro por cromatografia líquida de alta eficiência(CLAE). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, p. 1391-1395; 2002.

WABNER, CL.; CY. PAK. Effect of orange juice consumption on urinary stone risk factors.. **The Journal of Urology**, v. 149, n. 6, p. 1405-1408; 1993.

WILLIAMS HE, SMITH LH. Hyperoxaluria in L-glyceric aciduria: possible pathogenic mechanism. **Science**; 171: 390-391; 1971.



Araraquara, 17 de outubro de 2016

---

Danilo Alves Rosa Moreira

De acordo,

---

Luis Vitor Silva do Sacramento