



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CONTEÚDO DE
FERRO SOLÚVEL EM SOJA [*Glycine max* (L.)
Merril] E AVALIAÇÃO DE SUA EFICIÊNCIA
NO CONTROLE DA ANEMIA FERROPRIVA
EM RATOS**

LETÍCIA TAMIE PAIVA YAMADA

2001

51628

MPN: 36475

LETÍCIA TAMIE PAIVA YAMADA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CONTEÚDO DE FERRO SOLÚVEL EM
SOJA [*Glycine max* (L.) Merrill] E AVALIAÇÃO DE SUA EFICIÊNCIA
NO CONTROLE DE ANEMIA FERROPRIVA EM RATOS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Química, Físico-Química e Bioquímica de Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Profa. Dra. Maria de Fátima Piccolo Barreto

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Yamada, Letícia Tamie Paiva

Composição química, conteúdo de ferro solúvel em soja [*Glycine max* (L.)
Merrill] e avaliação de sua eficiência no controle de anemia ferropriva em ratos /
Letícia Tamie Paiva Yamada. -- Lavras : UFLA, 2001.

100 p. : il.

Orientadora: Maria de Fátima Piccolo Barcelos.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Soja. 2. Ferro. 3. Biodisponibilidade. 4. Rato. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD-574.192

-6640.07

-664.726

LETÍCIA TAMIE PAIVA YAMADA

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CONTEÚDO DE FERRO SOLÚVEL EM SOJA
[*Glycine max* (L.) Merrill] E AVALIAÇÃO DE SUA EFICIÊNCIA NO
CONTROLE DA ANEMIA FERROPRIVA EM RATOS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Química, Físico-Química e Bioquímica de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 07-03-2001

**Dra. Jacqueline Isaura Alvarez Leite
Dr. Luiz Ronaldo de Abreu**

**UFMG
UFLA**


Prof.ª Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos

UFLA

(Orientadora)

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

Com amor ao bom Deus – presente em cada ser humano faminto neste mundo – e à Nossa Senhora, protetora de minha vida e da vida de todos nós.

Aos meus pais, Maria Lígia e Mário Yamada,
pela *vida* que ainda recebo de ambos e à minha irmã Eliane.

Ao meu querido noivo Neimar,
por toda a força, carinho, paciência e ajuda

Aos meus avós, por todo exemplo de vida aqui deixado,
(a saudade aperta, mas a certeza do reencontro em Deus consola!)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar àquele que foi o maior responsável pela conclusão deste trabalho: nosso bom Deus.

À minha família, por todo carinho e amor a mim dedicados.

Ao meu noivo, Neimar, companheiro e amigo de todas as horas.

Ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

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

Às minhas orientadoras, Maria de Fátima Piccolo Barcelos e Jacqueline Izaura Alvarez Leite, pela amizade, compreensão, apoio dedicação e orientação.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), por nos ceder as amostras de soja para o experimento e a Teresa Barreto (RHOSTER), pela atenção e fornecimento de ingredientes da dieta experimental.

Ao Departamento de Bioquímica do ICB – UFMG, pela acolhida e ajuda; à professora Rosa Maria Arantes, da patologia do ICB e ao Dr. Raimundo Fontenelle Mascarenhas do laboratório de hematologia do Hospital das Clínicas – UFMG, pela grande colaboração.

Ao professor Raimundo Vicente de Sousa, do Departamento de Medicina Veterinária, pelo apoio e cooperação. Aos Departamentos de Fitopatologia e de Química da UFLA, pela ajuda prestada. A todos os professores do DCA, a todos os colegas de Lavras e, em especial, aos alunos do grupo de oração universitário, pelos momentos partilhados.

Às técnicas do DCA: Maria Aparecida Correa Lima (Cidinha), Constantina Maria Braga Torres (Tina) e Sandra Mara Lacerda Silva pelo carinho e inestimável ajuda. Às alunas de iniciação científica Thaísa Silva Tavares e Andrelisa Lina Lima. Aos colegas da UFMG, Profa. Carminha, Profa. Lêda, Ma. Helena, Ronilda, Thaís, Emir, Flávia, Mariana, Luciane, Thales e Aninha, pela amizade, parceria e descontração.

A todos que não tenha mencionado e que estiveram presentes nesta caminhada, o meu muito obrigado. Que Deus possa derramar em todas estas vidas o dobro do bem que a mim fizeram.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL	i
GENERAL ABSTRACT	iii
CAPÍTULO 1	01
1 INTRODUÇÃO GERAL	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 O problema da anemia no Brasil e no mundo	03
2.2 O ferro	06
2.2.1 Oligoelemento e função biológica	06
2.2.2 Absorção e metabolismo	08
2.2.3 Necessidades e recomendações	16
2.3 Biodisponibilidade de Ferro	19
2.3.1 Promotores da absorção	22
2.3.2 Inibidores dietéticos da absorção de ferro	23
2.4 A soja	26
2.4.1 A soja como alimento	27
2.4.2 Biodisponibilidade de ferro na soja.....	32
2.4.3 Ferritina	35
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
CAPÍTULO 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTEÚDO DE FERRO SOLÚVEL EM SOJA [<i>Glycine max</i> (L.) Merrill]	45
RESUMO	45
ABSTRACT	46
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	51

	Página
2.1 Matéria-prima e delineamento experimental	51
2.2 Tratamento das amostras.....	51
2.3 Análises químicas e bioquímicas.....	51
2.3.1 Composição centesimal	52
2.3.2 Composição mineral	52
2.3.3 Determinação da fração de ferro solúvel	53
2.2.4 Taninos (Polifenóis).....	54
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.1 Análises químicas e bioquímicas	55
3.1.1 Composição centesimal	55
3.1.2 Composição mineral	56
3.1.3 Ferro solúvel	59
3.1.4 Taninos (Polifenóis).....	60
4 CONCLUSÕES	62
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO 3 AVALIAÇÃO DA SOJA [<i>Glycine max</i> (L.) Merrill], CULTIVAR IAC PL-1 NA RECUPERAÇÃO DE RATOS ANÊMICOS	66
RESUMO	66
ABSTRACT	68
1 INTRODUÇÃO	70
2 MATERIAL E MÉTODOS	72
2.1 Animais	72
2.2 Dietas experimentais e distribuição nos grupos.....	72
2.2.1 Fase de depleção	72
2.2.2 Fase de repleção	74

	Página
2.3 Análises químicas e bioquímicas.....	78
2.3.1 Determinação de hemoglobina e componentes sangüíneos	78
2.3.2 Determinação do ferro sérico	79
2.3.3 Determinação do ferro total do fígado e do baço	79
2.4 Análises histopatológicas	79
2.5 Delineamento estatístico	80
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
3.1 Fase de depleção	81
3.2 Fase de repleção	82
3.2.1 Consumo de dieta e peso dos animais	82
3.2.2 Hemoglobina, hematócrito, componentes sangüíneos e estoques de ferro	86
3.3 Análises histopatológicas	93
4 CONCLUSÃO	95
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
ANEXOS	98

RESUMO GERAL

YAMADA, L.T.P. Composição química, conteúdo de ferro solúvel em soja [*Glycine max* (L.) Merrill] e avaliação de sua eficiência no controle de anemia ferropriva em ratos. Lavras: UFLA, 2001. 100p. (Dissertação – Mestrado em Ciência de Alimentos).*

O grão de soja possui um dos maiores teores de proteína e de ferro entre os alimentos de origem vegetal e, devido a esta sua grande quantidade de ferro, a soja tem sido investigada quanto à sua capacidade de recuperação de indivíduos anêmicos. No passado a investigação se baseou somente na sua quantidade de ferro total, não considerando as frações solúveis deste mineral, que são mais biodisponíveis. Este trabalho constituiu-se de duas etapas, na primeira etapa foram realizadas análises químicas e bioquímicas de quatro cultivares de soja *Glycine max* (L.) Merrill (IAC PL-1; IAC 22; IAC 8-2 e IAC 15-2), provenientes do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), para a determinação do teor de ferro total e solúvel, além de análises do teor de taninos e de fibras, substâncias complexantes de ferro; com o objetivo de se selecionar uma cultivar que tivesse uma maior concentração de ferro e uma menor concentração de fatores complexantes deste mineral na soja. Numa segunda etapa testou-se a cultivar selecionada quanto a sua capacidade de controlar a anemia ferropriva em ratos wistar fêmeas, através de análises químicas (ferro total do fígado e do baço), bioquímicas (hemoglobina, hematócrito e ferro sérico) e histopatológicas (fígado e baço). Das cultivares de soja analisadas neste trabalho, a IAC PL-1 e a IAC 8-2 mostraram ser as mais indicadas como fonte de ferro para utilização na alimentação humana, visto que em termos de teores de ferro total seus conteúdos foram dos mais altos, e apesar de a cultivar IAC 8-2 ter apresentado valores maiores que a IAC PL-1, os teores de ferro solúvel (mais biodisponível) eram iguais, sendo que a cultivar IAC PL-1 teve ainda os menores teores de fibras. As quantidades de taninos (polifenóis), presentes nestas cultivares foram baixas, e provavelmente não sejam suficientes para provocar uma inibição significativa da absorção de ferro. Na segunda etapa, os tratamentos se constituíram de cinco diferentes dietas dadas aos ratos anêmicos: dieta controle normal, com um conteúdo de ferro ideal para os ratos (30 mg/kg); dieta controle deficiente (4,23mg de Fe/kg de dieta); dieta ferritina, com ferro proveniente da ferritina de

* Comitê Orientador: Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos-UFLA (Orientadora), Dra. Jacqueline Isaura Alvarez Leite (Co-orientadora)-UFMG, M. Sc. Raimundo Vicente de Sousa – UFLA.

baço de cavalo (35,9 mg de Fe/kg de dieta); dieta soja, com ferro proveniente da soja (27,36mg de Fe/kg) e dieta soja + ferritina, com 50% de ferro da soja e 50% de ferro da ferritina (31,11 mg de Fe/kg). Todas as três dietas experimentais com diferentes tipos de fontes de ferro foram capazes de controlar a anemia dos ratos, quando comparadas às dietas controle, recuperando seus níveis de hemoglobina, hematócrito e ferro sérico, apesar de os estoques de ferro nas vísceras não terem se igualado estatisticamente ao dos animais controles normais. Tanto o baço quanto o fígado não sofreram alterações histológicas importantes.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Soja, ratos, anemia, biodisponibilidade de ferro.

GENERAL ABSTRACT

YAMADA, Leticia Tamie Paiva. Chemical composition, content of soluble iron in soybean [*Glycine Max* (L.) Merrill] and evaluation of its efficiency in the control of iron-deficient anemia in rats. Lavras: UFLA, 2001.100p. (Dissertation, Master in Food Science)*

Soybean grain possesses a one of the highest content of protein and iron among the plant foods and, due to this great amount of iron, soybean has been investigated as to its capacity of recovery of anemic individuals. In the past, the investigation was based only upon its total iron amount, not taking into account the soluble fractions of this mineral, which are more bioavailable. This work consisted of two steps, in the first step were accomplished both chemical and biochemical analyses of four soybean cultivars *Glycine max* (L) Merril (IAC PL-1; IAC 22; IAC 8-2 and IAC 15-2), coming from the Instituto Agrônomo de Campinas (Campinas Agronomic Institute) for determining the total and soluble iron content, in addition to the analyses of the content of tannins and fiber, iron-complexing substances; with the objective of screening a cultivar which presented an increased concentration of iron and poorer concentration of complexing factors of this mineral in soybean. In a second step, screened the cultivar was tested as to its capacity of controlling ferropriva anaemia in female wistar rats, through the chemical (total liver and spleen iron), biochemical (hemoglobin, hemathocrit and serum iron) and histopathologic (liver and spleen) analyses. Out of the soybean cultivars analyzed in this work , IAC PL-1 and IAC 8-2 seem to be the most indicated as an iron source for use in the human feeding, since in terms of total iron contents, its amounts were of the highest and in spite of the cultivar IAC 8-2 having presented values greater than IAC PL-1, the soluble iron contents (more bioavailable) were equal, being that the cultivar IAC PL-1 still presented the poorest contents of fiber. The amount of tannins (polyphenols) present in these cultivars were low and probably they are not enough to provoke a significant inhibition of iron uptake . In the second step, the treatments consisted of five different diets given to the anaemic rats: normal control diet, with an iron content ideal to the rats (30mg /kg); deficient control diet (4.23 mg of Fe/kg of diet); ferritin diet, with iron from ferritin of horse's

* Guidance Committee: Dra. Maria de Fátima Piccolo Barcelos -UFLA (Major Professor), Dra Jacqueline Isaura Alvarez Leite - UFMG, M. Sc. Raimundo Vicente de Sousa - UFLA.

spleen (35.9mg of Fe/kg of diet); soybean diet, with iron from soybean (27.36 mg of Fe/kg) and soybean + ferritin diet with 50% of soybean iron and 50% of ferritin iron (31.11 mg of Fe/kg). All the three experimental diets with different sorts of sources of iron were capable of controlling the rats' anemia when compared with the control diets, recovering their levels of hemoglobin, hematocrit and serum iron, despite the stores of iron in the viscera not having equaled statistically to that of the normal control animals . Both the spleen and liver did not undergo important histological alterations.

INDEX TERMS: Soybeans, bioavailability of iron, anaemia, rats.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A deficiência de ferro é muito comum em nosso meio, sendo possivelmente responsável por grande parte das anemias no Brasil. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a anemia ferropriva um dos quatro grandes problemas de nutrição no globo, juntamente com as carências protéico-calórica de vitamina A e de iodo. Dados do Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN) mostram que, no Brasil, a prevalência de anemia ferropriva é da ordem de 40%, afetando principalmente crianças, adolescentes e mulheres grávidas (Brasil, 1986).

Todos os seres vivos, com exceção de algumas espécies de *Lactobacillus*, necessitam de ferro. Embora este metal exista em grande abundância na crosta terrestre, ele não é absorvido com facilidade pelos seres vivos. Portanto, a dieta precisa ter quantidades maiores e mais biodisponíveis desse micronutriente para alcançar a recomendação mínima.

Sabe-se que o ferro orgânico, dito hemínico, ou heme, é melhor absorvido do que o ferro inorgânico. As principais fontes de ferro heme porém, são os alimentos de origem animal, ou seja, os mais dispendiosos na alimentação. O ferro, tanto em plantas quanto em animais, é armazenado principalmente sob a forma de uma metaloproteína chamada ferritina, que é uma grande molécula protéica, formada por uma capa esférica de proteína com um centro de hidróxido de ferro. Estudos recentes têm avaliado a ferritina como fonte dietética de ferro em plantas, principalmente por ser componente natural em grãos, como a soja (90% do total de ferro contido na semente de soja está ligado à ferritina) e por ser um ferro mais biodisponível.

A preocupação com a situação alimentar e nutricional de grande parcela da sociedade brasileira, especialmente das comunidades de baixa renda, vem motivando iniciativas de instituições públicas federais, estaduais e municipais além de organizações não governamentais que trabalham em saúde, nutrição e educação comunitária, na busca de soluções eficazes e de alcance popular. Sabe-se que as dietas de grupos sociais de baixo poder socioeconômico, ou seja, os grupos mais susceptíveis à anemia ferropriva, são ricas em alimentos de origem vegetal. Consequentemente, contêm fibras alimentares e compostos antinutricionais, tais como o ácido fítico, ácido oxálico e taninos, que se complexam ao ferro da dieta, bem como a outros nutrientes, tornando-o insolúvel e fazendo com que não seja absorvido. Isso agrava ainda mais a solução do problema da anemia.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja (Embrapa soja, 2000). Este grão possui uma grande concentração de proteínas de considerável valor biológico e, ainda, proporciona um elevado índice de absorção de ferro quando comparado a outros vegetais. Estudos com ratos indicam que a ferritina presente na soja pode se livrar dos fatores complexantes da dieta. A soja, com maiores conteúdos de ferritina, poderia diminuir o problema da deficiência de ferro que atinge grande parte da população do país e do mundo; visto tratar-se de um alimento extremamente disponível e de custo mais baixo, se comparado, principalmente, aos produtos de origem animal e ou suplementos químicos.

Diante das questões apresentadas, o presente trabalho teve por objetivos verificar a concentração de ferro solúvel (porção de ferro das sementes na qual se encontra a ferritina) de quatro cultivares de soja provenientes do Instituto Agronômico de Campinas e o efeito da ingestão de dietas à base de soja, acrescidas com ferritina na eliminação da anemia ferropriva em animais experimentais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O problema da anemia no Brasil e no mundo

A prevalência da anemia tem sido estudada no mundo inteiro nos últimos 25 anos. Informações significativas de 31 países da África, 25 da América Latina, 23 da Ásia, 16 da Europa e 4 da Oceania, assim como da América do Norte, mostram que as crianças e as mulheres aparecem como os grupos que são mais vulneráveis e, portanto, são também os que têm sido mais estudados. Segundo estes dados, a prevalência global de anemia é provavelmente em torno de 30%. Isto significa que em 1980, 1.300 milhões de pessoas, de uma população mundial estimada em 4.400 milhões eram anêmicas (OMS/FAO, 1991). Nos países em desenvolvimento essa porcentagem chega a 36% ou 1.200 milhões de pessoas. Viteri (1998), citado por Sandstead (2000), apresenta dados mais atuais, nos quais a cifra de pessoas afetadas pela deficiência de ferro no mundo chega a mais de 2 bilhões.

Existem evidências suficientes para sugerir que a carência de ferro, seja a causa mais significativa de anemia nutricional no mundo (OMS/FAO, 1991). Yip (1997) entre outros autores (Gibson, 1997; Beard, 2000; Lynch, 2000), evidencia que a alta prevalência de deficiência de ferro no mundo inteiro se deve à sua baixa e inadequada ingestão na dieta, necessária para suprir as requisições relativamente altas das crianças, gestantes e também das adolescentes, principalmente na idade reprodutiva, quando a menarca e a possibilidade de gravidez precoce se unem ao crescimento “esporão”, característico dessa fase. Muitos outros fatores aumentam a requisição de ferro na dieta e provocam a anemia. Entre eles podemos citar as perdas intestinais de sangue por parasitismo, especialmente pelas infecções por ancilostoma e *Trichuris trichiura*.

No Brasil, a anemia é considerada um problema de saúde pública, por se manifestar de forma endêmica. A prevalência média no país é de 40%, atingindo principalmente gestantes, crianças e adolescentes (Brasil, 1986, citado por Soglia, 1996). Em Minas Gerais, estudos realizados em áreas de pobreza constataram a ocorrência de valores baixos de hemoglobina em 21,5% de crianças em idade pré-escolar e em 17,5% de crianças em idade escolar (Araújo et al., 1987). Estudos realizados em creches no município de Viçosa-MG revelaram prevalência de anemia ferropriva em torno de 62,5% para meninos e 44% para meninas de 3 a 4 anos; 83,3% e 62,5% para a idade de 4 e 5 anos respectivamente e de 50% em crianças de 5 a 6 anos, independente de sexo (Magalhães e Silva, 1993). A anemia não é somente um problema de países em desenvolvimento, nos EUA 7,8 milhões de mulheres e 700.000 crianças possuem deficiência de ferro, sendo que, deste total, 3,3 milhões de mulheres e 240.000 crianças têm anemia por deficiência de ferro na dieta (Sandstead, 2000).

A depleção de ferro acarreta problemas sérios ao organismo, principalmente nas fases de crescimento acelerado, como na infância e adolescência e durante a gravidez. Quando o estoque de ferro do organismo é depletado, o corpo sofre consequências funcionais, tais como a ineficiência do transporte de oxigênio e prejuízos no metabolismo oxidativo, no metabolismo nuclear e na transcrição gênica. As seqüelas clínicas para este pobre *status* de ferro incluem a anemia em si, a diminuição da eficiência da função imune e a diminuição da performance no trabalho (Beard, Dawson e Piñero, 1996). A imunocompetência reduzida é um possível sinal de deficiência precoce de ferro, notada particularmente por defeitos na imunidade mediada por células e na atividade fagocítica dos neutrófilos, que podem levar a uma propensão aumentada para infecção (Kasdan, In.: Mahan e Escott-Stump, 1998).

A anemia durante a gravidez é um grave fator de risco, aumentando a probabilidade de parto prematuro, de baixo peso ao nascimento e de ocorrência

de anemia nos seis primeiros meses de vida, pois não armazenou adequadamente o ferro durante a fase uterina. Está ainda associada ao aumento da mortalidade perinatal, tanto da mãe (se possuir níveis de hemoglobina próximos de 6 a 7g/dl) quanto do bebê (Bothwell, 1979 citado por Lynch 2000; Scholl e Reilly, 2000; Kanani e Poojara, 2000).

Resultados de pesquisas com animais experimentais e humanos indicam que as deficiências de ferro e zinco podem afetar também a cognição, pois indicam que ambos, cujas deficiências podem ocorrer simultaneamente, são componentes essenciais para o desenvolvimento do cérebro e do sistema nervoso central (Pollit, 2000; Sandstead, 2000). O prejuízo da função neurofisiológica é um dos efeitos adversos das deficiências severas de ferro e zinco. Foi observado em animais experimentais anêmicos que a concentração de ferro não-heme no cérebro e o número de receptores de dopamina D2 encontravam-se diminuídos e, com isso, o processo de aprendizagem também ficou reduzido (Youdim, Bem Shachar e Tucker, citados por Sandstead, 2000).

Em humanos, a deficiência de ferro pode ser associada a prejuízos neurofisiológicos em bebês, crianças pré-escolares, escolares, adolescentes e até mesmo em adultos. Pollit (2000) sugere-nos que uma deficiência precoce de ferro pode causar danos permanentes à cognição, apesar de não haver pesquisas realmente conclusivas a este respeito (Sandstead e Lofgren, 2000; Penland, 2000; Pollit, 2000).

Quando a anemia por deficiência de ferro se torna mais severa, os defeitos se desenvolvem na estrutura e função dos tecidos epiteliais, especialmente da língua, unhas, boca e estômago. As mudanças bucais incluem atrofia das papilas linguais, queimadura, vermelhidão e, em casos severos, uma aparência completamente lisa, cerácea e brilhante da língua (glossite). A gastrite ocorre freqüentemente e pode resultar em acloridria. A anemia não tratada pode

resultar em alterações cardiovasculares e respiratórias que podem eventualmente provocar uma insuficiência cardíaca.

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

2.2 O ferro

2.2.1 Oligoelemento e função biológica

Os minerais de que o organismo tem necessidades inferiores a 50 miligramas diárias são chamados habitualmente de oligoelementos e compreendem: ferro, cobre, magnésio, zinco, iodo, flúor, cobalto, níquel e outros menos conhecidos no seu papel nutricional.

O ferro é, dentre todos os oligoelementos, o mineral mais estudado e descrito na história. É encontrado em todas as células dos seres vivos, tanto vegetais como animais e está distribuído por todos os alimentos. As principais fontes são as carnes e vísceras, mas está presente também em muitos alimentos de origem vegetal como leguminosas e nozes, grãos cereais, vagens e folhas (Mahan e Escott-Stump, 1998; Ferreira, 1993).

No homem, o ferro é encontrado em inúmeras proteínas como as flavoproteínas, hemoproteínas, participando como um componente essencial destas ou como cofator, principalmente em enzimas como os citocromos, que atuam na cadeia respiratória, fazendo a transferência de elétrons (Beard, Dawson e Piñero, 1996). As hemoproteínas mais importantes são: hemoglobina, mioglobina, citocromos, peroxidases e catalases. A maior parte do ferro, cerca de 65%, é integrante da hemoglobina, transportadora de oxigênio nos glóbulos

vermelhos. Do restante, 4% estão na mioglobina, 1% sob a forma de diversos compostos hêmicos que promovem a oxidação celular, 0,1% combinado à proteína transferrina no plasma sanguíneo e 15% a 30% armazenados, principalmente no fígado, sob a forma de ferritina (Guyton e Hall, 1997). O organismo humano adulto contém cerca de 3 a 5g de ferro, ou ainda, de 30 a 40 mg/kg de peso corporal, variando de acordo com a idade, o tipo de tecido específico e órgãos examinados. Outro tipo importante de proteína que contém ferro é a lactoferrina, uma glicoproteína que está presente em altas concentrações no leite materno e é a principal fonte de ferro para lactentes, auxiliando na prevenção da anemia no período de amamentação (British Nutrition Foundation, 1995).

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

O ferro também parece estar envolvido na função imunológica, participando de mecanismos microbicidas mediados pelo oxigênio e peroxidação de lipídeos de membrana e da resposta imunitária mediada por células. Estudos relatam ainda que pessoas com sideropenia apresentam uma deficiência na

produção de linfócitos T, menos reações cutâneas positivas aos antígenos comuns, diminuição da mieloperoxidase dos granulócitos e da atividade celular dos linfócitos T “killer”(OMS / FAO, 1991; British Nutrition Foundation, 1995).

2.2.2 Absorção e metabolismo

Os mecanismos precisos pelos quais o ferro é absorvido não estão completamente esclarecidos; tanto os mecanismos bioquímicos específicos quanto os de transporte e sua regulação. Porém, a maioria dos autores relata que a maior parte da absorção do ferro ocorre no duodeno e parte superior do jejuno, podendo o processo de absorção de ferro ser dividido em três estágios, (Figura 1), que são:

- 1 captação de ferro;
- 2 transporte intra-enterócito;
- 3 estoque e transferência extra-enterócito.

Durante a fase intestinal da digestão, quando ocorre a captação, o ferro se liga a sítios específicos da membrana da mucosa (Figura 1, passos I e II), é internalizado e pode tanto ser retido pelas células da mucosa (enterócitos) quanto transportado à membrana basolateral, onde é ligado à transferrina (Tf) no “pool” plasmático (Figura 1, passos III e V). O processo de absorção de ferro é controlado por fatores intraluminais, da mucosa e fatores somáticos. Os fatores intraluminais que afetam a quantidade de ferro disponível para absorção, tanto inibindo-a ou promovendo-a, são inúmeros como o pH intestinal, componentes da dieta, entre outros. Os fatores da mucosa incluem a quantidade de superfície de mucosa e a motilidade intestinal. Os fatores somáticos que influenciam a absorção incluem a eritropoiese e hipóxia (British Nutrition Foundation, 1995; Beard, Dawson e Piñero, 1996).

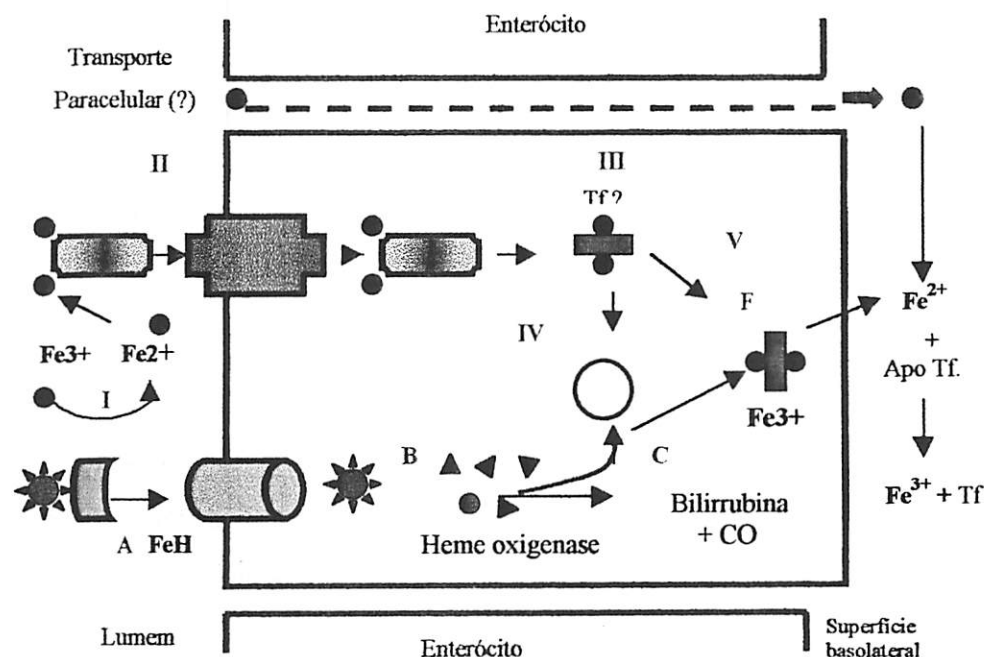


FIGURA 1 Possíveis vias de absorção de ferro no intestino humano. FeH = ferro heme, Apo Tf = apotransferrina, Tf = transferrina, CO = monóxido de carbono. Passos I a V= absorção do ferro não-heme e passos de A a C = absorção de ferro heme (Beard, Dawson e Piñero, 1996).

1) Captação do ferro do intestino para as células

Em níveis fisiológicos, a captação do ferro é mediada por uma série de receptores e proteínas carreadoras. Em níveis altos, o ferro parece ser absorvido passivamente por uma via paracelular. Durante a fase intestinal da digestão, o ferro está presente no lúmen, tanto como ferro heme (FeH) como quelatos de ferro não heme (FeNH). O FeH é absorvido por vias diferentes daquelas para o ferro iônico, pois ele não é tão afetado por fatores dietéticos. O grupamento heme ou é levado diretamente, por difusão, para o interior do enterócito ou pelo

receptor de membrana (Figura 1, passo A). Dentro da célula, o ferro é separado do heme pela enzima heme-oxigenase (Figura 1, passo B), entrando então para o “pool” celular comum, processando-se de maneira análoga ao FeNH (Figura 1 passo C). O receptor intestinal para o grupamento heme tem sido parcialmente caracterizado na membrana da borda em escova, indicando que a molécula do heme é absorvida intacta (British Nutrition Foundation, 1995; Beard, Dawson e Piñero, 1996; Mahan e Escott-Stump, 1998).

O FeNH, ao chegar no intestino, sofre a ação do meio alcalino e poderia ser completamente oxidado à forma férrica, se não houvessem fatores luminais que o mantivessem solúvel na luz intestinal. Moléculas ligantes de ferro (além dos fatores dietéticos como ácido ascórbico) estão presentes no lúmen, mas estas não são completamente descritas, sendo que muitas podem ser proteínas produzidas pelo estômago e fígado. Originalmente achava-se que a proteína carreadora para o FeNH fosse a Tf. O fígado secretaria quantidades moderadas de apotransferrina para a bile que, ao chegar ao duodeno, uniria-se ao ferro livre e a alguns compostos ferrosos, formando então uma nova molécula denominada Tf. Esta por sua vez, ligaria-se com receptores na membrana das células epiteliais intestinais e, por meio de pinocitose, seria absorvida pelas células epiteliais. Este ferro pode tanto ser armazenado na ferritina (Figura 1, passo IV) quanto passar para a superfície basolateral do enterócito e daí para a corrente sanguínea (Figura 1, passo V).

Esta teoria, porém, ainda não foi comprovada, pois estudos repetitivos têm falhado na identificação dos receptores de transferrina na membrana da borda em escova. Alguns resultados de estudos *in vitro* sugeriram que certos lipídeos de membrana poderiam também desenvolver um papel no transporte do ferro para dentro da membrana intestinal e indicaram que poderia haver mais de um caminho de transporte do Fe^{3+} (British Nutrition Foundation, 1995; Beard, Dawson e Piñero, 1996; Guyton e Hall, 1997).

A terceira via é a de captação para a lactoferrina (forma como o ferro está presente no leite materno). Existem nas células da mucosa intestinal receptores específicos para a lactoferrina, os quais têm sido isolados nas membranas da borda em escova. Mas, seu papel na absorção de ferro necessita de diversos esclarecimentos (British Nutrition Foundation, 1995).

Outras propostas para a absorção de ferro não heme, por meio da ligação com proteínas carreadoras, são descritas na literatura. Uma destas propostas é a de que outra proteína, a mucina (um tipo de muco viscoso), se ligaria ao ferro férrico, solubilizando-o, e tornando-o mais biodisponível para o organismo. Esta proteína também se liga ao zinco porém com menor afinidade. Experiências *in vitro* demonstraram que quelatos de ferro de histidina, ascorbato e frutose doam seu ferro para a mucina em pH neutro, o que pode ser verdadeiro em complexos *in vivo*. Porém, quelatos mais estáveis de ferro que inibem sua absorção *in vivo* como os com o carbonato e oxalato, não parecem doar o ferro à mucina *in vitro*. Pelo menos dois grupos de pesquisadores têm descrito ainda um outro tipo de proteína carreadora de ferro: uma glicoproteína de 160 kDa presente nas microvilosidades intestinais humanas, que podem ter um papel de facilitador do transporte de ferro. Esta glicoproteína é composta de 3 monômeros de 54 kDa idênticos. Outras proteínas ligantes de ferro de 35, 95 e 120 kDa têm sido isoladas de cultura de células epiteliais de ratos (Beard, Dawson e Piñero, 1996).

2 Transporte intra-enterócito

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

Esta proteína celular parece ser um tipo de transferrina. Uma candidata para este papel poderia ser a mobilferrina, uma proteína citosólica que foi isolada da mucosa duodenal de ratos e humanos e que se pode se ligar ao ferro. Ela é homóloga da calreticulina, uma proteína que pode também se ligar ao cálcio, cobre e zinco. Esta propriedade de se ligar a múltiplos metais poderia explicar a competição e as interações mútuas que ocorrem na absorção destes metais.

Em um modelo de regulação da absorção do ferro por “feedback”, uma ingestão adequada de ferro aumenta a quantidade do mesmo que é estocada no enterócito. Nesta proposta, a ferritina seria a depositária deste metal nas células da mucosa intestinal. O ferro que não é transferido para o plasma é, então, estocado nesta ferritina. Foi observado que, em indivíduos com deficiência de ferro, os níveis duodenais de ferritina-mRNA encontravam-se baixos. Após uma superdosagem de ferro, estes níveis de ferritina-mRNA ficavam altos, suportando a hipótese de que a ferritina desempenha um papel regulador sobre a mucosa intestinal, no processo de absorção (Beard, Dawson e Piñero, 1996).

3) Transferência extra-enterócito e estoque

A presença de receptores de transferrina na membrana basolateral das células intestinais e o seu demonstrado aumento durante a deficiência de ferro são fortes indícios do papel da transferrina na absorção de ferro. Os conhecimentos sobre a transferência do ferro para a circulação são muito limitados e quase nada se sabe a respeito de receptores intermediários que estão envolvidos na fase anterior à ligação do ferro à transferrina.

Muito do ferro captado nas células da mucosa é transferido para o sangue quase que imediatamente, mas, depois desta rápida fase de absorção, a transferência continua em uma razão muito mais baixa durante 24 horas. Este atraso na transferência pode ser devido à estocagem temporária de ferro na

célula como ferritina. Nem todo o ferro que entra na mucosa do trato gastrointestinal é transferido para o plasma. Isso pode ser devido às perdas por espoliação das células do epitélio intestinal com conseqüente descarga de ferro na forma de ferritina (British Nutrition Foundation, 1995).

A absorção de ferro correlaciona-se de forma inversamente proporcional com o “status” de ferro individual. Muitos estudos têm demonstrado que a deficiência de ferro é o mais potente indutor somático da absorção de ferro. Em condições normais, a taxa de absorção em humanos adultos é de 5% a 15% do ferro dos alimentos. Já em condições de deficiência de ferro, esta taxa pode chegar a 50%. Os mecanismos para esta indução são em grande parte desconhecidos. Com relação ao FeH, um fator que possivelmente contribua para o aumento de sua absorção, é a heme oxigenase intestinal que é ativada pela deficiência somática de ferro. Em um experimento com humanos, esta enzima não foi influenciada pela administração oral de hemoglobina, mas foi influenciada pela deficiência de ferro. Sua distribuição no intestino era idêntica às áreas de absorção máxima de FeH (Beard, Dawson e Piñero, 1996; Mahan e Escott-Stump, 1998).

Quando o organismo se torna saturado de ferro de modo que toda a apoferritina das áreas de estoque de ferro já esteja combinada com o mesmo, a velocidade de absorção deste mineral, pelas células da borda em escova, diminui consideravelmente (Guyton e Hall, 1997). A hemoglobina e a ferritina sérica têm papéis aparentemente limitados na sinalização para os enterócitos sobre a necessidade de se absorver ferro. Tem sido sugerido que a presença no plasma do complexo de transferrina+ferro (Tf+Fe) permitiria ao enterócito monitorar o “status” de ferro corporal e regular sua absorção (receptores de Tf são encontrados nos enterócitos, somente na superfície basolateral). A exposição da célula da mucosa intestinal a baixas quantidades de Tf+Fe sinalizaria à mesma sobre a necessidade de fazer entrar mais ferro para o corpo (Beard, Dawson e

Piñero, 1996). Quando toda a apoferritina do corpo se liga com o ferro, torna-se difícil para a transferrina liberar ferro para os tecidos. Como consequência, a transferrina, que normalmente está apenas um terço saturada com o ferro, torna-se completamente saturada e não aceita ferro suplementar das células mucosas. Por outro lado, quando o organismo tem depósitos excessivos de ferro, o fígado diminui a velocidade de formação de apotransferrina e, portanto, reduz a concentração desta molécula no plasma e na bile (Guyton e Hall, 1997).

Outro mecanismo de controle da absorção de ferro decorre de estados de hipóxia e pela produção de eritrócitos (eritropoiese). Qualquer condição que cause a diminuição da quantidade de oxigênio transportada para os tecidos normalmente aumenta a velocidade de produção das hemácias. Assim, quando uma pessoa se torna extremamente anêmica em virtude de uma hemorragia ou outra condição, a medula óssea começa imediatamente a produzir grandes quantidades de hemácias. O principal fator que estimula a produção de hemácias é um hormônio circulante chamado eritropoetina, uma glicoproteína. Na ausência de eritropoetina, a hipóxia tem pouco ou nenhum efeito sobre a estimulação da produção de hemácias. No outro extremo, quando grandes quantidades de eritropoetina são produzidas e se há ferro abundante e disponível e outros nutrientes necessários, a velocidade de produção de hemácias aumenta dez vezes ou mais em relação ao normal.

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

Após a absorção, este ferro captado nas vilosidades intestinais chega enfim à membrana basolateral do enterócito e é finalmente liberado para o plasma sanguíneo. Aí combina-se com a apotransferrina para formar a

transferrina (Tf), que é então transportada no plasma até os tecidos corporais, onde liberará o ferro que poderá ser estocado ou utilizado pelas células. A Tf não somente é responsável pela liberação do ferro da superfície basolateral dos enterócitos para os tecidos, mas também pela redistribuição do ferro aos vários compartimentos do corpo e pela proteção ao ferro durante a filtração glomerular (Beard, Dawson e Piñero, 1996).

Quando o ferro está presente em grandes quantidades no sangue, ele é armazenado. Cerca de 200 a 1.500 mg de ferro podem ser armazenados no organismo, como ferritina e hemossiderina, duas proteínas especializadas na estocagem deste mineral. Cerca de 30% deste ferro de reserva se encontram no fígado, 30% na medula óssea e o restante no baço e músculos. Quantidades mínimas de ferritina circulante, detectáveis pelo uso de técnicas de imunoensaio sensitivas, estão correlacionadas proximamente com os estoques de ferro do organismo. A medida da ferritina sérica é uma ferramenta inestimável para a avaliação do estado clínico do ferro (Mahan e Escott-Stump, 1998).

Quando há uma ingestão alta de ferro pelo organismo, ou quando transfusões sanguíneas são feitas com frequência e a ferritina acumula cerca de 4000 átomos de ferro por molécula, esta é degradada por proteases lisossomais à forma de hemossiderina. Esta é uma proteína similar à ferritina, mas que contém mais ferro e é muito insolúvel (Beard, Dawson e Piñero, 1996; Mahan e Escott-Stump, 1998).

A vida média das hemácias é de 120 dias, depois dos quais elas são destruídas. A destruição normal da hemoglobina das hemácias libera, por dia, 90 miligramas de ferro, que são reaproveitadas pelo organismo quase que totalmente (Ferreira, 1993).

2.2.3 Necessidades e recomendações

As necessidades de ferro podem ser determinadas em termos da quantidade que se deve absorver para repor as perdas do organismo e que seja suficiente para cobrir o aumento normal da necessidade durante o crescimento e a gestação. A Tabela 1 apresenta essas necessidades de absorção de ferro.

Em homens adultos, a perda de ferro se deve principalmente à esfoliação das células, sendo que cerca de dois terços desta perda se produz no trato gastrointestinal e o resto na pele. As perdas de ferro na urina e transpiração são insignificantes. Tem-se calculado que estas perdas basais sejam de 0,9 mg/dia (14 µg/kg de peso corporal/dia) em um homem de 65 kg de peso (Tabela 1). Ainda que não se conheça com exatidão o grau em que as perdas basais de ferro diferem de uma pessoa para outra, o coeficiente de variação parece ser da ordem de 15% entre indivíduos são normais. Alguns estudos têm demonstrado que estas perdas aumentam em caso de sobrecarga de ferro e diminuem em casos de anemia.

No caso das mulheres as cifras relativas sobre as perdas basais têm derivado da extrapolação dos dados isotópicos dos homens sobre a base de um peso corporal de 55 kg (0,8 mg/dia). Nas mulheres em idade fértil, as perdas menstruais se acrescentam às basais. Mas, ainda assim são muito difíceis de se calcular, pela infinidade de diferenças destas perdas entre as mulheres, pois, apesar de as perdas se situarem entre 25 e 30 ml de sangue por mês, a frequência com que cada uma fica menstruada é muito diferente. Quando se utiliza algum meio contraceptivo, isso também influi de maneira notável na perda de sangue na menstruação: alguns contraceptivos orais reduzem o fluxo menstrual em 50%, enquanto que os dispositivos intrauterinos podem aumentar a hemorragia até em 100%.

Durante a gestação, as mulheres grávidas necessitam cobrir, além das suas necessidades, as necessidades do feto e da placenta. Aceita-se que as

TABELA 1 – Necessidades de ferro absorvido por indivíduos, nas diferentes faixas etárias.

Grupo	Idade (anos)	Necessidades para o		Perdas		Necessidade total		
		Peso corporal médio (kg)	crescimento Mediana (mg/d) ¹	Perdas basais Mediana ² (mg/d)	menstruais Mediana (mg/d)	Mediana (mg/d)	Percentil 95 (mg/d) ³	Percentil 95 (µg/kg/d)
Crianças	0,25 – 1	8	0,56	0,21	-	0,77	0,96	120
	1 – 2	11	0,24	0,25	-	0,49	0,61	56
	2 – 6	16	0,22	0,34	-	0,56	0,70	44
	6 – 12	29	0,38	0,56	-	0,94	1,17	40
Rapazes	12 – 16	53	0,66	0,80	-	1,46	1,82	34
Moças	12 – 16	51	0,36	0,79	0,47	1,62	2,02	40
Homens adultos		65	-	0,91	-	0,91	1,14	18
Mulheres adultas								
Idade menstrual		55	-	0,77	0,48	1,25	2,38 ³	43
Pós-menopausa		55	-	0,77	-	0,77	0,96	18
Durante a lactação		55	-	1,05 ⁴	-	1,05	1,31	24

Notas: ¹ Não incluem as quantidades necessárias para aumentar as reservas de ferro.

² A perda basal se calcula sobre a base da superfície corporal, utilizando-se um valor de 0,91 mg/dia para um varão adulto de 65 kg de peso com uma superfície corporal de 1,73m².

³ Se supõe um coeficiente de variação de 15% para a necessidade total. No percentil 95, se estima como: a mediana + (1,65 x 0,15 x mediana).

⁴ Este valor compreende uma perda basal de 0,77 mais as perdas no leite.

⁵ Nas perdas menstruais, devido à sua distribuição sumamente irregular, é o fator predominante para estimar o percentil 95 das perdas totais. O cálculo se baseia nos valores observados do percentil 95 no que se refere à perda menstrual e no valor mediano da perda basal, devido à baixíssima probabilidade de que um mesmo indivíduo tenha perdas basais como menstruais no percentil 95. Fonte: OMS / FAO, 1991

necessidades de ferro do feto começam no início do segundo trimestre e, portanto, as da mãe aumentam de 0,8 mg/dia durante o primeiro trimestre, para 6,3 mg/dia durante o terceiro trimestre. As necessidades do segundo e terceiro trimestre não são supridas somente com o ferro dietético, ainda que este seja altamente biodisponível, a menos que se considere que antes da gravidez a mulher tivesse reservas de ferro da ordem de 500 mg. Recomenda-se, portanto, a administração de suplementos de ferro para o incremento previsto da massa de hemoglobina da mãe.

Após o parto, a mãe, apesar de não estar menstruando ou alimentando o feto intra-uterinamente, continua com suas necessidades de ferro relativamente aumentadas devido à secreção diária de 0,3 mg de ferro no leite materno. As necessidades médias de ferro para um período de lactação de 6 meses se calcula como sendo de 1,1 mg/dia (Tabela 1).

Pesquisadores na atualidade têm dado uma atenção especial às necessidades de ferro das adolescentes, devido aos inúmeros fatores que potencializam a anemia nesta fase: como o crescimento acelerado, que se alia aos modismos alimentares; a menarca; o início da fase reprodutiva e conseqüente risco de gravidez precoce. Muitos destes autores sugerem a criação de programas de combate à anemia na adolescência. Em algumas escolas do Peru, um programa de suplementação de ferro para garotas adolescentes com baixos níveis de ferro no organismo mostrou-se eficiente para a redução da anemia, e também na aceitabilidade do composto à base de sulfato ferroso (Beard, 2000; Lynch, 2000; Kanani e Poojara, 2000; Zavaleta, Respicio e Garcia, 2000).

Já em lactentes e crianças, as necessidades de ferro por kg de peso corporal chegam a ser muito maiores que nos adultos e mulheres em pós-menopausa (Tabela 1).

2.3 Biodisponibilidade de ferro

Muitas vezes, a concentração de um nutriente no alimento não indica necessariamente seu real valor nutritivo e este alimento não pode ser considerado, portanto, fonte do nutriente em questão. Foi devido a este fato, que se desenvolveu o conceito da biodisponibilidade de nutrientes nos alimentos.

O termo disponibilidade biológica ou biodisponibilidade pode ser definido como “a proporção de um nutriente no alimento ingerido que está disponível para a utilização em processos metabólicos” (Miller, 1996). De uma forma mais ampla, define-se como “a medida do uso em potencial de um mineral, ou outro nutriente em geral ou droga, por um organismo; e é, portanto, a proporção de um nutriente do alimento que é absorvida e utilizada. Por utilização entende-se o processo de transporte, assimilação celular e conversão em forma(s) biologicamente ativa(s)” (Bianchi, Silva e Oliveira, 1992). Dessa forma, o conceito de biodisponibilidade fica mais abrangente do que o de absorção somente.

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

A deficiência, pelo menos para o ferro, quase sempre não é somente causada pela baixa ingestão deste mineral na dieta, mas também por uma série de fatores que afetam a sua biodisponibilidade nos alimentos. Exemplo disso são os muitos alimentos que são aparentemente boas fontes de ferro, mas são limitados pela sua disponibilidade biológica; que se dá em função de sua forma química e da presença de itens alimentares que promovam ou inibam sua absorção. A biodisponibilidade do ferro é ainda influenciada por diversos fatores (que também afetam a absorção de minerais, como cálcio, zinco, cobre e magnésio), como as necessidades nutricionais individuais, a adequação das

secreções intestinais, a integridade e bom funcionamento de todo o trato gastrointestinal, os estados fisiológicos como o de crescimento e gravidez e doenças nutricionais (Latunde-Dada e Neale, 1986; De Angelis, 1999). Dentre estes fatores, os componentes alimentares são de particular interesse, pois desempenham um papel (de facilitadores da absorção ou de inibidores) tanto no processamento que este alimento sofrerá antes de ser ingerido, quanto na digestão. Quando muitas interações intraluminais acontecem, tais como a adsorção de minerais para macronutrientes (como as proteínas) e a ligação de minerais à fibras, fitatos, ácido ascórbico, entre outros componentes dietéticos.

Para que a absorção seja ótima, é necessário que os minerais e elementos traço estejam presentes na parte intraluminal na forma solúvel. A maioria dos fatores dietéticos que apresentam influência na disponibilidade destes nutrientes possui uma ação direta ou indireta sobre a solubilidade dos mesmos. Na maioria dos casos, isto envolve íons de metal, tais como cálcio, magnésio, cobre, ferro e zinco já citados, que possuem a propriedade de se ligar, como cátions, a vários componentes presentes na dieta (Latunde-Dada e Neale, 1986; De Angelis, 1999).

A forma do ferro alimentar também pode afetar sua biodisponibilidade. Baseando-se no mecanismo de absorção existem duas formas de ferro: o heme (FeH) e o não-heme (FeNH). 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. O FeH é solúvel no meio alcalino da luz intestinal, sendo facilmente absorvido, como um complexo de ferro-porfirina intacto. É interessante o fato de que, embora existam transportadores específicos para o ferro heme na mucosa dos ratos, estes não absorvem tão eficientemente o ferro heme quanto os humanos (Bianchi, Silva e Oliveira, 1992; Beard, Dawson e Piñero, 1996).

A absorção do FeH é alta: cerca de 15% no indivíduo normal e 35% naqueles com baixa reserva de ferro. Dado que a absorção de FeH é relativamente independente da combinação com os alimentos e está só ligeiramente influenciada pelo estado nutricional do indivíduo, sua contribuição na dieta pode ser estimada medindo-se quimicamente seu conteúdo na dieta, supondo uma absorção de 25% (OMS/FAO, 1991; Bianchi, Silva e Oliveira, 1992). Já a absorção do FeNH é muito menor que a do heme: cerca de 1% à 5%, dependendo muito de fatores químicos, como o estado de oxidação, a solubilidade, o pH do meio e, ainda, dos componentes dietéticos.

Na água, bem como nos alimentos, observam-se os estados de oxidação do ferro: Fe^{2+} (ferroso) e Fe^{3+} (férico), que são os mais estáveis nestes meios. A maior solubilidade dos sais ferrosos (Fe^{2+}) sobre os sais férricos (Fe^{3+}) é, em parte, responsável pela maior biodisponibilidade dos íons ferrosos no trato gastrointestinal que os íons férricos (Bianchi, Silva e Oliveira, 1992).

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

A biodisponibilidade do FeNH depende ainda do meio químico gerado no intestino pelos alimentos e a proporção dos fatores dietéticos, que podem inibir ou facilitar sua absorção (Bianchi, Silva e Oliveira, 1992).

2.3.1 Promotores da absorção

A absorção de ferro, como já visto, não ocorre na boca ou no esôfago, ou no estômago. Entretanto, o estômago contribui com o ácido clorídrico, que não só ajuda a remover o ferro – que por ventura estiver ligado a uma proteína, por meio da desnaturação – mas ajuda a solubilizá-lo, promovendo a redução deste mineral do estado férrico (pouco solúvel) para o estado ferroso (mais solúvel) (Beard, Dawson e Piñero, 1996). Experiências feitas com ferro radioativo em indivíduos carentes mostraram que a absorção do ferro ferroso fez-se numa quantidade que chegava a ser quinze vezes superior à do ferro férrico (Moore, citado por Ferreira, 1993). As secreções gástricas contribuem, ainda, com a produção de uma substância chamada *fator intrínseco* que aumenta a absorção do ferro ao se ligar ao mesmo (Mahan e Escott-Stump, 1998).

Os dois maiores promotores dietéticos da biodisponibilidade de ferro conhecidos são o ácido ascórbico e a carne. O ácido ascórbico, como um agente redutor, mantém o ferro da dieta no estado ferroso, que é mais solúvel. Essa molécula de ferro-ascorbato quelato se mantém solúvel no pH alto do intestino delgado proximal. A absorção do ferro aumenta de 3,7% para 10,4% em refeições com pão, ovo e chá depois da adição de 40 a 50 mg de ácido ascórbico (Bianchi, Silva e Dutra de Oliveira, 1992). Pessoas com baixas reservas de ferro e ingestão diária de ácido ascórbico menor que 25mg e de carne, aves, pescados e mariscos menor que 30g, tiveram uma baixa biodisponibilidade de ferro, cerca de 5%. No entanto, se mais de 75 mg de ácido ascórbico ou mais de 90g de carne, ave ou peixe estão presentes na dieta, a biodisponibilidade chegava em torno dos 20%.

Com relação às carnes, elas não são importantes somente pelo fornecimento do FeH, mas também porque aumentam de duas a quatro vezes a absorção do FeNH. Quando menos que 10% das calorias da dieta de uma mulher adulta se constituem de proteína de origem animal, recomenda-se a ingestão de

28 mg/dia de ferro. Quando mais de 25% das calorias são fornecidas por proteínas de origem animal, a ingestão recomendada diminui para 14 mg/dia. Essa proteína animal se refere a tecidos animais, como o porco, cordeiro, aves, peixes e bovinos, pois com proteínas dos ovos, leite e queijo não se observou aumento na absorção de ferro (Cook e Monsen, 1976). O mecanismo exato pelo qual os tecidos animais facilitam a absorção do FeNH é ainda desconhecido, mas tem sido proposto que aminoácidos livres na luz intestinal, como a histidina, lisina e cisteína, aumentam a absorção da espécie férrica, por formarem quelatos solúveis com o ferro (Bianchi, Silva e Oliveira, 1992).

Outros fatores que também contribuem para esta solubilização do FeNH são alguns açúcares (como a frutose) e os aminoácidos sulfurados, que formam complexos com o mesmo, que permanecem solúveis no pH da luz intestinal, aumentando assim a absorção deste oligoelemento (Mahan e Escott-Stump, 1998). Outros ácidos orgânicos que também promovem a absorção de ferro incluem o cítrico, málico, láctico, succínico e tartárico (Latunde-Dada e Neale, 1986).

O FeH aparentemente é afetado positivamente somente por proteínas animais, que facilitam a absorção e pelo cálcio, que parece inibir a mesma. Esta inibição provocada pelo cálcio é ainda controvertida. Alguns pesquisadores encontraram inibição da absorção de ferro quando grandes quantidades de cálcio eram ingeridas, enquanto outros não observaram esta inibição (Mahan e Escott-Stump, 1998; Wauben e Atkinson, 1999).

2.3.2 Inibidores dietéticos da absorção de ferro

Alguns componentes dos alimentos podem inibir ou diminuir a absorção do ferro por formarem precipitados, quelatos insolúveis ou macromoléculas de baixa biodisponibilidade. Outros chegam a competir com os sítios de ligação das células da mucosa intestinal para a absorção; ou mesmo com as proteínas

ligantes presentes na luz intestinal que o tornariam mais solúvel (Clydesdale, 1983).

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

Os polifenóis, incluindo os taninos e fitatos, dificultam a absorção do ferro. O grupo funcional dos polifenóis, um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila, foi identificado até agora em cerca de 5.000 componentes diferentes, em tecidos vegetais. Devido a essa imensa variedade estrutural, estes diferentes compostos podem se ligar mais ou menos fortemente ao ferro no lúmen intestinal e influenciar a absorção de ferro de diversos modos.

Os polifenóis alimentares podem ser divididos em três grupos principais: os ácidos fenólicos, os flavonóides e os produtos da complicada polimerização dos flavonóides sozinhos ou da combinação dos flavonóides e ácidos fenólicos. Em um experimento realizado com diversas bebidas com alto conteúdo de polifenóis (como cacau, café, chá preto, chá de menta, chá de camomila e de flor de lima) demonstrou-se que estes são potentes inibidores da absorção de ferro, em humanos. Comparado a um controle feito com água, bebidas contendo 20 a 50 mg de polifenóis reduziram a absorção de ferro de uma refeição à base de pães em 50 a 70%. Quando este conteúdo aumentava para 100 a 400 mg de polifenóis totais, a absorção reduziu de 60 a 90%. A inibição da absorção do ferro foi em ordem decrescente: chá preto > chá de hortelã > cacau > flor de lima > camomila. Observaram ainda que a adição de leite ao café ou ao chá teve pouca ou nenhuma influência no seu efeito inibitório sobre a absorção do ferro (Hurrell, Reddy e Cook, 1998).

Os taninos, presentes no chá e no café são citados em diversos experimentos como inibidores da absorção do ferro. Um dos mecanismos

propostos para este efeito inibidor do tanino seria o fato de que o tanato presente no chá formaria um complexo insolúvel com o ferro, inviabilizando a sua absorção (Disler, Torrance, Sayers et al., 1975, citados por Latunde-Dada e Neale, 1986). Outros experimentos demonstraram que o café, que contém uma alta concentração de taninos, reduziram cerca de 33% da absorção do ferro contido na carne de hambúrguer. Já com uma xícara de chá preto, essa redução foi de aproximadamente 64% (Morck, Lynch e Cook, 1983). Os taninos presentes em feijões (*Phaseolus vulgaris* e *Phaseolus acutifolius*) também são citados como os maiores fatores inibidores da solubilidade do ferro (Benitez, Grijalva e Valencia, 1994).

O ácido oxálico era, a princípio, descrito como potente bloqueador da biodisponibilidade do ferro, mas alguns estudos têm demonstrado um efeito neutro e até positivo na absorção deste mineral tanto em ratos quanto em humanos (Hallberg, 1981 e Gordon e Chao, 1984; citados por Latunde-Dada e Neale, 1986).

Com relação às fibras e seus componentes, os resultados são diversos. Reinold, Garcia e Garzon (1981) mostraram que componentes da fibra do trigo e do milho ligavam-se ao ferro *in vitro*. Entretanto, a adição de farelo de trigo a pães com a mesma quantidade de fitato não teve nenhum efeito sobre a absorção do ferro em ratos (Latunde-Dada e Neale, 1986). Já com o sorgo, Gillooly et al. (1984) concluíram que a celulose, a pectina e a goma guar não inibiram a absorção do ferro e sugeriram que a hemicelulose e a lignina teriam um efeito inibitório na absorção do ferro e de outros minerais como o zinco.

O efeito inibitório do ácido fítico é ainda muito contraditório. Em 1976, Morris e Ellis demonstraram que o fitato monoférrico complexado ao ferro permanece solúvel e, portanto, biodisponível. Este tipo de fitato corresponde a cerca de 60% do ferro no trigo. Quando, porém, se associa a mais moléculas de ferro, como o caso do fitato férrico (com 3 ou 4 moles de ferro/molécula), torna-

se insolúvel e, portanto, com baixa biodisponibilidade. Em outro estudo, os mesmos autores descreveram que há razões para acreditar que os fitatos inibam a absorção já que ambos fitato diférrico e tetraférrico foram pobremente biodisponíveis (Morris e Ellis, 1976) e estas são as formas encontradas em vários vegetais como no gérmem de trigo e nas lentilhas (Gillooly et al., 1984).

Outras substâncias que podem diminuir a biodisponibilidade do ferro incluem aditivos e quelantes sintéticos como o alginato de sódio em sorvetes, marmelada e maionese, a tetraciclina, o EDTA (etileno diamina tetraacetato) entre outros (Latunde-Dada e Neale, 1986).

A absorção de ferro também é afetada por interações com outros íons metálicos ou minerais. Geralmente, grandes quantidades de cátions divalentes na dieta inibem a absorção de ferro, assim como a absorção de íons metais ou minerais é afetada do mesmo modo pelo ferro. A competição entre cátions similares na captação das células da mucosa intestinal tem sido descrita entre cobre, zinco, manganês e cobalto, os mecanismos para esta interação não são ainda esclarecidos. No caso do ferro, pesquisadores afirmam que o cálcio reduz a sua absorção, como é o caso de Hallberg et al.(1991), que descreveu uma acentuada redução da absorção do ferro de trigo na presença de cálcio contudo, Turlund et al.(1990) não encontraram nenhum efeito do leite na absorção do ferro de dietas básicas de cereais (citados pela British Nutrition Foundation, 1995). Wauben e Atkinson (1999) também não detectaram o comprometimento do “status” de ferro, quando se ofereciam dietas com altas quantidades de cálcio.

2.4 A soja

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma planta pertencente à família das leguminosas, importante fonte de alimento para homens e animais, com elevado valor nutricional na forma de óleo e proteína. Possui grande facilidade de cultivo e farta aplicabilidade de seus produtos (Sediyama, 1989; Morais e Silva, 1996).

Constitui atualmente um dos produtos agrícolas de maior importância na economia brasileira, ocupando lugar de destaque na pauta de exportação do país. Hoje, o Brasil é o segundo produtor mundial de soja, sendo responsável pela produção de mais de 30 milhões de toneladas por safra (EMBRAPA SOJA, 2000).

2.4.1 A soja como alimento

A soja e seus derivados têm utilização e aceitação diferentes nas diversas regiões. No oriente, é consumida de forma natural e é muito apreciada; já no ocidente, é consumida principalmente na forma industrializada (Tabela 2) e indiretamente na carne de animais nutridos com ração à base de soja. Apesar de não ser muito bem aceita, a utilização de seus produtos tem aumentado, como é o caso do uso do shoyu (molho para tempero) e do tofu (uma espécie de “ricota” de soja), nos Estados Unidos (Morais e Silva, 1996).

A soja é freqüentemente associada a outros alimentos para, dentre outros fins, aumentar o valor nutricional de farinhas como a de trigo, milho e mandioca e substituir parcialmente fontes protéicas mais caras como as carnes. Tem indicação na alimentação normal do homem bem nutrido e no tratamento da desnutrição. Seu valor em regiões pobres é muito grande, podendo ser empregada como alimento natural ou fortificando produtos, melhorando seu valor nutritivo e suas propriedades funcionais (Cândido e Campos, 1995; Moraes e Silva, 1996).

Apesar de tantas qualidades, apenas uma pequena porcentagem da soja é utilizada na alimentação humana. Segundo Traina e Breene (1994), cerca de 95% da soja é utilizada na produção de óleo e farelo (este último usado para alimentação animal). O restante é utilizado na forma de farinha de soja desengordurada, flocos, concentrados e isolados (Tabela 2).

Tabela 2 Relação de alguns produtos contendo soja, encontrados no mercado.

Produto	Denominação do produto e fabricante
"Leites" em pó	Novo milk (Olvebra S/A), Solein (Latic. Mococa),
	Proteilac 40 (Sabrina Prod. Alimentícios) , Soja I (Zei Ind. & Com. Prod. Alim.), Extrato de soja (Natucenter)
"Leites" líquidos	Vital (Inst. Tec. de Alimentos), Mamy (Agro-Nippo), Soyallac (New Life).
Produtos protéicos	Proteicon (New Life), Proteína vegetal (Natucenter),
	Cremogema (Sanco Alimentícios), Composto para milk-shake e para mingau (Toddy-Suconasa).
Molhos	Hinomoto (Fukuhara- Honda), Sakura (Sakura Nakata), Shoyu (Kinono Prod. Alimentícios), Soy sauce (Jimmi)
	Tofu, carne vegetal (Superbom), hamburger (Findus), farinha e
Outros	flocos de soja (Noval Produtos Alimentícios LTDA), entre outros

Fonte: Moraes e Silva (1996).

A Tabela 3 apresenta a composição química da soja e de alguns de seus produtos. O grão de soja apresenta valores em torno de 35 a 40% de proteína, variando de acordo com a cultivar e esta é de boa qualidade, apresentando apenas os aminoácidos sulfurados como limitantes (metionina e cisteína). Essa qualidade fez com que se buscasse, na década de 1950, o desenvolvimento de produtos protéicos de soja e foi, então, que surgiram a farinha de soja, o concentrado protéico de soja e mais recentemente o isolado protéico de soja, usados, a princípio, por suas propriedades funcionais, e atualmente pelo seu valor nutritivo (Slavin, 1991; Bressani, 1981; citados por Milagres, 1996).

Milagres (1996), testando formulados (extratos solúveis) à base de soja, obteve resultados que indicavam que a qualidade protéica destes se assemelhava à da caseína, tendo a vantagem de serem melhor tolerados por pacientes desnutridos. No mesmo experimento, a administração do extrato solúvel de soja

desengordurado (via enteral), conseguiu obter a recuperação nutricional de pacientes com câncer no trato digestivo.

Tabela 3 Composição química média da soja e de alguns dos seus produtos

Soja e produtos	Proteína (%)	Gordura (%)	Carboidrato (%)	Fibra (%)	Cinza (%)
Grão total	41,0	20,0	31,1	2,3	5,4
Farinha	50,0	1,0	39,5	3,5	6,0
Concentrado protéico	70,0	1,0	19,5	4,5	5,0
Isolado protéico	96,0	0,1	0,3	0,1	3,5

Fonte: Bressani (1981)

Além dessa proteína de boa qualidade, a soja fornece ainda grande quantidade de óleo rico em ácidos graxos polinsaturados ω -6 (linoléico e linolênico). Sabe-se que a ingestão de maiores doses de ácidos graxos insaturados em relação aos saturados (presentes em produtos de origem animal, como as carnes) pode diminuir os níveis de colesterol plasmático. Isso produz um efeito benéfico ao organismo, já que a hipercolesterolemia é considerada um dos fatores de risco para o desenvolvimento de aterosclerose. Atualmente estudos têm sido desenvolvidos com algumas substâncias presentes em concentrações importantes na soja – os estrógenos não esteróides naturais – que parecem possuir efeitos positivos na prevenção e tratamento do câncer. Eles se classificam em três categorias: isoflavonóides, lactonas e cumestanos. São compostos difenólicos com atividade fitoestrogênica e efeitos biológicos importantes na prevenção e desenvolvimento de várias patologias (Posada, 1998).

A biodisponibilidade e o metabolismo das isoflavonas de soja, por exemplo, foram estudados por Xu e colaboradores (1994), citados por Cândido e

Campos, (1995). Estas pesquisas demonstraram que a menor incidência de câncer de mama e de sintomas adversos na menopausa em mulheres orientais pode estar associada ao consumo de soja em sua dieta. Estes compostos possuem uma atividade fitoestrogênica e, apesar de muito ainda ter de ser comprovado, diversas investigações dão sinal de que os sujeitos com amplo consumo de produtos de origem vegetal, assim como de soja, têm menor incidência de câncer de cólon, próstata, mama, endométrio e cervix.

O consumo de isoflavonóides se relaciona com a redução da concentração plasmática de lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL), assim como com um efeito no aumento da concentração de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (Posada, 1998). Caragay (1991), relacionando as substâncias mais pesquisadas e potencialmente envolvidas na prevenção do câncer e os alimentos que as continham, citou os seguintes componentes da soja como preventivos: ácido fítico, flavonóides, carotenóides, cumarinas, triterpenos e ácidos fenólicos. A *American Association for Cancer Research* (1994) citada por Cândido e Campos (1995), relata, mais especificamente, que o ácido fítico ou hexafosfato de inositol, encontrado também na soja, é um inibidor de carcinoma de mama. Apesar deste composto ser considerado atualmente como um fator antinutricional (por se quelar a minerais presentes na luz intestinal, tornando-se indisponível para a absorção), começa-se a discutir-se no meio de pesquisa se a retirada completa deste componente da dieta seria realmente vantajosa.

Em termos de vitaminas, a soja é deficiente em muitas delas. Quando verde, é boa fonte de riboflavina, niacina e ácido ascórbico. Quando madura, é fonte de vitaminas E, K, tiamina, riboflavina e ácido fólico, pobre em vitamina A e não contém vitaminas D e B12. É rica em minerais como magnésio, fósforo, ferro, cobre, zinco e potássio, porém, a utilização desses minerais pode ser

prejudicada devido a fatores antinutricionais como os taninos (Morais e Silva, 1996; Panizzi e Mandarino, citados por Monteiro, 2000).

Smith e Circle (1978) observaram que a soja aumenta o requerimento para vitamina B12, D2 e D3, cálcio, fósforo e zinco, por ser uma fonte pobre destes nutrientes e também pela presença de fatores complexantes destes nutrientes como os taninos (citados acima) e o ácido fítico. Mas, em vista das qualidades da soja, principalmente seu alto teor de proteína de baixo custo para a dieta se comparada à carne, muito tem sido feito para tentar diminuir algumas limitações deste grão. É o caso do uso da proteína de soja na dieta de crianças, enriquecida de aminoácidos sulfurados, que são seus aminoácidos limitantes (Fomon, 1959, citado por Moraes e Silva, 1996) e o enriquecimento com zinco, selênio e magnésio, minerais muito afetados em sua biodisponibilidade na soja, em dietas enterais (Milagres, 1996).

Os fatores antinutricionais mais estudados na soja incluem os inibidores de proteases, lectinas, oligossacarídeos flatulentos, fitatos, goitrógenos, taninos, fitoestrógenos e saponinas. Os inibidores de tripsina e quimotripsina (o de Kunitz e o de Bowman-Birk) exercem seus efeitos antinutricionais por impedir a ação das enzimas responsáveis pela digestão protéica, impedindo a utilização deste nutriente, causando hipertrofia e hiperplasia pancreática, resultando em inibição do crescimento. Já as lectinas, por possuírem a habilidade de se ligar a receptores glicoprotéicos de membrana das células epiteliais, acabam por danificar estas células, interferindo na absorção de nutrientes.

Felizmente, estes antinutrientes são termolábeis, podendo ser destruídos pelo calor (Liener, 1994; Viola, 1999). Douglas, Parsons e Hymowitz (1999) utilizando farelos de soja de linhagens sem lectina e linhagens sem o inibidor de tripsina (Kunitz), tanto crus quanto processados termicamente, no ganho de peso e digestibilidade verdadeira de frangos, demonstraram que o valor nutricional da soja crua sem lectina é superior ao da soja crua convencional, mas é inferior ao

da soja crua sem inibidor de Kunitz e ao da soja convencional tratada térmicamente.

Monteiro (2000), utilizando uma soja modificada geneticamente para ser isenta de inibidor de Kunitz, constatou que a digestibilidade da proteína desta cultivar foi melhor que a da soja convencional, encontrando valores próximos ao da caseína. Já os outros fatores são considerados de menor significância quanto ao seu efeito antinutricional, apesar de serem relativamente estáveis ao calor (Liener, 1994).

2.4.2 A biodisponibilidade de ferro na soja

Apesar de o ferro dos alimentos de origem animal ser melhor absorvido do que o de alimentos de origem vegetal, são estes últimos que contribuem com 90% da ingestão dietética deste mineral nos países desenvolvidos e com até 100% nos países em desenvolvimento. Os alimentos de origem animal são caros e não estão acessíveis à maioria da população, representando apenas de 5% a 10% do ferro total de uma refeição, principalmente em populações pobres (Bianchi, Silva e Oliveira, 1992).

A soja apresenta, entre os produtos de origem vegetal, uma elevada quantidade de ferro (9 a 13mg/100g). Layrisse et al. (1969), comparando a absorção de ferro de vários alimentos vegetais em pessoas normais e deficientes, observaram uma variação da absorção de 1% no arroz, 3% no milho e feijão preto, 4% no alface, 5% no trigo e de 6% na soja. Nos produtos de origem animal, esta variação da absorção de ferro variou de 7% na ferritina purificada, 11% no peixe, 13% no fígado, e 22% no músculo de vitela. Esta elevada biodisponibilidade de ferro na soja, comparada aos outros vegetais, foi uma surpresa para estes pesquisadores, pois os produtos de origem vegetal não são considerados boas fontes de ferro.

Hertrampf, citado por British nutrition fundation (1995), também concluiu que formulados à base de soja, modificados para serem consumidos por crianças (que por algum motivo não tivessem acesso ao aleitamento materno ou não se adaptassem ao leite de vaca), poderiam ser usados desde o nascimento. Tem sido demonstrado que estes formulados são capazes de manter o "status" adequado de ferro durante o primeiro ano de vida.

Em um experimento utilizando soja imatura e madura, marcadas com ^{59}Fe e oferecidas a ratos deficientes em ferro, os pesquisadores observaram uma boa biodisponibilidade do ferro dos grãos maduros, o que não aconteceu nos grãos imaturos (Welch e Van Campen, 1975).

Contudo existem resultados de outras pesquisas que contradizem estes achados e afirmam que substâncias presentes na soja, como o ácido fítico, fibras e alguns componentes da fração protéica, são inibidores da absorção de ferro (Cook, Morck e Lynch, 1981). Fitch et al. (citados por Smith e Circle, 1978) observaram redução da absorção gastrointestinal de ferro e anemia em macacos alimentados com dietas contendo isolado protéico de soja. Em um estudo com estudantes vegetarianos, foi feita uma avaliação da quantidade de ferro dietético ingerido e das medidas hematológicas quando eram consumidos produtos de soja como substitutos da carne. Apesar da ingesta de ferro ter sido similar entre os homens vegetarianos e não vegetarianos e da ingesta de ferro das mulheres vegetarianas ter sido até maior que a das não vegetarianas, a concentração média de ferritina plasmática dos vegetarianos (masculina = $47\mu\text{g/L}$ e feminina = $12\mu\text{g/L}$) era cerca da metade do nível dos não vegetarianos (masculino = $91\mu\text{g/L}$ e feminino = $27\mu\text{g/L}$). A ocorrência de anemia e risco para deficiência de ferro foi mais prevalente em vegetarianos (Shaw, Chin e Pan, 1995).

Muitos autores atribuem a baixa biodisponibilidade do ferro na soja ao ácido fítico contido no grão, que formaria complexos insolúveis com este mineral, tornando-o assim indisponível para o organismo (Hurrell et al, 1992;

Cook, Morck e Lynch, 1981). Mas, outro grupo de pesquisadores (Sandstead et al., 1978) demonstrou que a adição de farinha de trigo contendo 5g de fitato/kg ou farinha de milho sem fitato na dieta não afetou a absorção de ferro no homem. Já um estudo realizado durante seis meses com 52 famílias nos EUA, que receberam uma carne acrescida de proteína de soja, mostrou que os níveis de zinco e ferro durante todo o curso do experimento não revelaram nenhuma diferença significativa nestes níveis em comparação com um grupo controle (Miles et al., 1987).

Com relação às fibras, Fairweather-Tait (1982) alimentando ratos com dois tipos de pães (um que tinha como fonte de fibra somente aquela do farelo de trigo e outro sem nenhuma fonte de fibra, sendo que ambos os tipos possuíam quantidades similares de fitato), não percebeu nenhum efeito na retenção do ferro da dieta pelos ratos. Outros autores descrevem que nem todos os componentes das fibras inibiriam a absorção de ferro, mas somente a hemicelulose e a lignina, como já exposto anteriormente (Gillooly et al., 1984).

O tipo de processamento a que a soja for submetida também poderá influir na biodisponibilidade de ferro, como pôde ser observado em um experimento com ratos alimentados com isolado protéico de soja sem tratamento térmico e com tratamento térmico. Quando os animais eram alimentados com as dietas à base de soja tratada, a absorção do ferro foi maior do que para os animais alimentados com soja sem o tratamento. Estes pesquisadores observaram também que quando se introduzia lectina de soja em alguns segmentos do intestino delgado proximal, ocorreu inibição da absorção de ferro ferroso. Concluíram com isto que um dos fatores responsáveis por uma parcela da inibição da absorção de ferro na soja poderiam ser as lectinas (Hisayasu et al., 1992).

A inativação das lectinas da soja por tratamento térmico se faz paralelamente à inativação do inibidor de tripsina, sendo que a atividade de

hemaglutinação pode ser empregada para monitorar a eficiência do tratamento térmico aplicado à soja. Vários autores citam temperaturas de 95°C/1 h, como sendo suficientes para obter uma inibição destes fatores antinutricionais (Liener, 1994; Liener, 1995; Monteiro, 2000). Talvez, justamente por este motivo a soja com tratamento térmico teve uma biodisponibilidade de ferro maior que a não tratada.

2.4.3 A ferritina

Todos os seres vivos utilizam o ferro, com pouquíssimas exceções. Como o ferro possui efeito tóxico na sua forma iônica, os organismos vivos desenvolveram uma forma de armazenar este ferro de forma segura para os tecidos, ligando-o a moléculas protéicas, entre elas a ferritina.

A ferritina é uma grande proteína, de 12,0 nm de diâmetro. É formada de uma capa protéica em forma de concha oca (apoferritina), de 1,0 nm de espessura, massa de 450.000 dáltons, que contém neste espaço interior oxigênio e hidróxido de ferro [Fe(III).OH], sendo o ferro responsável por 10% desse peso. Até 4.500 átomos de ferro podem ser incluídos nesta estrutura globular junto com quantidades variáveis de fosfato. A capa de proteína, composta de 24 sub-unidades (de 20 Kd), está em contato com o centro de hidróxido de ferro em vários pontos da superfície interna, formando uma interface proteína-ferro (Theil, 1987).

A ferritina é encontrada em praticamente todas as células do organismo e no plasma, mas os locais onde sua concentração é maior são no fígado, medula óssea, baço, músculos e na mucosa intestinal. No plasma, a apoferritina tem propriedades enzimáticas, convertendo Fe^{2+} em Fe^{3+} o que facilita muito a sua incorporação pelas células (Theil, 1987; Mahan e Escott-Stump, 1998).

A ferritina é encontrada em muitos tipos de células de humanos e outros vertebrados, em invertebrados, plantas superiores, fungos e bactérias. O papel da

ferritina em diferentes tipos de células inclui a reciclagem de ferro de macrófagos e funções intracelulares de armazenamento (Theil, 1987).

Estudos demonstraram que a ferritina é fonte de estoque para o desenvolvimento embrionário em plantas e animais, como o realizado por Lobreaux e Briat, citado por Beard, Burton e Theil (1996). Tais autores notaram que as concentrações de ferritina da semente são três vezes maiores que na raiz. Estudos realizados por Ragland e Theil (1993), concluíram que o acúmulo de ferritina em nódulos de semente de soja imatura é sete vezes maior que em nódulos maduros e que o acúmulo de ferro na semente e no nódulo é maior que em outras partes da planta. A Tabela 4 apresenta a maneira como o ferro solúvel está distribuído na soja.

Tabela 4 Distribuição de ferro solúvel em plantas (soja).

Tecido	Conteúdo de ferro (µg/g do peso do tecido)
Sementes	33
Nódulos	62
Folhas	6
Raiz	9

Fonte: Theil, Burton e Beard (1997).

A ferritina em plantas tem sido examinada principalmente em espinafre, folhas de feijão, ervilhas, soja e nódulos de soja. Enquanto a arquitetura básica da ferritina observada em animais parece ser preservada nas plantas, as subunidades podem variar em tamanho. Em particular, as subunidades parecem ser sintetizadas como precursores de tamanhos diferentes, que são

subseqüentemente processados durante o transporte para o cloroplasto das folhas de feijão ou durante germinação em soja. Mapas de peptídios da ferritina de ervilha sugerem que estes possam ser comuns com os dos animais, mas muito mais informação é necessária antes que a relação entre a estrutura (e evolução) da ferritina em plantas e animais possa ser estabelecida (Theil, 1987).

Ferritina em plantas, pelo menos em folhas e nódulos de leguminosas; é provavelmente ferritina de reserva normal, enquanto que, em sementes, parece ser ferritina de células-especializadas como armazenadoras de ferro para outros tipos de células. Mas tão pouco é conhecido sobre a estrutura ou metabolismo de ferritina em plantas que é muito cedo para se dizer se existem tipos diferentes de funções atualmente.

Por ser capaz de armazenar tanto ferro em uma forma solúvel, a idéia de se utilizar a ferritina como fonte deste mineral já foi investigada desde 20 ou 30 anos atrás. Estes estudos concluíram que o ferro da ferritina era relativamente ineficiente como fonte nutricional. Entretanto, alguns pesquisadores têm reavaliado estes resultados, baseados nos novos conhecimentos a respeito da ferritina mineral e a proteína (Theil, Burton e Beard, 1997).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, R.L.; ARAÚJO, M.B.D.G; MACHADO, R.D.P.; BRAGA, A.A, LEITE, B.V.; OLIVEIRA, J.R. Evaluation of a program to overcome vitamin A and Iron deficiencies in areas of poverty in Minas Gerais, Brazil. *Archivos Latino-americanos de Nutrición*, Guatemala, v.37, n.1, p.9-22, 1987.
- AZOUBEL, L.N.O.; GARCIA, R.W.D.; NAVES, M.M.V. Tabela de composição de alimentos. In: DUTRA De OLIVEIRA, J.E.; SANTOS, A.C.; WILSON, E.D. *Nutrição básica*. São Paulo, Sarvier: 1982, p.249-268.
- BEARD, J.L; BIURTON, J.W.; THEIL, E.C. Purified ferritin and soybean meal can be sources of iron for treating iron deficiency in rats. *Journal of Nutrition*. v.126, n. 1, p.154-160. January 1996.
- BEARD, J.L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D.J. Iron Metabolism: a comprehensive review. *Nutrition Reviews*, v.54, n.10, p.295-317. 1996.
- BEARD, J.L. Iron requirements in Adolescent Females. *Journal of Nutrition*, v.130 440- 442, 2000. Suplemento.
- BENITEZ, M.A.; GRIJALVA, M.I.; VALENCIA, M.E. Total and soluble iron content and effect of certain inhibitors present in selected varieties of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). *Journal of Agricultural Chemistry*. v.42, p. 1300 – 1302, 1994.
- BIANCHI, M.L.P.; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro do alimentos. *Archivos Latino-americanos de Nutricion*, v.42, n.2, p. 94-100, 1992.
- BOREL, M.J.; SMITH, S.H.; BRIGHAM, D.E.; BEARD, J.L. The impact of varying degrees of iron nutriture on several functional consequences of iron deficiency in rats. *Journal of Nutrition*. v.121, p.729-736. 1996
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. *Considerações sobre anemia nutricional*. Brasília, 1986. Não paginado.
- BRESSANI, R. The role of soybeans in food systems. *Journal American Oil Chemists' Society*, v.58, p392-400, 1981.

- BRITISH NUTRITION FOUNDATION. Iron nutritional and physiological significance. London: Chapman & Hall, 1995. 186p.
- CÂNDIDO, L.M.B.; CAMPOS, A.M. Alimentos para fins especiais: dietéticos. São Paulo : Livraria Varela, 1995. 423p.
- CARAGAY, B. Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technology*, Chicago, v.45, n.3, p.171-174, Mar. 1991.
- COOK, J.D.; MONSEN, E.R. Food iron absorption in human subjects. Comparison of the effect of animal proteins on non-haem iron absorption. *American Journal of Clinical Nutrition*. v.29, p. 859-867. 1976.
- COOK, J.D.; MORCK, T.A.; LYNCH, S.R. The inhibitory effect of soy products on nonheme iron absorption in man. *American Journal Clinical Nutrition*, v.34, p.2622-2629. 1981
- DE ANGELIS, R.C. Fome oculta, impacto para a população do Brasil. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 236p.
- DOUGLAS, M.W.; PARSONS, C.M.; HYMOWITZ, T. Nutritional evaluation of lectin-free soybeans for poultry. *Poultry Science*. V.78, p. 91-95, 1999.
- DINTZIS, F.R.; LEGG, L.M.; DEATHERAGE, W.L.; BAKER, F.L., INGLET, G.E.; JAKOB, R.A.; RECK, S.J.; MUÑOZ, J.M.; KLEVAY, L.M.; SANDSTEAD, H.H.; SHUEY, W.C. Human gastrointestinal action on wheat, corn, and soy-hull bran- Preliminary findings. *Cereal Chemistry*. v.56, p.123-127. 1979.
- EMBRAPA, EMBRAPA Soja. [Http://www. Cnpso.embrapa.br/snum.htm](http://www.Cnpso.embrapa.br/snum.htm). Londrina, PR. 2000.
- FAO (Italy, Rome) Necesidades de Vitamina A, Hierro, folato y vitamina B₁₂. Informe de una consulta Mista FAO/OMS de Expertos organizacion de las Naciones Unidas para La Agricultura y la alimentacion. 1991. 121p.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. The effect of different levels of wheat bran on iron absorption in rats from bread containning similar amounts of phytate. *British Journal of Nutrition*, v.47, p.243-249. 1982.
- FERREIRA, F.A.G. Nutrição humana. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1993. 1291p.
- FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 8 ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1989. 230p.

- GIBSON, R.S. Technological approaches to combatting iron deficiency. **European Journal of Clinical Nutrition**, n.51, 25-27, 1997. Suplemento 4.
- 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. **British Journal of Nutrition**, v.51, p.37-46, 1984
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiología médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.1014p.
- HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ERLANDSSON, M.; SANDBERG, A.; ROSSANDER-HULTEN, L. Calcium: effect of different amounts on non-haem and haem-iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, n.53, p.112-119. 1991.
- HISAYASU, S.; ORIMO, H.; MIGITA, S.; IKEDA, Y.; SATOH, K.; SHINJO, S.; HIRAI, Y.; YOSHINO, Y. Soybean protein isolate and soybean lectin inhibit iron absorption in rats. **Journal of Nutrition**, v.122, p.1190-1196. 1992.
- HURRELL, R.F.; JULLERAT, M.A.; REDDY, M.B.; LYNCH, S.R.; DASSENKO, S.A.; LOOK, J.D. Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. **Journal of Nutrition**. v.56, p.556-580. 1992.
- HURRELL, R.F.; REDDY, M.; COOK, J.D. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. **British Journal of Nutrition**. v. 81, p. 289 – 295, 1999.
- KANANI, S.J.; POOJARA, R.H. Supplementation with iron and folic acid enhances growth in adolescent Indian girls. **Journal of Nutrition**. v. 130, p. 452-455, 2000. Suplemento.
- LATUNDE-DADA, G.O.; NEALE, R.J. Review: availability of iron from foods. **Journal of Food Technology**, v.21, p.255-268, 1986.
- LAYRISSE, M.; COOK, J.D.; MARTINEZ, C.; ROCHE, M.; KUHN, I.N.; WALKER, R.G.; FINCH, C.A. Food iron absorption: a comparison of vegetable and animal foods. **BLOOD**, v.33, n.3, p.430-442, 1969.
- LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, n.34, v.1, p.31-67, 1994.
- LIENER, I.E. Possible adverse effects of soybean anticarcinogens. **Journal of Nutrition**, v. 125, p.744-750, 1995. Suplemento.

- LYNCH, S.R. The Potential Impact of iron supplementation during adolescence on iron status in pregnancy. *Journal of Nutrition*, v.130, p.448-451, 2000. Suplemento.
- MAGALHÃES, P.; SILVA, G.B. Levantamento da prevalência da anemia ferropriva em pré-escolares de creches municipais de Viçosa - MG. Viçosa: [S.n.], 1993. 30p.
- MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. *Krause alimentos nutrição e dietoterapia*. 9. ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.
- MILAGRES, K.H. *Elaboração e avaliação de um formulado em pó, à base de soja, enriquecido com zinco, selênio e magnésio para uso em nutrição enteral*. Viçosa:UFV, 1996. (Dissertação- Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos).
- MILES, C.W.; BODWELL, C.E.; MORRIS, E.R.; ZIYAD, J.A.; PRATHER, E.S.; MERTZ, W.; CANARY, J.J. Long term consumption of beef extended with soy protein by men, women, and children. *Quality Plant Foods Human Nutrition.*, v.37, p.341-348, 1987.
- MILLER, D.D. Minerals. In: FENNEMA, O.R. *Food chemistry*. 3. ed. New York: Marcel Decker, 1996. p.617-649. (Series Food Science and Technology).
- MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. *Soja e suas aplicações*. Belo Horizonte: Medsi, 1996. 259p.
- MONTEIRO, M.R.P. *Avaliação da digestibilidade e da qualidade protéica de linhagens de soja com ausência de inibidor de tripsina kunits e da isoenzimas lipoxigenases*. Viçosa: UFV, 2000. 67p. (Tese-Doctor Scientiae).
- MORCH, T.A.; LYNCH, S.R.; SKIKNE, B.S.; COOK, J.D. Iron availability from infant food supplements. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.34, p. 2630 – 2634, 1981.
- MORRIS, E.R.; ELLIS, R. Isolation of Monoferric Pytate from wheat Bran and its biological value as iron source to the rat. *Journal of Nutrition*, v.106, p.753-760, 1976.
- OMS/FAO. *Necesidades de vitamina A, hierro, folato y vitamina B12 Informe de una consulta mixta FAO/OMS de expertos*. Roma, 1991. 121p.

- OMS/FAO. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. São Paulo: Ed. Roca, 1998. 297p.
- PENLAND, J.G. Behavioral data and methodology issues in studies of zinc nutrition in humans. *Journal of Nutrition*. v.130, p.361-364. 2000. Suplemento.
- POLLIT, E. Developmental sequel from early nutritional deficiencies: conclusive and probability judgements. *Journal of Nutrition*. v.130, p.350-353. 2000. Suplemento.
- POSADA, B.I.S.M. Biodisponibilidade de isoflavonoides de soya y sus implicaciones em la salud. *Revista Soyanoticias*, Caracas. v.27, n.252, p.1-5, Enero-Marzo, 1998.
- RAGLAND, M.; THEIL, E.C. Ferritin and iron are developmentally regulates in nodules. *Plant Molecular Biology*, v.21, p.555-560, 1993.
- REINHOLD, J.G.; GARCIA, L.J.S.; GARZON, P. Binding of fibre of wheat and maize. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.34, p.1384 – 1391, 1981.
- SANDSTEAD, H.H.; LOFGREN, P.A. Introduction symposium: dietary zinc and iron-recent perspectives regarding growth and cognitive development. *Journal of Nutrition*. v.130, p.345-346, 2000. Suplemento.
- SANDSTEAD, H.H.; MUÑOZ, J.M.; JACOB, R.A.; KLEVAY, L.M.; RECK, S.J.; LOGAN, G.M.; DINTZIS, F.R.; INGLET, G.E.; SHUEY, W.C. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.31, p.180-184, 1978. Suplemento.
- SANDSTEAD, H.H. Causes of Iron and Zinc Deficiencies na their effects on Brain. *Journal of Nutrition*, v.130, p.347-349, 2000. Suplemento.
- SANT'ANA, L.F.R. Biodisponibilidade de cálcio e ferro em multimisturas utilizadas como alternativa de alimentar. Viçosa: UFV, 1997. 127p. (Dissertação – Mestrado).
- SCHOLL, T.O.; REILLY, T. Anemia, iron and pregnancy outcome. *Journal of Nutrition*, v.130, p.443-447. 2000. Suplemento.
- SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; SEDIYAMA, C.S.; GOMES, J.L.L. *Cultura da Soja*. Viçosa: UFV, 1989. 75p.

- SHAW, N.; CHIN, C.; PAN, W. A vegetarian diet rich in soybean products compromises iron status in young students. **Journal of Nutrition**, v.125, p.212-219, 1995.
- SHURPALEKAR, S.H. Chemical composition and nutritive value of soybean and soybean products. **Food Science**, v.11, p.52-64, 1961.
- SMITH, A.K.; CIRCLE, S.J. **Soybeans: Chemistry and Technology**. v.1, Proteins. Connecticut: Avi. Westport, 1978. 470p.
- SOGLIA, S.L.O. Enriquecimento de leite tipo C com ferro aminoácido quelato: biodisponibilidade e características físico-químicas e sensoriais. Viçosa: UFV, 1996. 93p.
- THEIL, E.C. Ferritin: Structure, gene regulation, and cellular function in animals, plants, and microorganisms. **Annual Review Biochemistry**, v.56, p.289-315, 1987.
- THEIL, E.C.; BURTON, J.W.; BEARD, J.L. A sustainable solution for dietary iron deficiency through plant biotechnology and breeding to increase seed ferritin control. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 51, p.528-531, 1997.
- TRAINA, M.S.; BREENE, W.M. Composition, functionality and some chemical and physical properties of eight commercial full-fat soy flours. **Journal of Food Processing Preservation**, v.18, p.229-252, 1994.
- VIOLA, E.S. Uso de soja integral em dietas de suínos e aves: oportunidades e entraves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. Anais... Londrina: EMBRAPA- soja, 1999.
- YIP, R. The Challenge of improving iron nutrition: limitations and potentials of major intervention approaches. **European Journal of Clinical Nutrition**, n.51, p.516-524, 1997.
- ZAVALETA, N.; RESPICIO, G.; GARCIA, T. Efficacy and Acceptability of two iron supplementation Schedules in adolescent school girl in Lima, Peru. **Journal of Nutrition**. v.130, p.462-464, 2000. Suplemento.
- COSTA, R.P.; MEALE, M.M.S. Terapia nutricional oral em cardiologia. In.: WAITZBERG, D.L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3.ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2000. v.1, p.525-541.
- WAUBEN, I.P.M.; ATKINSON, S.A. Calcium does not inhibit iron absorption on or alter iron status in infant piglets adapted to a high Calcium diet. **Journal of Nutrition**. v.129, p.709-711, 1999.

**WELCH, R.M.; VAN CAMPEN, D.R. Iron availability to rats from soybeans.
Journal of Nutrition. v.105, p.253-256, 1975.**

CAPÍTULO 2

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTEÚDO DE FERRO SOLÚVEL EM SOJA [*Glycine max* (L.) Merrill].

RESUMO

O grão de soja possui um dos maiores teores de proteína e de ferro entre os alimentos de origem vegetal e teve a sua utilização muito aumentada nos últimos anos, principalmente por lactentes que têm problemas de intolerância ao leite de vaca, em todo mundo. Devido à sua grande quantidade de ferro, a soja tem sido investigada quanto à sua capacidade de recuperação de indivíduos anêmicos. No passado, a investigação se baseou somente na sua quantidade de ferro total, não separando a quantidade de ferro das frações solúveis (mais biodisponíveis) daquelas insolúveis (que são mais dificilmente absorvidas). Este trabalho teve como objetivo realizar análises químicas em quatro cultivares de soja *Glycine max* (L.) Merrill (IAC PL-1; IAC 22; IAC 8-2 E IAC 15-2), bem como os seus respectivos conteúdos de ferro solúvel. Os teores de proteína nos grãos, que foram em média de 34,46%, foram estatisticamente iguais. O de lipídeos foi maior para a cultivar IAC PL-1, com 20,07% e a cultivar que apresentou o menor teor de fibras foi também a IAC PL-1, com 5,24%, bem como maiores valores de zinco, potássio e fósforo, no grão moído e tratado termicamente a 95°C por uma hora. A quantidade de ferro total foi maior para a cultivar IAC 8-2, com 110,27 ppm, seguida pela IAC PL-1, que apresentou teores de 101,93 ppm de ferro, em média. Quanto aos seus conteúdos de ferro solúvel e de taninos, não houve diferença estatística entre os tratamentos, sendo os seus conteúdos médios de ferro solúvel cerca de 2,52 mg/100 g e de tanino cerca de 5,51 mg/100 de soja moída e tratada termicamente. Os resultados destas análises indicam que a soja IAC PL-1 seria a mais indicada para um possível tratamento de anemia ferropriva de ratos, por ter bons conteúdos de ferro total e conteúdo de ferro solúvel estatisticamente igual ao da soja IAC 8-2, que teve o maior conteúdo de ferro total e por apresentar os menores teores de fibras.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Soja, composição centesimal, ferro, ferro solúvel, taninos.

CHEMICAL COMPOSITION AND SOLUBLE IRON CONTENT IN SOYBEAN (*Glycine max* (L.) MERRILL)

ABSTRACT

Soybean grain possesses one of the highest contents of protein and iron among the foods of plant origin and had its use greatly increased in the latest years, mainly by lactents who have problems of intolerance to cow's milk all over the world. Due to its great amount of iron, soybean has been investigated as to its capacity of recovering anemic individuals. In the past, the investigation was based only on its amount of total iron, separating the soluble fractions (more bioavailable) from the insoluble (which are more hardly absorbed). This work was designed to accomplish chemical analyses on four soybean cultivars *Glycine max* (L.) Merrill (IAC PL-1; IAC 22; IAC 8-2 and IAC 15-2), as well as their respective contents of soluble iron. Protein contents in the grains, which were on average of 34.46% were statistically equal. That of lipids was greater for the cultivar IAC PL-1, with 20.07% and the cultivar which presented the poorest fiber content was also IAC PL-1, with 5.24% as well as the heat -treated at 95 C for one hour. The amount of total iron was higher for the cultivar IAC 8-2 with 110.27 ppm, followed by IAC PL-1 which presented contents of 101.93 ppm of iron, on average. Concerning their contents of soluble iron and tannins, there were no statistic differences among the treatments, their average contents of soluble iron being of about 2.52mg/ 100g and of tannin about 5.51 mg/100 of ground and heat -treated soybean. The results of those analyses indicate that the soybean IAC PL-1 would be the most adequate for a possible treatment for iron deficiency of rats for having good contents of total iron and content of soluble iron statistically equal to that of the soybean IAC 8-2, which presented the greatest content of total iron and for presenting the poorest contents of fiber.

INDEX TERMS: Soybean, centesimal composition, soluble iron, anemia.

1 INTRODUÇÃO

A soja é uma leguminosa originária provavelmente da Ásia que, há cerca de cinco mil anos, foi domesticada pelos chineses, tornando-se a base alimentícia deste povo. No Brasil, a referência mais antiga é de 1882, na Bahia, mas, a sua cultura foi introduzida no país por volta de 1908, por colonos japoneses. Desde então, o Brasil veio aumentando gradualmente sua produção de soja, chegando hoje à segunda colocação mundial (Sediyama, 1981; Moraes e Silva, 1996; EMBRAPA, 2000).

No mundo oriental, a soja é a base de composição de diversos pratos naturais e tradicionais. Em certos casos, é a principal fonte de proteína, como em populações de baixa renda e vegetarianos (Shaw, Chin e Pan, 1995; Moraes e Silva, 1996). Nos países ocidentais, é largamente utilizada na indústria alimentícia, na fabricação de óleo comestível, margarinas, maioneses, proteínas texturizadas, extrato solúvel (denominado “leite de soja”), emulsificantes, entre outros, sendo a sua aceitação como alimento natural ainda pequena, devido ao odor e sabor desagradáveis. Ultimamente, seu consumo tem aumentado, devido à interferência de imigrantes orientais e à maior procura, por alimentos naturais.

Muitos pesquisadores têm se empenhado no estudo desta leguminosa que possui importantes qualidades para a nutrição como a grande quantidade de proteínas vegetais de alto valor biológico, além de ser fonte de ácidos graxos poliinsaturados (linoléico e linolênico).

A soja ainda é rica em minerais, em especial o magnésio, fósforo, cobre, zinco e ferro. A utilização destes minerais pode ser prejudicada devido à presença de fatores antinutricionais no grão. Diversos autores atribuem ao ácido fítico, às lectinas, aos polifenóis, às fibras e oxalatos presentes na soja, a capacidade de se complexarem com os minerais, prejudicando a absorção

principalmente do zinco, cálcio, ferro e fósforo (Gillooly et al., 1984, Latunde-Dada e Neale, 1986). Mas, estes dados ainda são questionáveis, pois muitos resultados são conflitantes. No que diz respeito ao ferro, diversos são os resultados encontrados.

Considerando as inúmeras aplicações da soja, muitos esforços têm sido empregados para contornar o problema da biodisponibilidade de minerais. Neste sentido, Beard, Burton e Theil (1996), pesquisando o ferro nesta leguminosa, observaram que o conteúdo de ferritina — proteína responsável pelo armazenamento de ferro nos grãos de soja — variava de cultivar para cultivar. Estes resultados sugerem que o melhoramento das cultivares que possuam maior concentração de ferritina nos grãos poderia ajudar no combate à anemia, visto que o ferro ligado à ferritina mostrou-se eficaz na recuperação de ratos anêmicos. Isto porque parece se manter biodisponível para estes animais alimentados com soja, escapando das possíveis complexações com os outros componentes desta leguminosa (Beard, Burton e Theil, 1996).

O presente trabalho visou analisar quatro cultivares de soja provenientes do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), com o objetivo de selecionar a cultivar com maiores teores de ferro solúvel, bem como aquela com menores quantidades de fatores interferentes na absorção de ferro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas nos laboratórios dos Departamentos de Ciência dos Alimentos, de Química e de Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

2.1 Matéria prima e delineamento experimental

Foram utilizadas neste experimento, quatro cultivares de soja [*Glycyne max* (L.) Merrill]: IAC 8-2, IAC 15-2, IAC 22, e IAC PL-1, oriundas do Centro Experimental de Campinas (fazenda Santa Eliza), do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), São Paulo, safra 1999.

As amostras foram sorteadas e constituíram os quatro tratamentos T1, T2, T3 e T4 que correspondiam, respectivamente, à IAC PL-1, IAC 22, IAC 8-2 e IAC 15-2.

Foram realizadas análises químicas e bioquímicas de cada cultivar, todas em quadruplicata e o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC).

Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de F, sendo os resultados significativos estudados por meio da comparação de médias pelo teste de Tukey, utilizando o programa estatístico MSTATC para as análises.

2.2 Tratamento das amostras

Os grãos de soja de cada cultivar foram selecionados e triturados integralmente (também as cascas) em um triturador de grãos, durante aproximadamente 2 minutos, até a obtenção de uma farinha fina. Logo depois foram submetidos a um tratamento térmico de 95°C por uma hora, em estufa a vácuo, para diminuir a níveis desejáveis a ação dos inibidores de tripsina e das

lectinas. Após este tratamento a farinha foi armazenada à -15 °C para análises posteriores.

2.3 Análises químicas e bioquímicas

Toda a vidraria e demais utensílios utilizados nas análises foram lavados com ácido clorídrico puro e enxaguados utilizando-se água ultrapura: destilada, deionizada e desmineralizada (miliQ). Toda a água utilizada nas análises foi ultrapura, para evitar contaminação de ferro provenientes de outras fontes.

2.3.1 Composição centesimal

A umidade das amostras foi determinada por dessecação em estufa à 105°C, segundo AOAC (1990). O extrato etéreo foi determinado utilizando-se extrator contínuo tipo Soxhlet, segundo a AOAC (1990). O restante das análises de composição química, ou centesimal, foi determinado nas amostras secas e desengorduradas: a proteína foi determinada pelo conteúdo de N total (%), segundo método de Kjeldhal (AOAC, 1990) e multiplicado pelo fator de 6,25. A fibra bruta foi determinada pelo método de Van de Kamer e Van Ginkel (1952). Finalmente, o carboidrato foi obtido por diferença e as cinzas (resíduo mineral fixo) determinadas por incineração do material em forno tipo mufla a 500°C, segundo AOAC (1990).

2.3.2 Composição mineral

Os minerais foram determinados submetendo as amostras a uma digestão, em blocos digestores com controle de temperatura, com solução nitro-perclórica (2:1). Após a digestão as amostras foram transferidas para frascos de vidro tendo o seu peso aferido para posterior cálculo de concentração (peso/peso). Para a determinação dos teores de cálcio, ferro, zinco, fósforo,

potássio, magnésio, manganês, cobre e enxofre utilizou-se o método de espectrofotometria de absorção atômica, com as leituras feitas em aparelho da marca Varian, Spectr AA, 100; de acordo com as técnicas descritas na AOAC (1990).

2.3.3 Determinação da fração de ferro solúvel

A concentração de ferro solúvel foi estimada utilizando-se um método *in vitro*, adaptado de Politz e Clydesdale (1988) e Slatkavitz e Clydesdale (1988), citados por Nkuzimana et al.(1996). O método baseia-se em submeter uma quantidade conhecida de amostra a uma digestão péptica, seguida de digestão pancreática, em condições controladas de tempo, temperatura e pH. Todos os reagentes para a análise foram preparados com água ultrapura.

A pepsina foi suspensa em 25 mL de HCl 0,1 N. A pancreatina purificada e o extrato de bile foram dissolvidos em 250 mL de solução tampão de Tyrode que continha os seguintes reagentes:

2g de NaCl

0,05g de KCl

0,065g de $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$

0,25g de glucose

0,25g de $NaHCO_3$

0,066g de $CaCl_2$

0,05g de NaN_3

Este tampão foi ajustado para pH5 com HCl 6N.

As respectivas quantidades de pepsina, pancreatina e bile foram determinadas de acordo com o conteúdo de proteína das farinhas, previamente determinados pelo método Kjeldhal ($N \times 6,25$).

A razão pepsina para proteína era de 1:50, a de pancreatina para proteína de 1:30 e a de bile para proteína 1: 19,2.

A digestão se realizou em incubadora a 37°C , por 2 h, em pH = 2, para simular as condições gástricas.

A cada 35 min, o pH era ajustado com NaOH 1N. Após a digestão péptica, o pH foi aumentado para 5, com NaOH 3N e a mistura de pancreatina e extrato de bile foi adicionada. A incubação continuou por mais 2 horas.

Ao final da incubação, o digerido foi centrifugado em tubos de 250 mL a 10.000 g por 20 min, a 4°C e o sobrenadante filtrado em papel de filtro whatman # 41. O ferro solúvel foi então determinado por espectrofotometria de absorção atômica e as concentrações de ferro foram lidas diretamente a 248 nm, e comparadas a padrões de Fe de 0; 0,5; 2; 5; 10 e 15 ppm, que foram preparados utilizando a solução referência para absorção atômica, segundo AOAC (1990).

2.3.4 Taninos (polifenóis)

Os taninos (polifenóis) dos quatro tratamentos foram analisados utilizando-se o método colorimétrico de Folin-Denis, conforme AOAC (1990) e Deshpande, Cheryan e Salunke (1986).

A extração foi feita com metanol a 80% em banho maria (80°C/15 minutos), utilizando-se pérolas de vidro e varetas de refluxo, por três vezes consecutivas. Os extratos foram então reunidos e evaporados até cerca de 25 mL e submetidos à dosagem de polifenóis, empregando o ácido tânico como padrão.

O método se fundamenta no fato de o reagente de Folin-Denis (de cor rosa-lilás) ser reduzido pelos fenóis a um complexo de coloração azul em solução alcalina, que é medido em espectrofotômetro a 760 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises químicas e bioquímicas

3.1.1 Composição centesimal

A Tabela 1 apresenta os resultados da composição centesimal das quatro cultivares de soja analisadas.

TABELA 1 Composição centesimal de quatro cultivares de soja.

Tratamentos	Umidade (%)	Extrato etéreo ¹ (%)	Proteína ¹ (%)	Fibras ¹ (%)	Cinzas ¹ (%)	ENN ² (%)
IAC PL-1	8,35 a	20,07 a	34,97 a	5,24 b	4,61 b	25,86
IAC 22	8,18 a	18,45 b	33,42 a	5,61 ab	5,19 a	29,20
IAC 8-2	7,50 b	18,63 b	35,07 a	6,58 a	4,14 c	27,14
IAC 15-2	8,49 a	18,87 b	34,38 a	5,98 ab	4,11 c	27,38
Teste F	11,533**	6,834**	1,015 ns	5,739**	24,23**	-
C.V	3,19	2,95	4,37	8,13	4,57	-

¹ dados expressos com base em matéria seca.

² ENN = extrato não nitrogenado (obtido por diferença).

**F significativo a 1%

*F significativo a 5%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

A composição química das cultivares analisadas se encontra de acordo com os padrões observados na literatura (Smith e Circle, 1978; Moraes e Silva, 1996). Com relação à soja cultivada no Brasil, Castro, Millan e Lago (1973) verificaram que a quantidade de proteína varia de 29,2% a 57,9% e a de lipídeos varia de 14,7% a 28,4% , de acordo com a variedade da soja. As cultivares do IAC (Instituto Agrônômico de Campinas) analisadas neste trabalho apresentaram, em média, 34,46% de proteína, não diferindo estatisticamente

entre si. A IAC PL-1 foi a que apresentou o maior teor de lipídeos em relação às outras cultivares, a 1% de significância.

Quanto às fibras, constituídas de certos componentes, como a hemicelulose e lignina, tidas como complexantes de ferro e outros minerais (Gillooly et al., 1984), a cultivar IAC PL-1 foi a que apresentou os menores valores, e a IAC 8-2 a de maior valor de fibras, a 1% de significância, pelo teste de F. De acordo com Dintzis et al. (1979), a casca da soja contém 87% das fibras, sendo 40% à 53% de celulose, 14% à 33% de hemicelulose e 1 à 3% de lignina. Portanto, quanto menor a quantidade de fibras, maior a probabilidade de se absorver melhor o ferro da soja integral. O simples fato de não se utilizar a casca da soja poderia diminuir muito o teor de fibras e, conseqüentemente, isso poderia aumentar a proporção de ferro e de outros minerais que seriam absorvidos da soja.

3.1.2 Composição mineral

As concentrações de cálcio, ferro, cobre, zinco, potássio, magnésio, manganês, fósforo e enxofre das cultivares se encontram expressas nas Tabelas 2 e 3. Pode-se notar que houve diferença significativa no teor de ferro total entre as amostras de soja, tendo a cultivar IAC 8-2 apresentando a maior média deste mineral (110,27), seguida pela cultivar IAC PL-1 (101,93). As outras duas cultivares, IAC 22 e IAC 15-2, foram as que apresentaram os menores índices de ferro total nos grãos. Quanto ao zinco e fósforo, a IAC PL-1 apresentou os maiores teores, e a IAC 15-2 os menores. Para o cálcio e o magnésio, as cultivares IAC PL-1, IAC 22 e a IAC 8-2 tiveram os maiores valores, sendo que a IAC 8-2 não diferiu da IAC 15-2 que apresentou as menores quantidades destes minerais. Para o manganês e o enxofre, os maiores teores foram os das cultivares IAC 22 e IAC 8-2. Para o potássio, somente a IAC 8-2 foi diferente,

apresentando as menores quantidades. Em relação ao cobre, não houve diferença estatística entre as cultivares.

TABELA 2 Teores médios de cobre, manganês, zinco e ferro de quatro cultivares de soja.

Tratamentos	Cu ppm	Mn Ppm	Zn Ppm	Fe ppm
IAC PL1	10,46 a	20,27 bc	42,33 a	101,93 b
IAC 22	7,10 a	24,17 ab	40,17 b	88,00 c
IAC 8-2	10,50 a	24,83 a	40,00 b	110,27 a
IAC 15-2	6,97 a	18,43 c	37,80 c	84,50 c
Teste F	6,049	11,539**	51,664**	45,291**
C.V	16,02	7,16	1,11	3,22

**F significativo a 1%

*F significativo a 5%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey

TABELA 3 Teores médios de fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre de quatro cultivares de soja.

Tratamento	%P	%K	%Ca	%Mg	%S
IAC PL1	0,58 a	2,06 a	0,19 a	0,27 a	0,37 b
IAC 22	0,48 c	2,07 a	0,20 a	0,26 a	0,41 a
IAC 8-2	0,51 b	1,94 b	0,18 ab	0,27 a	0,39 ab
IAC 15-2	0,42 d	2,01 ab	0,17 b	0,24 b	0,37 b
Teste F	280,445**	11,872**	7,394*	19,889**	10,788**
C.V (%)	1,42	1,40	5,08	1,93	2,49

**F significativo a 1%

*F significativo a 5%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey

A soja é uma fonte moderada de cálcio. Muitos autores que compararam o “leite” de soja (extrato solúvel de soja) com o leite de vaca observaram valores de biodisponibilidade de cálcio que chegavam a ser de 90% dos valores do leite de vaca. Isso não aconteceu com a soja integral assada, na qual somente 10% do cálcio puderam efetivamente utilizados (Schroeder et al. e Desikachar et al., citados por Smith e Circle, 1978). Comparando-se os valores de cálcio aqui encontrados com o de outros alimentos vegetais muito consumidos na alimentação humana, como, por exemplo, o arroz (10 mg/100g), o feijão vermelho cozido (38 mg/100g), a farinha de mandioca (148 mg/100g) e o milho (6 mg/100g), observa-se que a soja, que teve em média 185 mg/100g, é o alimento que possui valores maiores deste mineral (Azoubel, Garcia e Naves, 1982).

A soja é um alimento de origem vegetal que possui grandes quantidades de ferro. Fonseca (1995) e Bianchi, Silva e Oliveira (1992) citam que o ferro da soja foi melhor absorvido que o do trigo, milho, feijão preto e arroz (em ordem decrescente). Comparando-se os valores aqui encontrados de (8,45 a 11,03 mg/100g) com os do feijão preto (4,3 mg/100g), feijão vermelho (7,10 mg/100g), ou com o fubá (1,8 mg/100g), farinha de mandioca (5,4 mg/100g) e de trigo (0,9 mg/100g), verifica-se que todos estes produtos, utilizados no com frequência na alimentação humana, apresentam o teor de ferro menor que o da soja (Azoubel, Garcia e Naves, 1982; Franco, 1989).

Comparando-se os valores de ferro total das cultivares IAC 8-2 (110,27 ppm) e IAC PL-1 (101,93 ppm), com as cultivares Tokyo (80,98 ppm) e Jackson (81,54 ppm) analisados por Beard, Burton e Theil (1996), percebe-se que as cultivares do IAC obtiveram maiores valores de ferro total.

Com relação aos minerais analisados, todos estavam dentro dos valores encontrados para soja (Smith e Circle, 1978; Shurpalekar, 1961).

3.1.3 Ferro solúvel

Com relação à concentração de ferro solúvel, apesar de não ter sido significativa a diferença entre os tratamentos (Figura 1), vale salientar que os conteúdos de ferro total das cultivares IAC 8-2 e IAC PL-1 apresentaram uma concentração mais acentuada de ferro total.

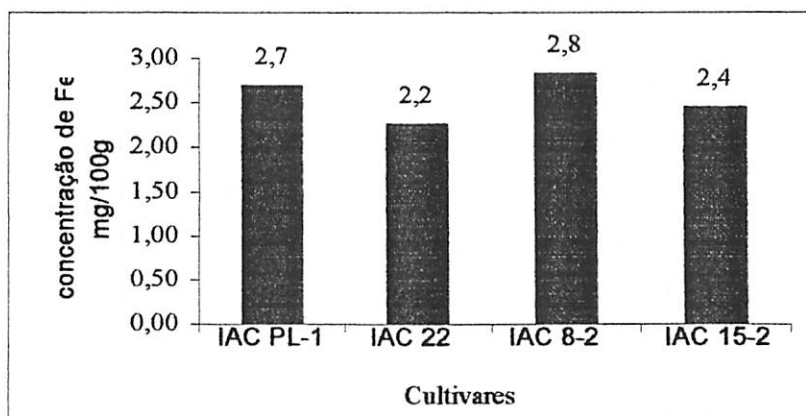


FIGURA 1 Teores de ferro solúvel (mg/100g) de quatro cultivares de soja.

É possível que técnicas mais apuradas para detectar a concentração de ferro solúvel possam revelar diferenças entre as cultivares, como foi observado por Beard, Burton e Theil (1996).

Comparando-se estes valores de ferro solúvel com os valores de ferro total verifica-se que realmente há uma grande diferença entre os tipos de ferro presentes no grão de soja. E, aparentemente, somente 26,7% do ferro total presente nos grãos das cultivares analisadas, estão disponíveis para a absorção, ou seja, estão solúveis na luz intestinal.

Obtendo-se uma média destes teores de ferro solúvel das cultivares analisadas (Figura 1), contidos em 100g de soja integral moída e tratada termicamente, encontra-se o valor de 2,52 mg de ferro biodisponível, que são

suficientes para suprir as necessidades de ferro de mulheres adolescentes (2,02 mg/dia); homens e mulheres adultos (1,14 mg/dia e 2,38 mg/dia respectivamente), com exceção das gestantes.

Beard, Burton e Theil (1996), também observaram estas diferenças quando analisavam variedades de soja cultivadas nos EUA. Em seus resultados, cerca de 45,28% do ferro total estavam na fração solúvel. Esta maior porcentagem, no entanto, não significa necessariamente que os cultivares do IAC tenham menores quantidades de ferro solúvel que as dos EUA, pois as técnicas utilizadas para a determinação deste tipo de ferro foram diferentes. Segundo Ragland e Theil (1993), a fração solúvel de ferro das sementes da soja contém dois tipos de ferro: a ferritina e o fitato monoférrico. Segundo Beard, Burton e Theil (1996), a ferritina correspondeu à 30% do total do ferro solúvel. Estes pesquisadores também observaram que tal quantidade de ferro pode ser modificada por melhoramento genético, para se obter cultivares com maiores quantidades de ferritina, o que poderia melhorar a biodisponibilidade do ferro na soja.

3.1.4 Polifenóis (taninos)

As concentrações médias dos taninos encontradas nas quatro variedades de soja apresentam-se na Figura 2.

Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos, sendo que a média de taninos presente nas cultivares foi de 0,551 mg/100g.

Os taninos são considerados potentes inibidores da absorção de ferro e de outros minerais como o zinco e o cálcio (Latunde-Dada e Neale, 1986). Segundo Liener (1994), apesar de presentes na soja, a quantidade de taninos neste grão não é considerada suficiente para provocar um efeito antinutricional. Hurrell, Reddy e Cook (1999) observaram que acontecia uma redução de 50% a 70% na absorção de ferro em humanos, quando estes consumiram bebidas

contendo cerca de 20 a 50 mg de polifenóis totais em 275 ml da bebida. No chá preto, ou de ervas, a concentração de taninos média foi de 11,67 mg/g de chá enquanto que a média deste polifenol na soja IAC foi de 0,055 mg/g de soja integral, ou seja, 0,47% do valor dos taninos presentes nos chás analisados naquele experimento. Esta quantidade de taninos encontrada nas cultivares do IAC não interfere de forma potente na absorção do ferro destas cultivares de soja.

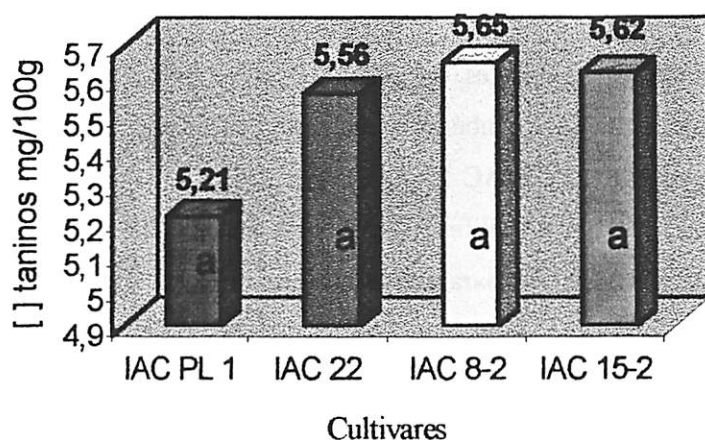


FIGURA 2 Teores de taninos (mg/100g) de quatro cultivares de soja.

4 CONCLUSÕES

Das cultivares de soja analisadas neste trabalho, a IAC 8-2 e a IAC PL-1 parecem ser as mais indicadas para utilização na alimentação humana como fonte de ferro, mais especificamente para populações com anemia ferropriva. Isto porque, em termos de teores de ferro total, seus conteúdos foram os mais altos, e, apesar de a cultivar IAC 8-2 apresentar valores mais altos que a IAC PL-1, os teores de ferro solúvel (mais biodisponível) eram estatisticamente iguais, sendo que a cultivar IAC PL-1 teve ainda os menores teores de fibras (que possuem fatores complexantes de minerais). Com relação aos outros minerais, estas duas cultivares também apresentaram as maiores quantidades quando comparadas à IAC 22 e à IAC 15-2.

A quantidade de taninos (polifenóis) presentes nestas cultivares foi baixa e, provavelmente, insuficientes para provocar uma inibição significativa da absorção de ferro.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, AOAC. *Official methods of analysis* 15. ed. Washington, 1990. V. 1-2.

AZOUBEL, L.N.O.; GARCIA, R.W.D.; NAVES, M.M.V. Tabela de composição de alimentos. In: DUTRA De OLIVEIRA, J.E.; SANTOS, A.C.; WILSON, E.D. *Nutrição básica*. São Paulo: Sarvier, 1982, p.249-268.

BEARD, J.L.; BURTON, J.W.; THEIL, E.C. Purified ferritin and soybean meal can be sources of iron for treating iron deficiency in rats. *Journal of Nutrition*. v.126, p.154-160, 1996.

BIANCHI, M.L.P.; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro do alimentos. *Archivos Latino-americanos de Nutricion*, v.42, n.2, p. 94-100, 1992.

CASTRO, A.T.B.; MILLAN, A.; LAGO, R.C.A. *Contribuição ao estudo da soja no Brasil*. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar/Ministério da Agricultura, 1973. 28p. (Boletim técnico, n.10).

DESHPANDE, S.S. CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Cleveland, v.24, n.4, p.401-449, 1986.

DINTZIS, F.R.; LEGG, L.M.; DEATHERAGE, W.L.; BAKER, F.L.; INGLET, G.E.; JAKOB, R.A.; RECK, S.J.; MUÑOZ, J.M.; KLEVAY, L.M.; SANDSTEAD, H.H.; SHUEY, W.C. Human gastrointestinal action on wheat, corn, and soy-hull bran- Preliminary findings. *Cereal Chemistry*. v.56, p.123-127, 1979.

EMBRAPA EMBRAPA Soja. [Http://www.Cnpso.embrapa.br/sgnum.htm](http://www.Cnpso.embrapa.br/sgnum.htm). Londrina, PR, 2000.

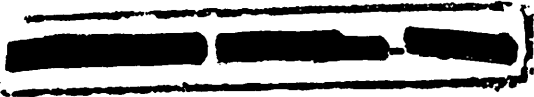
FONSECA, J. G. M. Metabolismo de ferro e eritrócitos. In: VIEIRA, E. C.; FIGUEIREDO, E. A.; ALVAREZ-LEITE, J. I.; GOMEZ, M. V. *Química fisiológica*. 2 ed. Belo Horizonte, MG: Atheneu, 1995. p.323-333.

- FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 8.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1989. 230p.
- 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. *British Journal of Nutrition*. v.51, p.37-46, 1984.
- HURRELL, R.F.; REDDY, M.; COOK, J.D. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *British Journal of Nutrition*, v.81, p.289-295, 1999.
- LATUNDE-DADA, G.O.; NEAKE, R.J. Review: availability of iron from foods. *Journal of Food Technology*, v.21, p.255-268, 1986.
- LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, n.34, v.1, p.31-67, 1994.
- LYNCH, S.R. The potential impact of iron supplementation during adolescence on iron status in pregnancy. *Journal of Nutrition*, v.130, p.448-451, 2000. Suplemento
- MORAIS, A.A.C.; SILVA, A.L. Soja e suas aplicações. Belo Horizonte: Medsi, 1996. 259p.
- NKUNZIMANA, J.; ZEE, J.A.; TURGEON-O'BRIEN, H.; MARIN, J. potential iron bioavailability in usual diets of the imbo region of burundi. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.44, p.3591-3594, 1996.
- RAGLAND, M.; THEIL, E.C. Ferritin and iron are developmentally regulated in nodules. *Plant Molecular Biology*, v.21, p.555-560, 1993.
- SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; SEDIYAMA, C.S.; GOMES, J.L.L. Cultura da Soja. Viçosa: UFV, 1989. 75p.
- SHAW, N.; CHIN, C.; PAN, W. A vegetarian diet rich in soybean products compromises iron status in young students. *Journal of Nutrition*, v.125, p.212-219, 1995

SHURPALEKAR, S.H. Chemical composition and nutritive value of soybean and soybean products. **Food Science**, v.11, p.52-64, 1961.

SMITH, A.K.; CIRCLE, S.J. **Soybeans: Chemistry and Technology**. Connecticut: Avi. Westport, 1978, v.1,.. 470p.

VAN DE KAMER, J.H.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.29, n.4, p.239-251, July, 1952.



CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA SOJA [*Glycine max* (L.) Merrill], CULTIVAR IAC PL-1 NA RECUPERAÇÃO DE RATOS ANÊMICOS.

RESUMO

Neste trabalho, a cultivar de soja IAC PL-1, desenvolvida pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) foi testada quanto a sua eficiência na recuperação de ratos com deficiência de ferro. Numa primeira fase, um grupo de trinta ratos *wistar* fêmeas recém-desmamadas (aos 21 dias do nascimento) foi alimentado com dois tipos diferentes de dieta: um grupo de ratas recebeu a dieta controle que supria as necessidades diárias de ferro (30mg/dia) e as demais receberam dietas pobres em ferro (4,23 mg/kg), para a indução de anemia. Assim que a deficiência de ferro foi detectada, através da dosagem de hemoglobina e do hematócrito, os grupos com deficiência de ferro (anêmicos) foram divididos em quatro novos grupos: um continuou com a dieta controle para anemia (pobre em ferro) até o final e os outros três receberam as dietas experimentais que possuíam como fonte de ferro, respectivamente: ferritina de baço de cavalo, o ferro do grão de soja moído e tratado termicamente e a farinha de soja IAC PL-1 acrescida de ferritina de baço de cavalo. A evolução da recuperação foi acompanhada por testes bioquímicos e ao final de 28 dias de dieta os animais foram sacrificados e o sangue coletado para as dosagens de hematócrito, hemoglobina, concentração de hemoglobina celular média (CHCM) e ferro sérico. O baço e o fígado foram retirados para análise de ferro

total e para histopatologia, as fezes foram coletadas na última semana para verificação da excreção de ferro. Todos os três grupos experimentais recuperaram-se da anemia, sendo que entre o grupo da ferritina e o grupo da soja não houve diferença estatística quanto aos níveis de hemoglobina e hematócrito.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Ferro, soja, ferritina, biodisponibilidade de ferro, anemia, ratos.

ABSTRACT

EVALUATION OF SOYBEAN [*Glycine max* (L.) MERRILL], CULTIVAR IAC PL-1 IN THE RECOVERY OF ANEMIC RATS.

In this work, the soybean cultivar IAC PL-1 developed by Instituto Agronômico de Campinas (IAC) was tested as for its efficiency in the recovery of iron - deficient rats. In a first phase, a group of 30 freshly weaned female wistar rats (at 21 days from the birth) were fed on two different sorts of diet: one group of female rats was given a control diet which supplied the daily needs of iron (30,00 mg /day) and the others were given iron - poor diets (4,23 mg /kg) for induction of anemia. As soon as iron deficiency was detected, through the dosage of the hemoglobin and hematocrit, the iron - deficient groups (anemic rats) were divided into four new groups, a group went on with the control diet for anemia (poor in iron) up to the end and the other three received the experimental diets which possessed as a iron source, respectively: horse's spleen ferritin, the ground and heat treated ground soybean grain and soybean meal added of horse's spleen ferritin. The evolution of the recovery was accompanied by biochemical tests and at the end of 28 days of diet the animals were slaughtered and the blood collected for the dosages of hematocrit, hemoglobin, average cell hemoglobin concentration (CHCM) and serum iron. Both the spleen and liver were removed for total iron analysis and histopathology, the feces were collected in the last week, for verification of iron excretion. All the three experimental groups recovered from anemia, being that between the ferritin group and that of

soybean, there were not any statistic differences as to the levels of hemoglobin and hematocrit.

INDEX TERMS: iron, soybean, ferritin, iron bioavailability, anemia, rats.

1 INTRODUÇÃO

A deficiência de ferro atinge, atualmente, mais de 2 bilhões de pessoas no mundo inteiro. No Brasil, a anemia é considerada um problema de saúde pública, por se manifestar de forma endêmica: sua prevalência média no país é de 40%, atingindo principalmente gestantes, crianças e adolescentes. Ela atinge inclusive países desenvolvidos, como os Estados Unidos, onde existem cerca de 3,3 milhões de mulheres anêmicas. Para contornar o problema, muitos esforços têm sido empregados e muitas medidas já estão sendo aplicadas, como é o caso da fortificação de alimentos (nos EUA) e a rotina adotada por médicos de vários países de prescrever a suplementação de ferro para gestantes. Apesar de muito já estar sendo feito, todos os esforços para diminuir este problema mundial são válidos. Neste sentido, a soja vem sendo preconizada como uma auxiliar no combate à anemia (OMS/FAO, 1991; Soglia, 1996; Sandstead e Lofgren, 2000).

A soja é uma leguminosa cultivada em todo o mundo, sendo o Brasil o 2º maior país produtor deste grão, o que torna este alimento — que possui proteína e lipídeo de boa qualidade — muito acessível, tanto pela grande disponibilidade no mercado quanto pelo seu baixo custo, em relação aos produtos de origem animal. Além disso, a soja possui uma quantidade de ferro elevada, se comparada a outros alimentos de origem vegetal. Ele fica armazenado nos grãos de soja, principalmente sob a forma de ferritina, uma proteína globular armazenadora de ferro. Ela é considerada, por alguns pesquisadores, como uma fonte biodisponível de ferro, por possuir a característica de mantê-lo numa forma solúvel, fato de suma necessidade para a absorção deste mineral acontecer. A ferritina parece proteger o ferro que está ligado a ela, dos diversos fatores inibidores da sua absorção presentes na soja, como os taninos, ácido fítico, entre outros (Theil, 1987; Beard, Burton e Theil., 1996; Hurrell, Reddy e Cook, 1999).

O Instituto Agronômico de Campinas (IAC) vem realizando trabalhos de melhoramento genético de soja e a cultivar IAC PL1 tem sido estudada quanto às suas propriedades químicas e sensoriais (Barcelos, 1998). Foi também avaliada quanto ao seu conteúdo de ferro total e ferro solúvel (Yamada, 2001), apresentando-se como uma cultivar com considerável quantidade de ferro.

Com base nestas considerações, o presente trabalho visou testar a cultivar IAC PL-1, desenvolvida no Instituto Agronômico de Campinas, quanto à sua capacidade de promover a recuperação de ratos anêmicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no laboratório de Nutrição e Gnotobiologia do Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Belo Horizonte, MG.

2.1 Animais

Foram utilizados neste experimento trinta ratos albinos, da linhagem *Wistar*, fêmeas, recém-desmamados (aos 21 dias), divididos aleatoriamente em cinco grupos de seis animais. Eles foram mantidos em gaiola de tampo inoxidável e recipiente de acrílico, com bebedouros de bico em inox e em “cama” feita com papel higiênico picado, à temperatura ambiente em ciclo de claro e escuro, recebendo água destilada e deionizada e dieta *ad libitum*, durante 28 dias após o período de indução de anemia.

2.2 Dietas experimentais e distribuição nos grupos

O experimento foi dividido em duas fases: na primeira fase, o grupo de ratos, com exceção dos controles, recebeu dieta para induzir a uma depleção de ferro. Numa segunda fase, recebeu as dietas experimentais correspondentes aos tratamentos estabelecidos (Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5).

2.2.1 Fase de depleção

Durante 28 dias, 24 ratas receberam uma dieta pobre em ferro, que continha cerca de 4,23 mg de ferro/kg de dieta, chamada de dieta deficiente em ferro (DDF), com a finalidade de induzir anemia ferropriva (Tabela 1; Anexo A, Tabelas 1A e 2A). Foram realizadas coletas de sangue no 20º e 28º dias após a introdução das dietas, tendo a deficiência de ferro sido constatada no 28º dia.

TABELA 1 Composição da dieta deficiente em ferro¹ (g/100g de dieta).

Ingredientes	Quantidades (g/100g de dieta)
Amido de milho (carboidrato)	66,5
Caseína (proteína) ²	20,0
Óleo de soja (lipídeo)	6,0
Mistura salínica ²	5,0
Mistura vitamínica	1,0
Vitamina E	0,1
Celulose (fibras)	1,5

¹ American Institute of Nutrition, 1993 (AIN – 93), adaptada.

² Caseína e mistura salina sem fonte de ferro: caseína pura e mix salina AIN – 93G, Rhostrer, indústria e comércio

O grupo restante de seis animais foi chamado de grupo controle normal. Ele recebeu uma dieta de composição semelhante à da dieta deficiente, que diferia somente pelo tipo de mistura salínica, que possuía uma fonte de ferro, o sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$), o qual era acrescentado de forma a se obter níveis de cerca de 30 mg/kg de dieta, conforme AIN – 93 (Reeves et al., 1993) e Borel et al. (1996). Os ingredientes foram misturados e peneirados por pelo menos, três vezes e acrescidos de água destilada e deionizada para a confecção da ração. Esta, por sua vez foi armazenada em freezer a -15°C e oferecida aos animais durante o decorrer do experimento. Toda a água consumida pelos animais nos bebedouros era destilada e deionizada.

2.2.2 Fase de repleção

Após os 28 dias de dieta sem ferro, o sangue dos animais foi coletado da extremidade da cauda em *ependorfs* com EDTA 10%, para a dosagem do hematócrito e dos níveis séricos de hemoglobina. Os animais considerados deficientes em ferro, com níveis de hemoglobina de aproximadamente 8,0 g/dL, foram subdivididos em 4 grupos: grupo controle deficiente, grupo ferritina, grupo soja e grupo soja + ferritina, que constituiram, junto com o grupo controle, os cinco tratamentos, conforme mostra a Tabela 2.

TABELA 2 Distribuição das dietas para os animais experimentais.

Grupos	Primeira etapa (28 dias)	Segunda etapa (28 dias)
1 – Controle normal	Dieta normal (30mg Fe/kg de dieta)	Dieta normal
2 - Controle anêmico	Dieta deficiente em Ferro (DDF)	DDF
3 - Ferritina	DDF	DDF + Ferritina (30mg Fe/kg de dieta)
4 - Soja	DDF	Dieta à base de soja * (30mg Fe/kg de dieta)
5 – Soja + ferritina	DDF	Dieta à base de Soja* + Ferritina (30mg Fe/kg de dieta)**

* DDF + Soja moída e tratada termicamente como a única fonte de ferro.

** Ferro calculado considerando-se o valor de ferro total na soja (50% de Fe da soja e 50% de Fe da ferritina).

A ração experimental do 3º grupo, denominado *ferritina*, foi elaborada e oferecida durante 28 dias aos animais inicialmente deficientes em ferro e era

composta de DDF + ferritina de baço de cavalo (da Sigma – Aldrich) como fonte de ferro dietético (1,38 mL de ferritina/kg dieta, para perfazer um total de 30 mg Fe/kg dieta), como se pode observar na Tabela 3.

TABELA 3 Dieta para recuperação de ratos anêmicos do grupo ferritina¹.

Ingredientes	Quantidades (g)
Amido de milho (carboidrato)	q.s.p. ²
Caseína (proteína) ³	20,0
Óleo de soja (lipídeo)	6,0
Mistura salínica ³	5,0
Mistura vitamínica	1,0
Vitamina E	0,1
Celulose (fibras)	1,5
Ferritina de baço de cavalo	0,138 mL

¹ American Institute of Nutrition, 1993 (AIN – 93), adaptada.

² Quantidade suficiente para completar 100g de ração.

³ Caseína e mistura salina sem fonte de ferro: caseína pura e mix salina AIN – 93, Rhoster

A dieta experimental do grupo 4, denominado *Soja*, foi elaborada e oferecida durante os 28 dias e era composta por DDF + soja moída e tratada termicamente a 95 °C/ 1h (SMTT), conforme descrito por Beard, Burton e Theil (1996). Neste grupo, a fonte de ferro provinha somente da farinha de soja. Foram consideradas as quantidades de proteína, lipídeos e carboidratos da soja,

para o cálculo das quantidades de caseína, óleo de soja e amido de milho, respectivamente. Como as dietas foram ajustadas para terem a mesma quantidade de ferro, a dieta da soja ficaria com um teor de lipídeos maior que as outras e para diminuir as diferenças entre os grupos experimentais, houve um ajuste na quantidade de lipídeos das dietas em relação a SMTT (Tabela 4).

TABELA 4 Dieta para recuperação de ratos anêmicos do grupo Soja¹.

Ingredientes	Quantidades (g) em 100g de dieta
Amido de milho (carboidrato)	q.s.p.
Caseína (proteína) ²	11,25
Óleo de soja (lipídeo)	6,0
Mistura salínica ²	5,0
Mistura vitamínica	1,0
Vitamina E	0,1
Celulose (fibras)	1,5
Soja	24,75

¹ American Institute of Nutrition, 1993 (AIN – 93), adaptada.

² Caseína e mistura salina sem fonte de ferro: caseína pura e mix salina AIN – 93, Rhoster

A ração experimental do 5º grupo, denominado soja + ferritina (Tabela 5), foi elaborada e oferecida durante 28 dias e se compunha de DDF + SMTT +

ferritina de baço de cavalo (Sigma-Aldrich), numa proporção de 50% de ferro da soja e 50% de ferro da ferritina, para perfazer um total de 30mg de ferro/kg de dieta (123,33 g de SMTT acrescida de 0,7 mL de ferritina de baço de cavalo por quilo de dieta), adaptado de Beard Burton e Theil (1996). Para este cálculo de ferro, consideraram-se os valores de ferro total presente na soja (101,93 mg/kg). A ferritina continha valores aproximados de ferro de 18 mg de ferro/mL de solução.

TABELA 5 Dieta para recuperação de ratos anêmicos do grupo teste.

Ingredientes	Quantidades (g/100g)
Amido de milho (carboidrato)	q.s.p.
Caseína (proteína) ²	15,62
Óleo de soja (lipídeo)	3,5
Mistura salínica ²	5,0
Mistura vitamínica	1,0
Vitamina E	0,1
Celulose (fibras)	1,5
Soja	12,33
Ferritina de baço de cavalo	0,07 ml

¹ American Institute of Nutrition, 1993 (AIN – 93), adaptada.

² Caseína e mistura salina sem fonte de ferro: caseína pura e mix salina AIN – 93, Rhoster

No início da fase de repleção, após a detecção da deficiência de ferro, os animais foram pesados antes da introdução das dietas experimentais. Nesta fase realizaram-se coletas de sangue da extremidade da cauda dos ratos aos 12º, 20º e 28º dia, para determinação de hematócrito e hemoglobina. O controle do consumo de dieta foi feito diariamente após a introdução das dietas.

No 28º dia da segunda fase, observaram-se diferenças estatísticas entre a hemoglobina e o hematócrito dos grupos experimentais. Os ratos foram então deixados em jejum durante 12 horas e, posteriormente, anestesiados com éter etílico e sacrificados, coletando-se o sangue por punção da aorta abdominal, após incisão abdominal, para determinação do hemograma e ferro sérico. O fígado e o baço foram retirados, lavados em solução fisiológica e congelados a -70°C para análise de ferro total e análise histológica.

2.3 Análises químicas e bioquímicas

2.3.1 Determinação de hemoglobina e componentes sanguíneos

A hemoglobina sanguínea foi determinada pelo método da cianometahemoglobina (AOAC, 1990), no Laboratório de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG, em aparelho para dosagem automática do tipo Coulter, que dosou também o hematócrito, número de hemácias, volume celular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina celular média (CHCM).

O método é colorimétrico e se baseia na oxidação do ferro da hemoglobina (Fe^{2+}) pelo ferricianeto de potássio (solução de Drabkin), transformando-a em hemiglobina. Ela combina-se com o cianeto ionizado para produzir cianeto de metahemoglobina, que pode ser medido por espectrofotometria a 540 nm.

2.3.2 Determinação do ferro sérico

O ferro sérico foi determinado no soro sem hemólise obtido do sangue dos animais em jejum, que foi centrifugado em 2500 rpm durante 15 minutos, em centrífuga de mesa FANEM EXCELSA BABY 206.

O método utilizado para o doseamento do ferro sérico é colorimétrico, metodologia de Goodwin modificada, e se baseia no fato de que em meio ácido e por ação da guanidina, o ferro ligado à transferrina se dissocia em íon férrico que, por ação da hidroxilamina, é reduzido a íon ferroso. Com a adição do cromógeno Ferrozine, forma-se um complexo magenta brilhante, cuja absorbância medida em 560 nm é proporcional à concentração de ferro na amostra.

Utilizou-se para esta determinação, o *kit* para diagnóstico *in vitro* da ANALISA Diagnóstica LTDA.

2.2.3 Determinação do ferro total do fígado e do baço

O ferro total do fígado e do baço dos animais foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica, segundo AOAC (1990).

Para esta dosagem, os órgãos congelados foram secos em estufa ventilada a 65°C e submetidos à digestão nitro-perclórica para posterior leitura em espectrofotômetro de absorção atômica da marca Varian, Spectr AA, 100, de acordo com as técnicas descritas na AOAC (1990).

2.4 Análises histopatológicas

O fígado e o baço de cada animal, após serem retirados, foram lavados em solução salina fisiológica e armazenados temporariamente em solução de formol em tampão salina-fosfato (formol à 10% em PBS), para posterior processamento histológico e inclusão em blocos de parafina para obtenção dos cortes histológicos.

Foram feitos cinco cortes seriados de 5 micrômetros tanto do fígado quanto do baço que, posteriormente, foram corados segundo a técnica de hematoxilina e eosina (H&E), e analisados microscopicamente por um patologista.

2.5 Delineamento estatístico

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). O experimento foi dividido em cinco tratamentos com seis repetições para cada grupo. Os resultados foram analisados por meio de análise de variância e teste F e os efeitos dos tratamentos, quando significativos, estudados pela comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico MSTATC.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Fase de depleção

As dosagens de hemoglobina durante a fase de indução de anemia encontram-se na Tabela 1. Os ratos foram considerados deficientes em ferro quando houve diferença estatística entre os animais dos grupos experimentais e o grupo controle, sem que houvesse diferença estatística entre os animais que receberam dieta hipoférrica, que continha apenas 4,23 mg de ferro/kg de dieta.

TABELA 1 Níveis de hemoglobina (g/dL) e hematócrito (%) dos ratos dos cinco tratamentos, dosados ao 28º dia após a introdução da dieta controle (30 mg de Fe/kg de dieta) e da dieta hipoférrica (4,23 mg/kg de Fe).

Tratamentos	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)
Controle normal	11,318 ± 1,63 a	31,542 ± 4,46 a
Controle anêmico	8,533 ± 1,16 b	24,967 ± 4,04 b
Ferritina	8,333 ± 1,39 b	22,600 ± 5,47 b
Soja	8,400 ± 1,20 b	24,217 ± 3,72 b
Soja + Ferritina	8,067 ± 1,13 b	22,550 ± 4,24 b
Teste F	6,276**	4,221**
C.V (%)	14,73	17,58

**F significativo a 1%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey

O nível médio de hemoglobina dos animais em fase de depleção foi de 8,3 mg/dL, o que foi alcançado com 28 dias de dieta pobre em ferro. Tal índice

de hemoglobina indica um grau de anemia moderado, mas que já é capaz de provocar uma diminuição dos estoques de ferro teciduais, como observado por Borel et al. (1996).

3.2 Fase de repleção

3.2.1 Consumo de dieta e peso de animais

Nas Figuras 1 e 2 estão representados o consumo de dieta (média diária) de cada grupo experimental e a evolução média do peso durante o experimento, respectivamente. O consumo de dieta foi maior no grupo de animais que consumiram a soja. O segundo maior consumo foi o do grupo controle, seguido pelo da ferritina e o da soja com ferritina, sendo que estes dois não diferiram entre si.

O grupo com menor consumo de dieta foi o grupo anêmico.

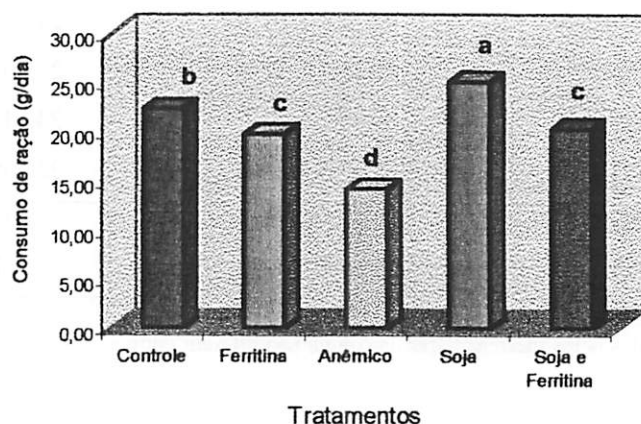


FIGURA 1 Consumo médio de dieta (g/dia) dos cinco grupos experimentais, durante os 28 dias da fase de recuperação, após a introdução das dietas. Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si, 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

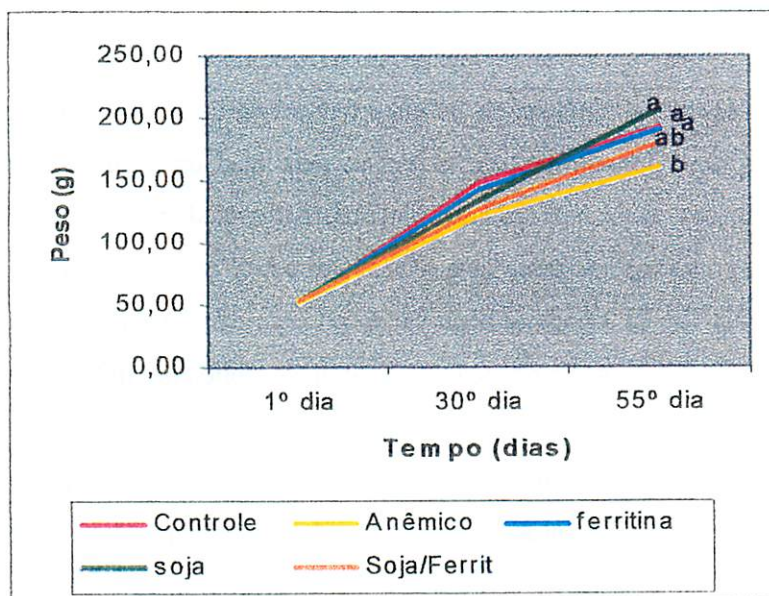


FIGURA 2 Evolução do ganho de peso (g) dos animais durante todo o experimento. Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A evolução de peso dos animais foi diretamente proporcional à ingestão de dieta, sendo que todos os grupos experimentais foram estatisticamente iguais ao controle e estatisticamente diferentes do grupo anêmico ao 28º dia após a introdução das dietas. Apesar do fato de o grupo da soja com ferritina não ter diferido também do grupo anêmico quanto ao peso dos animais, observou-se que houve normalização do crescimento nos ratos em recuperação de anemia, em comparação com o controle, sendo que esta recuperação foi menor no grupo da soja com ferritina. Os pesos do início do experimento e do 30º dia (época que foram introduzidas as dietas experimentais) não diferiram estatisticamente entre si.

O fato de ambas as dietas que continham ferritina terem consumo estatisticamente igual e ainda menor que o consumo das dietas de soja e controle normal, levanta a hipótese de os ratos terem rejeitado o sabor das dietas com ferritina. Isso poderia explicar o motivo pelo qual estes animais consumiram menos dieta e, conseqüentemente, pode ter representado a diferença de ganho de peso do grupo soja+ferritina com relação aos outros grupos experimentais.

Na Tabela 2 pode-se observar o consumo diário médio de ferro ($\mu\text{g}/\text{dia}$), a perda nas fezes e a sua retenção pelos animais, obtida por diferença.

TABELA 2 Ingesta, perda e retenção média de ferro ¹ ($\mu\text{g}/\text{dia}$) dos ratos dos cinco tratamentos, durante a fase de recuperação.

Tratamentos	Ingesta de Fe ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	[Fe] nas fezes ($\mu\text{g}/\text{dia}$)	Retenção de Fe ($\mu\text{g}/\text{dia}$)
Controle	674,70 a	592,74 a	76,3
Anêmico	59,81 c	52,34 c	7,5
Ferritina	709,02 a	161,70 bc	547,3
Soja	685,90 a	129,58 bc	556,3
Soja/Ferritina	630,60 b	120,99 bc	509,6
Teste F	820,279**	180,4**	—
CV (%)	4,29	13,22	—

**F significativo a 1%

*F significativo a 5%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

¹ Ferro total dosado por espectrofotometria de absorção atômica.

Como era de se esperar, a excreção de ferro foi menor para os grupos em recuperação de anemia e, portanto, a retenção de ferro foi maior nestes grupos (a absorção de ferro no intestino aumenta durante estados de carência deste mineral).

A Tabela 3 faz uma relação entre o peso dos animais, seu consumo diário de ração e a quantidade diária de ferro ingerida por cada grama de peso corporal dos animais.

TABELA 3 Ingestão diária média de ração e de ferro ¹ (µg/dia), peso médio durante a fase de recuperação e ingestão média de ferro µg/g de peso corporal dos ratos dos cinco tratamentos.

Tratamentos	Ingestão de ração (g/dia)	Ingestão de Fe (µg/dia)	Peso médio dos animais (g)*	Ingestão de Fe (µg/g de peso corporal)
Controle	22,49 b	674,70 a	170,48	3,98 a
Anêmico	14,15 d	59,81 c	141,08	0,42 b
Ferritina	19,75 c	709,02 a	167,45	4,23 a
Soja	25,07 a	685,90 a	170,27	4,06 a
Soja/Ferritina	20,27 c	630,60 b	154,19	4,09 a
Teste F	150,02**	820,279**	-	149,157**
CV (%)	3,98	4,29	-	9,8

* Média de peso dos animais no período de recuperação.

**F significativo a 1%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

¹ Ferro total dosado por espectrofotometria de absorção atômica.

Observando-se os dados da Tabela 3, percebe-se que, apesar de ter havido diferença estatística entre os grupos quanto à ingestão de ração, não houve diferença quanto à ingestão diária de ferro, quando a relacionamos ao peso corporal dos animais. Tal fato nos leva a supor que a diferença de peso entre os grupos experimentais, principalmente o da soja+ferritina, deve-se mais ao maior consumo de nutrientes calóricos (como lipídeos e carboidratos) do que a um retardo de crescimento provocado pela deficiência de ferro na alimentação.

3.2.2 Hemoglobina, hematócrito e componentes sanguíneos

A biodisponibilidade do ferro solúvel da soja foi testada pela comparação da recuperação da anemia dos ratos alimentados com dietas contendo, cada uma delas, diferentes fontes de ferro: uma com a ferritina de baço de cavalo, outra com a soja pura e outra com a soja acrescida de ferritina. Em todos os três casos, a recuperação foi satisfatória, como demonstram os índices de hemoglobina e hematócrito (Tabelas 4 e 5).

Comparando-se as dietas de ferritina, soja e soja com ferritina, com o controle normal (com FeSO_4), verifica-se que os níveis de hemoglobina e hematócrito não diferiram entre si, sendo estatisticamente iguais, no 28º dia da fase de recuperação. O grupo da ferritina teve um nível de hemoglobina que correspondeu a 88,72% do valor controle e, apesar de ser o mais baixo entre as três rações testadas, foi maior que o valor do controle anêmico, pelo teste de Tukey. Já os ratos alimentados com dieta à base de soja tratada termicamente obtiveram um ganho médio de hemoglobina de 90,5% dos níveis do controle e os animais do grupo que recebeu a soja tratada adicionada de ferritina, atingiram 97% do valor de hemoglobina dos animais controles. Tais resultados indicam que a ferritina e a soja tratada termicamente foram capazes de curar a anemia dos ratos.

Comparando-se os dados de hematócrito também verifica-se que houve diferença estatística entre os três grupos teste e os animais anêmicos, e que não houve diferença estatística entre estes três grupos e o controle normal, no nível de 1% de probabilidade pelo teste F. Com base nestes dados, podemos dizer que o hematócrito dos ratos, em recuperação da deficiência de ferro, alcançou a normalidade no 28º dia de tratamento com as dietas à base de soja tratada termicamente e com ferritina como fonte de ferro.

Estes resultados também foram encontrados por Beard, Burton e Theil (1996) em um estudo que testava a biodisponibilidade de ferro de variedades de soja cultivadas nos EUA.

Quanto aos índices de concentração de hemoglobina celular média (CHCM), número de hemácias e volume celular médio (VCM) não foi detectada diferença estatística significativa entre os tratamentos.

TABELA 4 Níveis de hemoglobina (g/dL) dos ratos dos tratamentos, dosados aos 12º, 20º e 28º dias após a introdução das dietas teste: ferritina (35,9mg de Fe/kg), soja tratada (27,36 mg de Fe/kg) e da dieta de soja com ferritina (31,11 mg de Fe /kg).

Tratamentos	Hemoglobina (g/dl)		
	12º dia	20º dia	28º dia
Controle normal	13,233 ± 0,92 a	12,600 ± 1,48 a	13,300 ± 1,62 a
Controle anêmico	9,967 ± 1,73 bc	8,973 ± 1,22 c	8,683 ± 1,20 b
Ferritina	10,183 ± 1,75 bc	9,950 ± 0,35 b	11,800 ± 1,66 a
Soja	8,733 ± 1,11 c	11,483 ± 1,17 a	12,083 ± 0,79 a
Soja + Ferritina	8,150 ± 1,87 c	11,467 ± 1,54 a	12,933 ± 0,81 a
Teste F	11,846**	7,035**	12,343**
C.V (%)	14,58	11,07	10,82

**F significativo a 1%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

TABELA 5 Níveis de hematócrito (%) dos ratos dos tratamentos, dosados aos 12º, 20º e 28º dias após a introdução das dietas teste: ferritina (35,9mg de Fe/kg), soja tratada (27,36 mg de Fe/kg) e da dieta de soja com ferritina (31,11 mg de Fe /kg).

Tratamentos	Hematócrito (%)		
	12º dia	20º dia	28º dia
Controle normal	34,200 ± 6,93 a	34,583 ± 4,12 a	32,350 ± 8,93 a
Controle anêmico	32,587 ± 5,26 ab	31,933 ± 2,49 a	34,783 ± 4,48 a
Ferritina	24,150 ± 4,95 bc	23,120 ± 3,28 b	23,950 ± 2,59 b
Soja	25,417 ± 2,72 bc	31,750 ± 3,39 a	34,083 ± 2,59 a
Soja + Ferritina	23,083 ± 4,53 c	33,300 ± 5,47 a	36,017 ± 2,78 a
Teste F	6,156**	8,116**	5,091**
C.V (%)	18,14	12,56	16,23

**F significativo a 1%

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A Figura 3 apresenta as concentrações de ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$). Os níveis de ferro sérico foram estatisticamente maiores para os grupos ferritina, soja e soja com ferritina, não diferindo entre si. O ferro sérico do grupo ferritina e o da soja foram, inclusive, maiores que o ferro sérico do grupo controle. Já o grupo soja com ferritina não diferiu estatisticamente do grupo controle, quanto ao teor de ferro sérico. O grupo de ratos anêmicos apresentou os menores índices de ferro circulante no soro, sendo diferente de todos os outros grupos, com 99% de probabilidade de acerto.

O ferro está presente no soro associado a uma proteína: a apotransferrina e mantém uma relação estreita com os estoques de ferro do organismo. Quando seu nível está baixo, é um indicativo de alteração no metabolismo do ferro (que envolve a eritropoiese) e como é um valor que dá idéia de como estão os estoques de ferro por todo o organismo, pode indicar que estes estejam baixos também (British Nutrition Foundation, 1995).

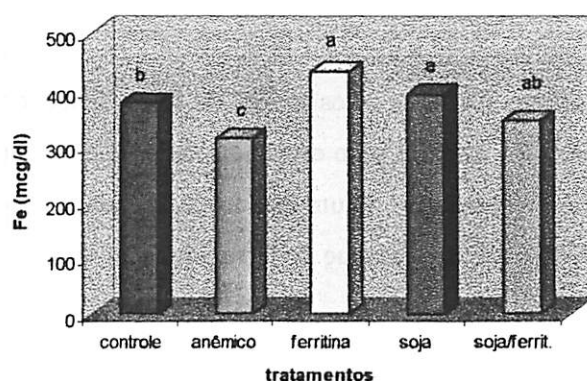


FIGURA 3 Teores médios de ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$) dos ratos alimentados com dietas que tinham como fonte de ferro: a soja tratada termicamente, a ferritina de baço de cavalo e a soja tratada termicamente associada com a ferritina; dosados no 28º dia após a introdução das dietas. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A transferrina sérica ou plasmática é o parâmetro mais sensível do balanço de ferro negativo, pois ela cai somente com deficiência de ferro verdadeira (Mahan e Scott-Stump, 1998). Portanto, pode-se perceber que os grupos alimentados com a soja e a ferritina saíram do seu estado de balanço negativo de ferro, apesar de não ter sido detectada, nos tecidos, a completa recuperação em seus estoques de ferro, pois seus valores se mantiveram no limite mínimo do normal, como podemos notar na Figura 4, onde estão representados os valores do ferro total do fígado.

Segundo a British Nutrition Foundation (1995), o ferro no fígado varia normalmente de 167,538 a 1675,38 $\mu\text{g/g}$ de peso seco. O fato de os níveis de ferro de estoque no fígado estarem no limite mínimo da faixa considerada como referência para o normal, sugere duas possibilidades: ou a soja IAC PL-1 não foi tão eficiente para a recuperação dos ratos anêmicos quanto à ferritina e o FeSO_4

isoladamente, ou talvez não tenha havido tempo suficiente de consumo das dietas com soja para que acontecesse a normalização dos estoques de ferro neste órgão. Isto, principalmente quando consideramos a normalização dos níveis de hemoglobina e hematócrito e os altos níveis de ferro sérico dos animais que consumiram a dieta com a soja. Como estes dois dados são um indicativo de que estes ratos estão em recuperação de um estado de anemia, pode-se esperar que também haja normalização dos estoques de ferro nestes animais.

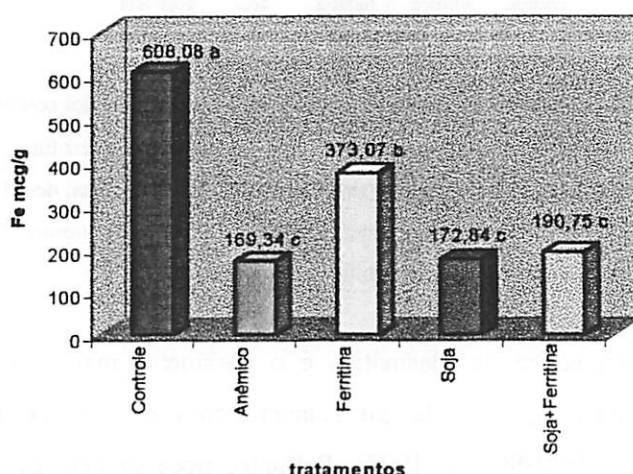


FIGURA 4 - Teores médios de ferro total ($\mu\text{g/g}$) no fígado de ratos, dosados ao final dos 28 dias de dieta experimental (baseado em matéria seca). Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tais resultados diferem um pouco do experimento realizado por Beard, Burton e Theil (1996), que usaram outra cultivar de soja (o Tokyo). Essa diferença pode ter sido devida a dois fatores: primeiro, a cultivar Tokyo pode possuir maiores quantidades de ferro solúvel que a IAC PL-1 ($39,0 \mu\text{g/g}$ e $26,82 \mu\text{g/g}$, respectivamente), e segundo porque os teores de ferro da dieta de

soja com ferritina eram 76% maiores no experimento com a cultivar Tokyo (55mg de Fe/kg de dieta) que os teores utilizadas neste experimento (31,11 mg de Fe/kg de dieta). Talvez, as diferenças observadas por estes pesquisadores entre os animais alimentados com a dieta de soja e aqueles da dieta de soja com ferritina, estejam relacionadas ao aumento da quantidade total de ferro ingerida, o que não ocorreu com a dieta feita com a IAC PL-1 que, além disso, manteve uma proporção de 50% de ferro da soja e 50% de ferro vindo da ferritina de baço de cavalo.

Quanto à concentração de ferro no baço dos animais, não foi detectada diferença significativa entre os grupos experimentais e o grupo anêmico, mas houve diferença estatística entre o controle normal e os demais grupos, como mostra a Figura 5. Como o baço é também um órgão de armazenamento de ferro, pode-se dizer que a recuperação destes níveis de ferro pode não ter sido notada pelo fato de a cultivar não possuir um ferro biodisponível como o FeSO_4 ou simplesmente porque o tempo de consumo da dieta à base de soja, para o completo restabelecimento dos estoques deste mineral no baço, não foi suficiente.

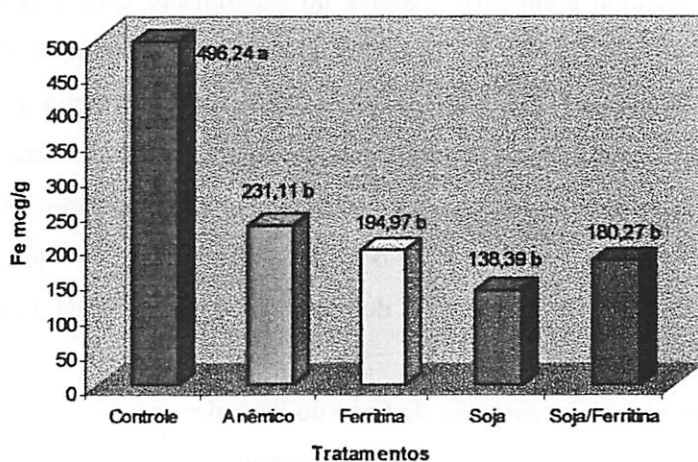


FIGURA 5 Concentração média de ferro total ($\mu\text{g/g}$) no baço dos animais dos cinco tratamentos, dosados ao 28º dia após a introdução das dietas experimentais (dados com base em matéria seca). Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si, a 1% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

3.3 Análises histopatológicas

Na Figura 6 pode-se observar o aspecto histológico do fígado dos ratos.

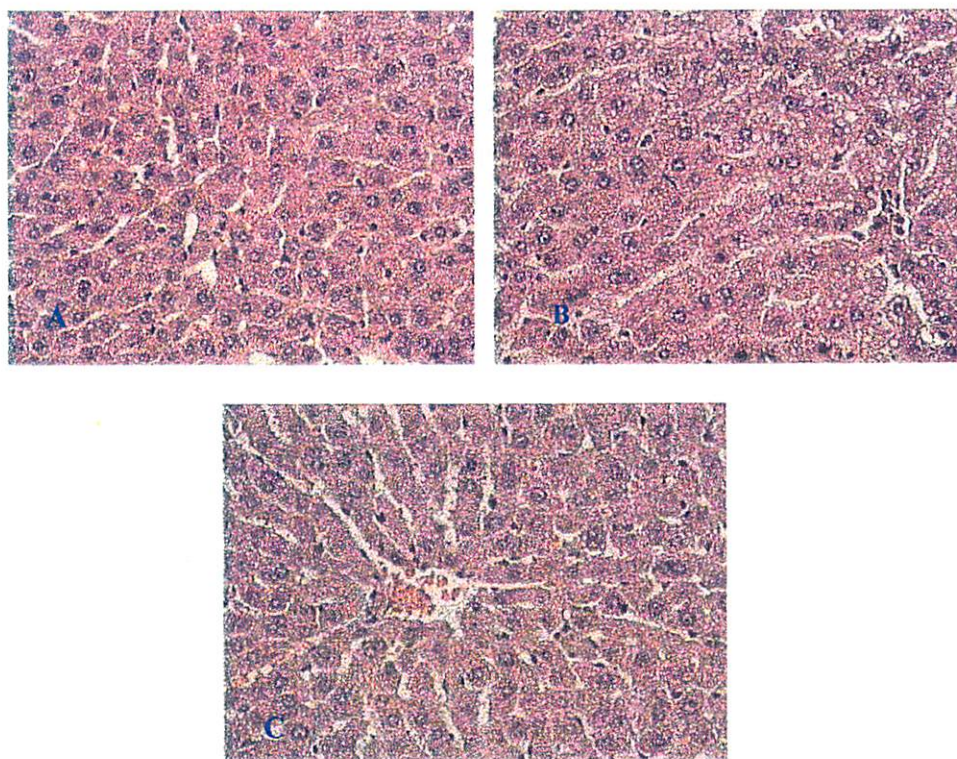


FIGURA 6 Aspecto histológico do fígado dos ratos controle (A), anêmicos (B), e do grupo soja (C), no 28º dia após a introdução das dietas experimentais.

Tanto a histopatologia do fígado quanto a do baço não apresentaram alterações significativas que pudessem indicar algum efeito tóxico da soja.

O que observou-se foi somente uma discreta a moderada esteatose hepática macro e microvacuolar, predominantemente periportal, em todos os grupos. Estas alterações, entretanto, têm sido descritas em animais de biotério, alimentados com ração comercial, não se correlacionando com dano funcional hepático importante.

De acordo com o laudo do patologista, os grupos ferritina, soja e soja com ferritina não tiveram alterações comparativamente significativas.

Com relação aos baços, todos os trinta animais mostraram aspectos muito semelhantes entre si, sem grandes variações relacionadas com a distribuição nos grupos.

Tais verificações nos levam a concluir que a alimentação com a soja não provocou danos ao fígado ou ao baço dos animais.

5 CONCLUSÕES

Todos os grupos de animais que receberam as dietas experimentais ferritina, soja e soja + ferritina se recuperaram da anemia.

A dieta à base de soja (cultivar IAC PL-1) moída e tratada termicamente a 95°C por uma hora foi capaz de recuperar os níveis de hemoglobina, hematócrito e ferro sérico de ratos wistar fêmeas, mas não recuperou plenamente os estoques de ferro no fígado e baço em relação aos animais controle, no período de 28 dias de dieta à base de soja e soja com ferritina (sendo que estes órgãos não sofreram nenhuma alteração funcional importante).

A soja moída e tratada termicamente a 95°C/1h também foi capaz de recuperar o crescimento destes animais e seu ganho de peso, podendo ser considerada como uma auxiliar no tratamento de anemia ferropriva em ratos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, AOAC. Official methods of analysis. 15.ed. Washington, 1990. v. 1/2.

BARCELOS, M.F.P. Ensaio tecnológico, bioquímico e sensorial de soja e guandu enlatados no estágio verde e maturação de colheita. Campinas:UNICAMP, 1998. (Tese-Doutorado em Ciência da Nutrição).

BEARD, J.L; BURTON, J.W.; THEIL, E.C. Purified ferritin and soybean meal can be sources of iron for treating iron deficiency in rats. Journal of Nutrition, v.126, p.154-160, 1996.

BOREL, M.J.; SMITH, S.H.; BRIGHAM, D.E.; BEARD, J.L. The impact of varying degrees of iron nutriture on several functional consequences of iron deficiency in rats. Journal of Nutrition, v.121, p.729-736, 1996

BRITISH NUTRITION FOUNDATION. Iron Nutritional and physiological significance. London: Chapman & Hall, 1995. 186p.

HURRELL, R.F.; REDDY, M., COOK, J.D. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. British Journal of Nutrition. v.81, p 289 – 295, 1999.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. Krause alimentos nutrição e dietoterapia. 9.ed. São Paulo: Roca, 1998, 1179p.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY JR. G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet. Journal of Nutrition. v.123, p.1939 – 1951, 1993.

SANDSTEAD, H.H.; LOFGREN, P.A. Introduction symposium: dietary zinc and iron-recent perspectives regarding growth and cognitive development. Journal of Nutrition. v.130, p.345-346, 2000. Suplemento.

SOGLIA, S.L.O. Enriquecimento de leite tipo C com ferro aminoácido quelato: biodisponibilidade e características físico-químicas e sensoriais. Viçosa: Imprensa Universitária, 1996. 93p.

THEIL, E.C. Ferritin: struture, gene regulation, and celular function in animals, plants, and micro organismms. Annual Review Biochemistry, v.56, p.289-315, 1987.

YAMADA, L.T.P. Estudo químico e determinação do conteúdo de ferro solúvel em soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Lavras: UFLA, 2001. Cap.2, p.45-63. (Dissertação - Mestrado).

ANEXOS

ANEXO A

TABELA 1A	Composição da mistura mineral sem ferro utilizada no preparo das dietas.....	97
TABELA 2A	Composição dos ingredientes da mistura de vitaminas utilizada no preparo das dietas.....	98

TABELA 1A Composição da mistura mineral sem ferro utilizada no preparo das dietas.¹

Ingredientes	Quantidades por 100g de produto	
Ácido bórico	Boro	1,426 mg
Carbonato de cálcio	Cálcio	14,294 g
Carbonato de cobre	Cobre	17,241 mg
Carbonato de manganês	Manganês	30,000 mg
Carbonato de níquel	Níquel	1,431 mg
Carbonato de zinco	Zinco	86,000 mg
Citrato de potássio	Potássio	10,287 g
Cloreto de lítio	Lítio	0,285 mg
Cloreto de sódio	Sódio	2,938 g
Fluoreto de sódio	Flúor	2,872 mg
Fosfato monopotássico	Fósforo	4.461g
Iodato de potássio	Iodo	0,593 mg
Metassilicato de sódio	Silício	14,326 mg
Óxido de magnésio	Magnésio	1,448
Paramolibdato de amônia	Molibdênio	0,432 mg
Selenato de sódio	Selênio	0,428 mg
Sulfato de cromo e potássio	Cromo	2,865 mg
Sulfato de potássio	Enxofre	0,860 g
Vanadato de amônia	Vanádio	0,287 mg

¹ Mix salina AIN-93G, sem ferro da Rhostr indústria e comércio.

TABELA 2A Composição dos ingredientes da mistura de vitaminas utilizada no preparo das dietas.

Ingredientes	Quantidade em 100g
Tiamina – B1	60,00 mg
Riboflavina – B 2	60,00 mg
Piridoxina – B 6	70,00 mg
D- pantotenato de cálcio	160,00 mg
Ácido nicotínico	300,00 mg
Ácido fólico	20,00 mg
D – biotina	2,00 mg
Cianocobalamina – B 12	0.10 mg
Retinil palmitato	600,00 mg ou 40.000 UI
DL – alfa tocoferol acetato E	500,00 mg ou 500 UI
Colecalciferol – D	0,25 mg
Menadiona – vit. K	0,50 mg
Sacarose	q.s.p 100,00g

Fonte: adaptada da AOAC (1984).