


 UFAL	<p><b>Universidade Federal de Alagoas</b> Instituto de Química e Biotecnologia</p> <p><b><i>Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia</i></b> <b>PPGQB</b></p>	 IQB
-------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------

**BIODISPONIBILIDADE DE FERRO EM FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS L.*) USANDO O <sup>59</sup>FE MARCADO INTRINSECAMENTE**

PRISCILA BRIGIDE

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana  
Co-orientador: Prof. Dr. Adibe Luiz Abdalla

Maceió - AL  
Março de 2009

 UFAL	<p><b>Universidade Federal de Alagoas</b> Instituto de Química e Biotecnologia</p> <p><b><i>Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia</i></b> <i>PPGQB</i></p>	 IQB
-------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------

**BIODISPONIBILIDADE DE FERRO EM FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS L.*) USANDO O <sup>59</sup>FE MARCADO INTRINSECAMENTE**

PRISCILA BRIGIDE

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências. Área de Concentração: Química Orgânica e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana  
Co-orientador: Prof. Dr. Adibe Luiz Abdalla

Maceió – AL  
Março de 2009

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecária Responsável: Cláudio César Temóteo Galvino

B854d Brigide, Priscila.

Disponibilidade de ferro em feijão (*Phaseolus vulgaris*) usando o  $^{59}\text{Fe}$  marcado intrinsecamente / Priscila Brigide. – 2009.

104 f.: il.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana.

Co-orientador: Adibe Luiz Abdalla.

Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2009.

Bibliografia: f. 83-94.

Apêndice: f. 95-104.

1. Ferro. 2. Biodisponibilidade. 3. Marcação intrínseca. 4. Anemia. I. Título.

CDU: 546.72:612.392.4

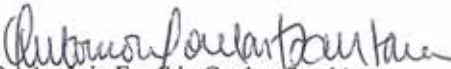


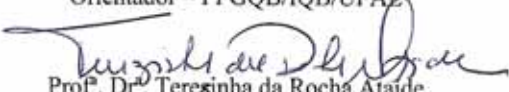
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**  
Instituto de Química e Biotecnologia  
Universidade Federal de Alagoas  
Tel. 55 82 3214-1384 Fax. 55 82 3214-1389  
www.cpgqb@qui.ufal.br

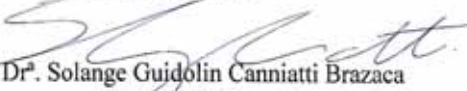
Campus A. C. Simões  
Tabuleiro dos Martins  
57072-970  
Maceió-AL  
Brasil

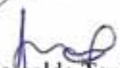
Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de Priscila Brigide intitulada: "Biodisponibilidade de Ferro em Feijão *Phaseolus vulgaris L.* usando o <sup>59</sup> **Ferro marcado intrinsecamente**", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 02 de março de 2009, às 8h na sala de aula do PPGQB/UFAL.

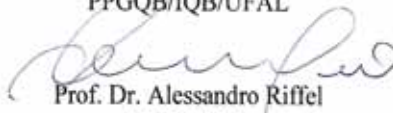
COMISSÃO JULGADORA

  
Prof. Dr. Antonio Euzébio Goulart Sant'Ana  
Orientador - PPGQB/IQB/UFAL

  
Prof. Dr. Teresinha da Rocha Ataíde  
EANUT/UFAL

  
Prof. Dr. Solange Guidolin Canniatti Brazaca  
ESALQ/USP

  
Prof. Dr. Josealdo Tonholo  
PPGQB/IQB/UFAL

  
Prof. Dr. Alessandro Riffel  
EMBRAPA

## **DEDICO**

*Aos meus pais*

***Maria Helena Verderame Brigide e Lauriberti Brigide***

*Com todo amor e infinita gratidão;*

*Aos meus irmãos*

***Cintia , Giuliano e Lauriberti Filho***

*Presenças constantes em minha vida, com amizade, incentivo e companheirismo;*

*E aos meus sobrinhos*

***Diogo França Brigide, Ramón França Brigide, João de Moura Brigide, Catarina França Brigide***

*Fontes de alegria, amor e de luz na minha vida.*

*“Num mundo onde não se consigam obter condições de vida similares para todos os homens ao nascer, se produzirão conseqüentemente grandes contrastes nos futuros níveis de saúde e capacidade intelectual dessas populações. Ter ou não ter o que comer diferencia mais do que raça do que cor”*

*Josué de Castro*

## AGRADECIMENTOS

*Extremamente prazeroso registrar toda a minha gratidão a todos que colaboraram neste esforço.*

*À Deus por iluminar a caminhada da vida e colocar essas pessoas especiais ao longo dessa jornada.*

*As Instituições*

- *UFAL (Instituto de Química e Biotecnologia e Faculdade de Nutrição)*
- *CENA/USP*
- *CNPq*
- *CAPES*
- *FAPEAL*

*Que proporcionaram suporte técnico-científico e financeiro ao trabalho desenvolvido.*

*Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana pela oportunidade e incentivo na realização desta pesquisa, com seu constante estímulo, competência e sabedoria. Ao professor deixo registrada uma mensagem escrita por Albert Einstein.*

*"A coisa mais bela que o homem pode experimentar é o mistério. É essa emoção fundamental que está na raiz de toda ciência e toda arte." Albert Einstein*

*Ao Prof. Dr. Adibe Luiz Abdalla por todo o apoio e participação fundamental para realização deste trabalho.*

*À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Terezinha da Rocha Atafde pela amizade e por toda a sua valiosa contribuição, incentivo, orientação, ensinamentos, sugestões sabiamente transmitidos durante a realização da pesquisa; com disposição infinita em ajudar sempre que necessário.*

*Ao Prof. Dr. Antônio Sampaio Baptista pela preciosa amizade, apoio e orientação fundamental na execução da metodologia, com dedicação, sabedoria, opiniões enriquecedoras, sugestões, críticas e por sempre mostrar o caminho para seguir em frente, pelo qual serei eternamente grata.*

*À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Solange Guidolin Canniatti-Brazaca a quem devo o aprendizado dos princípios básicos para a realização deste estudo, pela presença novamente na minha formação profissional, sempre disposta a ajudar, com paciência, atenção, amizade e com incentivo a continuar na caminhada.*

*Aos técnicos do LANA/CENA/USP, Lécio A. Castilho, Maria Regina R.S. Peçanha pela grande contribuição no trabalho experimental.*

*A todos que me acolheram e auxiliaram no CENA: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Dorinha S.S. Vitti , Prof. Dr. Virgílio Franco Nascimento Filho, Fernanda C. Campos , Mariana Novello, Joaquim Everaldo M. dos Santos, Eduardo de Almeida, Francisco Carlos Montrazi, José Lavres Júnior.*

*À mais que amiga Josélia Barros Monteiro pela valiosa amizade, apoio, cumplicidade e compreensão dos momentos difíceis, até mesmo quando distante fisicamente. Agradeço as nossas conversas, os seus conselhos, a sua espiritualidade, a sua fé em Deus. Minha eterna gratidão.*

*Ao Bernardo Ferraz Pinheiro pela convivência, companheirismo, apoio constante, compreensão dos momentos difíceis e carinho.*

*E as amigas Tanimara Soares da Silva, Patrícia B. Godoy, Sueli de Melo Santana, Zaide Clemente, Karla Porto, Walkyria Quirino Costa, Élica Guedes, Cenira C. Monteiro, Maria Emilia Menezes, Cristhiane Omena, e ao amigo Jefferson Oliveira que sempre me brindaram com palavras de entusiasmo e apoio, nos momentos*



*agradáveis e também nos momentos árduos e difíceis da jornada. Construí muitas amizades que ficarão presentes por toda minha vida.*

*À Profª. Drª. Sônia Maria de Stefano Piedade e ao João Gomes Costa pelo auxílio na análise estatística.*

*À minha ilustre Banca de Qualificação: Prof. Dr. Josealdo Tonholo, Prof. Dr. Luiz Carlos Caetano, Profª. Drª. Terezinha da Rocha Ataíde, Profª. Drª. Maria Alice Araújo de Oliveira, Drª. Lara Barros Valentim, Dr. Alessandro Riffel, pelas contribuições e sugestões.*

*As funcionárias da Secretária da Pós-Graduação do Departamento de Química por todo o serviço prestado.*

*Todos foram responsáveis não só pela minha formação profissional, mas, também pela minha formação como ser humano através de muitas lições de vida, que vão me acompanhar ao longo da vida e carreira. Meus sinceros agradecimentos e gratidão! Que possamos prosseguir no caminho do saber, cumprindo a missão destinada!*

*“Sabemos que o que fizemos foi apenas uma gota d’água no oceano, mas se não tivéssemos feito, essa gota faltaria”*

*Madre Tereza de Calcutá*

## SUMÁRIO

Lista de ilustrações	xi
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	xiii
<b>RESUMO</b>	1
<b>ABSTRACT</b>	2
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	3
<b>2 OBJETIVOS</b>	7
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b>	8
3.1 Importância do ferro na nutrição humana	8
3.1.1 Função biológica	8
3.1.2 Fontes alimentares de ferro	10
3.1.3 Absorção, transporte e armazenamento de ferro	12
3.1.4 Recomendações nutricionais de ferro	20
3.1.5 Deficiência de ferro	23
3.1.6 Anemia	25
3.2 Biodisponibilidade de ferro	29
3.3 Métodos de avaliação da biodisponibilidade do ferro “in vivo”	33
3.4 Radionuclídeos em estudos de biodisponibilidade	35
3.4.1 Radioatividade	36
3.4.2 Características físicas	38
3.4.3 Meia-vida efetiva e biológica	40
3.5 Propriedades nutricionais do feijão	42
3.6 Multimistura	45
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	48
4.1 Material	48
4.1.1 Protocolo experimental	48
4.1.2 Matéria prima	48
4.1.3 Dietas experimentais	50
4.1.3.1 Dietas pré-teste	50
4.1.3.2 Dietas teste contendo <sup>59</sup> Fe	50
4.1.4 Animais de experimentação	52
4.1.5 Composição do reativo de Drabkin utilizado para determinação de hemoglobina	52

4.1.6	Soluções nutritivas utilizadas no cultivo do feijão	52
4.1.7	Partição do material radioativo	53
4.2	Metodologia	53
4.2.1	Determinação da concentração de hemoglobina (Hb)	53
4.2.2	Obtenção de feijão comum ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) intrinsecamente marcado com <sup>59</sup> Fe	54
4.2.3	Preparo do feijão para a obtenção das dietas	55
4.2.4	Dieta Básica Regional (DBR)	55
4.2.5	Análises físico-químicas	56
4.2.5.1	Composição Centesimal do feijão	56
4.2.5.2	Teor de ferro	57
4.2.6	Determinação da biodisponibilidade do ferro	58
4.3	Estatística	60
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>61</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>82</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>83</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>96</b>

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES****FIGURAS**

	Títulos	Página
Figura 1	Agrupamento de ferro-enxofre da aconitase	9
Figura 2	Grupo heme	11
Figura 3	Absorção intestinal do ferro	15
Figura 4	Metabolismo do ferro em adultos	19
Figura 5	Esquema de desintegração do $^{59}\text{Fe}$	39
Figura 6	Média de ganho ponderal ( $\text{g semana}^{-1}$ ) dos animais na fase pré-teste	67
Figura 7	Média do consumo dietético ( $\text{g semana}^{-1}$ ) dos animais na fase pré-teste	69
Figura 8	Coefficiente de eficiência alimentar (CEA) dos animais na fase pré-teste	71
Figura 9	Biodisponibilidade de ferro - % de absorção	75
Figura 10	Biodisponibilidade de ferro - % de retenção	75
Figura 11	Blindagem à radiação gama	102
Figura 12	Castelinhos de chumbo	103

**ESQUEMA**

	Título	Página
Esquema1	Protocolo experimental	49

## TABELAS

	Títulos	Página
Tabela 1	Ingestão dietética de referência (DRI): ingestões recomendadas de ferro para indivíduos	21
Tabela 2	Valores de contagem do decaimento radioativo do ferro das dietas teste oferecidas aos diferentes grupos de animais, em contagem por minuto (CPM) e Bequerel (Bq/15 g)	51
Tabela 3	Composição química do feijão comum liofilizado e teor de ferro	61
Tabela 4	Concentração de hemoglobina dos animais agrupados por dietas teste	65
Tabela 5	Teor de ferro nas dietas teste utilizadas como tratamentos	72
Tabela 6	Análise de variância para a variável absorção de ferro	73
Tabela 7	Análise de variância para a variável retenção de ferro	74
Tabela 8	Biodisponibilidade do ferro das dietas teste independente do estado nutricional em ferro dos animais	76
Tabela 9	Concentração de hemoglobina, ganho de peso, ingestão de dieta pré-teste, CEA e biodisponibilidade de ferro nos animais depletados ou não depletados em ferro, nos animais agrupados por estado nutricional em ferro	77

## QUADRO

	Título	Página
Quadro 1	Interações dietéticas que alteram a biodisponibilidade do ferro não heme	33

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**

**$\alpha$**  Radiação alfa

**A** Atividade radioativa

**AE** Atividade específica

**AIN-93G** Formulação de dieta para roedores de laboratório em fase de crescimento proposta pela American Institute of Nutrition 1993

**AOAC** Association of Official Analytical Chemists

**ANVISA** Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**$\beta$**  Radiação beta

**Bq** Becquerel

**CEA** Coeficiente de Eficiência Alimentar

**CNBB** Conferência Nacional dos Bispos do Brasil

**CFN** Conselho Federal de Nutrição

**CPM** Contagem por minuto

**DBR** Dieta básica regional

**DBRMM** Dieta básica regional+ Multimistura

**DEP** Desnutrição Energético-Protéica

**dpm** Desintegrações por minuto

**dps** Desintegrações por segundo

**eV** Elétron-Volt

**Fe** Ferro

**$\gamma$**  Radiação gama

**GD** Grupo Depletado

**GND** Grupo Não Depletado

**FF** Dieta farinha de feijão

**FFMM** Dieta farinha de feijão + Multimistura

**Hb** Hemoglobina

**IBGE** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**MM** Multimistura

**OMS** Organização Mundial de Saúde

**$\tau_{1/2}$**  Tempo de meia-vida física

**$\tau_{ef}$**  Tempo de meia-vida efetiva

**$\tau_{biol}$**  Tempo de meia-vida biológica

## RESUMO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é amplamente consumido no Brasil, especialmente no Nordeste, no qual se apresenta como componente da dieta básica regional (DBR). Constitui importante fonte de proteínas e ferro, por isso, é indicado na prevenção/tratamento da anemia, já que a deficiência de ferro é um dos problemas de maior prevalência nacional e mundial, o que resulta em aumento nas taxas de mortalidade e morbidade, diminuição na produtividade do trabalho e prejuízo do desenvolvimento mental, reduzindo a capacidade da pessoa para uma vida saudável e produtiva. Várias são as tentativas de fornecer, por meio da dieta, a quota de ferro necessária. Dentre elas, encontra-se a utilização da alimentação alternativa. No Brasil, a alimentação alternativa, visa, entre outras coisas, recuperar o estado nutricional de ferro em crianças, e contribui para o tratamento da desnutrição, através, por exemplo, da oferta de multimistura (MM). Inúmeros estudos destacam a importância da composição da dieta para a recuperação e/ou manutenção do estado nutricional de ferro. A determinação dos teores de ferro total e de ferro biodisponível em alimentos comumente consumidos pela população é, portanto, necessária. Por esse motivo, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a biodisponibilidade do ferro do feijão *Phaseolus vulgaris*, variedade carioca, em ratos *Wistar* depletados e não depletados em ferro. Para a depleção dos animais, utilizaram-se dietas pré-teste de depleção, sem ferro, e dieta pré-teste controle, baseadas na dieta AIN-93, por oito semanas. Em seguida, utilizaram-se as dietas teste: **controle**, AIN-93 marcada extrinsecamente com  $^{59}\text{FeCl}_3$ ; **FF**, dieta AIN-93 contendo feijão carioca como fonte exclusiva de ferro marcado intrinsecamente com  $^{59}\text{Fe}$ ; **FFMM** FF mais multimistura; **DBR**, contendo feijão carioca como fonte exclusiva de ferro marcado intrinsecamente com  $^{59}\text{Fe}$ ; e, **DBRMM**, DBR com feijão marcado mais a multimistura, ministradas numa única refeição. Foram determinados a concentração de hemoglobina, o ganho de peso, o consumo dietético e o coeficiente de eficiência alimentar na fase pré-teste. A biodisponibilidade do ferro das dietas teste foi avaliada por meio da determinação da radioatividade do corpo inteiro dos animais, durante 7, dias através de detector de cintilação sólida. Para a análise da composição centesimal do feijão foi utilizada a metodologia indicada pela AOAC. O teor de ferro do feijão e das dietas foi determinado pela técnica de fluorescência de raios X. Aos resultados, aplicaram-se ANOVA, teste t (fase pré-teste) e Tukey (fase teste), ao nível de  $p \leq 0,05$ . A concentração de hemoglobina, o ganho de peso e o consumo dietético foram maiores no grupo dos animais não depletados do que no grupo dos animais depletados, porém, não houve diferença significativa para o coeficiente de eficiência alimentar. A biodisponibilidade do ferro das dietas teste não diferiu significativamente. Pode-se concluir que a suplementação da multimistura não exerceu qualquer influência sobre a biodisponibilidade do ferro alimentar, em ratos depletados ou não depletados em ferro; que a magnitude da biodisponibilidade do ferro dietético de todas as dietas teste investigadas, por sua vez, foi determinada pelo estado nutricional em ferro dos animais; e, que a biodisponibilidade do ferro do feijão *Phaseolus vulgaris*, cultivar carioca, foi similar àquela apresentada pela fonte de ferro de referência para ratos *Wistar*. Sendo assim, o feijão pode ser considerado uma boa fonte de ferro para alimentação, em virtude de sua alta biodisponibilidade.

**Palavras chave:** ferro, biodisponibilidade, marcação intrínseca, anemia.

## ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris*) is widely consumed in Brazil, especially in the Northeast, in which it is a component of the basic regional diet (RBD). Beans furnish important quantities of proteins and iron, therefore, is indicated in the prevention/treatment of anemia, since the prevalence of iron deficiency is a national and world-wide problem and it results in increased mortality and morbidity rates, decreased labor productivity, and impaired mental development, which reduces the capacity of people to have healthy and productive life. Several attempts are made to supply the necessary quota of iron through diet. One of them is the use of the alternative feeding. In Brazil, alternative feeding aims at, among other things, the recovery of nutritional state of iron in children, and as co-adjuvant in the treatment of malnutrition, supplying multi-mixture (**MM**). Several studies emphasize the importance of the composition of the diet for the recovery and/or maintenance of the nutritional state toward iron. The determination of the total iron content and iron bioavailability in food usually consumed by the population is, therefore, necessary. For this reason, the objective of this research project was to evaluate the bioavailability of iron of the bean *Phaseolus vulgaris*, "carioca" variety, in iron depleted and non depleted Wistar rats. To produce iron depletion in the animals, they were fed with pre-tested diets for depletion devoid of iron, and a control pre-tested diet based on the AIN-93 diet, for eight weeks. This phase was followed by the test diets: **control**, AIN-93 extrinsically labeled with  $^{59}\text{FeCl}_3$ ; diet containing carioca beans **FF**, as exclusive source of iron in accordance with diet AIN-93, and labeled intrinsically with  $^{59}\text{Fe}$ ; **FFMM** FF plus multi-mixture; **RBD**, containing carioca beans as exclusive source of iron intrinsically labeled with  $^{59}\text{Fe}$ ; and, **RBDMM**, **RBD** supplemented with **MM**, supplied in a single meal. Hemoglobin concentration, weight gain, dietary intake and effectiveness alimentary coefficient were determined in the pretest phase. The iron bioavailability was determined using the whole body animal counting for seven days, using a solid scintillation detector. For the analysis of the centesimal composition of beans, the methodology indicated by the AOAC was used. The iron content from the beans and diets was determined by the technique of X-rays fluorescence. The results were applied to the ANOVA, test *t*, Tukey at the level of  $p \leq 0,05$ . The hemoglobin concentration, weight gain and dietary intake were bigger in the non-depleted animals than in the iron depleted ones, however, there was no significant difference for the effectiveness alimentary coefficient. Iron bioavailability of the diets did not significantly differ. The supplementation with **MM** did not exert any influence on the bioavailability of dietary iron in the diets **FF** and **DBR** in iron-depleted or non-depleted rats. The magnitude of the bioavailability of dietary iron in all the herein investigated diets was determined by the iron nutritional status of the animals. Thus, it can be concluded that the iron bioavailability of beans (*Phaseolus vulgaris*), "carioca" variety, was similar to that one presented by the standard source of iron for Wistar rats; being beans, thus, a good source of iron for feeding, due to its high bioavailability.

**Key words:** iron, bioavailability, intrinsic labeling, anemia



## 1 INTRODUÇÃO

A nutrição é inerente ao ser vivo e representa troca de material e energia com o ambiente, para a manutenção do equilíbrio vital. Dentro do amplo conjunto dos direitos humanos, a alimentação e a saúde, dentre outros, se constituem direitos essenciais à natureza humana, que promovem a plena realização do fundamental direito à vida (VALENTE, 2000). Porém, as deficiências nutricionais continuam sendo um grave problema de saúde pública em nosso País, devido à sua magnitude e aos conseqüentes prejuízos para o crescimento, desenvolvimento e imunocompetência, com repercussões sobre a morbimortalidade infantil e materna, representando óbice para o desenvolvimento econômico e social (OSÓRIO, 2002; MONTE, 2000).

A desnutrição é a segunda causa de morte mais freqüente em menores de 5 anos nos países em desenvolvimento (WHO, 1995). No Brasil, a situação nutricional dessas crianças melhorou nos últimos anos, com redução de 60% da prevalência de desnutrição entre 1975 e 1989. A forma atualmente mais comum de desnutrição infantil no país é a crônica, cuja expressão é dada pelo déficit de altura para idade, com concentração mais elevada nas regiões Norte e Nordeste (BRASIL, 1996; MONTE, 2000).

Na região Nordeste do Brasil, o estado de Alagoas apresenta a maior magnitude de desnutrição crônica. Ferrreira et al. (2006) observaram déficits de 9,5% para o índice altura para idade em pré-escolares residentes em 38 municípios, pertencentes à região semi-árida do estado. Por outro lado, a desnutrição aguda foi epidemiologicamente irrelevante, situando-se abaixo da freqüência encontrada na própria população de referência do NCHS (1,8% vs. 2,3%).

Preocupados com a problemática da desnutrição, Teodósio et al. (1990) desenvolveram um modelo experimental que reproduz, no rato, um quadro clínico muito semelhante ao da desnutrição energético-protéica (DEP) prevalente no Nordeste brasileiro. Com base em inquéritos alimentares realizados nesta região, foi elaborada uma dieta experimental constituída pelos quatro alimentos mais utilizados pelas populações de baixa renda, nas proporções em que eram consumidos. O regime alimentar apresentava-se deficitário e monótono. Esta dieta foi denominada Dieta Básica Regional (DBR). O seu uso durante os períodos críticos de

desenvolvimento determina um estado de desnutrição no animal, que mimetiza a DEP vigente naquela população.

Outra desordem nutricional de alta prevalência nacional e mundial, que também está relacionada com sensibilidade a infecções e que pode afetar o desenvolvimento e influenciar negativamente na capacitação para o trabalho, é a anemia ferropriva, que resulta em aumento nas taxas de mortalidade e morbidade, diminuição na produtividade do trabalho e prejuízo do desenvolvimento mental, reduzindo a capacidade da pessoa para uma vida saudável e produtiva. A anemia pode estar presente nos estados de desnutrição (SILVA et al., 2001; OSÓRIO, 2002).

A anemia ferropriva - causada pela deficiência de ferro - vem aumentando nas duas últimas décadas, chegando a acometer cerca de 2 bilhões de habitantes no mundo todo. É uma deficiência nutricional encontrada em todas as classes sociais. No entanto, é mais comumente encontrada em áreas menos desenvolvidas e nas famílias de menor nível sócio-econômico (FISBERG et al., 1998; SCHMITZ, 1999; BRUNKEN et al., 2002).

No Brasil, é um dos problemas nutricionais de maior magnitude, sobretudo em crianças menores de 2 anos e gestantes, atingindo cerca de 50% e 35% desses dois grupos populacionais, respectivamente (DELLA PENNA, 1999; BRASIL, 2002).

A deficiência de ferro pode ser causada, dentre outros fatores, pelo desequilíbrio na quantidade biodisponível nos alimentos e a sua necessidade orgânica (FANTINI et al., 2008). Entre os fatores que lideram as causas da anemia ferropriva, possivelmente a dieta inadequada em ferro e, especialmente, a sua baixa biodisponibilidade, são uns dos mais importantes (OSÓRIO, 2002).

A Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição (SBAN, 1990) estimou o potencial de absorção do ferro da dieta habitual brasileira em torno de 7%, em função do tipo de distribuição desse mineral nas dietas habitualmente consumidas pela referida população, caracterizando dieta de baixa biodisponibilidade.

Como alternativa para minimizar o problema, face à complexidade das medidas de controle dos diversos fatores socioeconômicos que o determinam, surgem iniciativas de suplementação alimentar. Misturas à base de farelo de cereais, popularmente denominadas "multimisturas" (MM), têm sido amplamente divulgadas e utilizadas no Brasil, preconizadas pela Pastoral da Criança, da Conferência Nacional dos Bispos do Brasil-CNBB. Entretanto, ainda não há comprovação científica da sua eficácia como suplemento nutricional para crianças desnutridas e/ou anêmicas.

Brandão & Brandão (1996) e Sant'Ana et al. (2006) definiram a "multimistura" como uma mistura de alimentos não convencionais, em sua maioria de origem vegetal, a qual visa o enriquecimento da dieta habitual da população, melhorando sua qualidade através do fornecimento de um concentrado de minerais e vitaminas, por meio de alimentos alternativos, tais como, farelo de cereais, folhas verde-escuras e sementes e casca de frutas, sem alteração dos hábitos alimentares. No Brasil, a "multimistura", visa, entre outras coisas, recuperar o estado nutricional de ferro em crianças, e atuar como coadjuvante no tratamento da desnutrição.

Porém, apesar das evidências de significativa redução da desnutrição na população brasileira nas últimas décadas, a anemia ferropriva não parece acompanhar a melhoria do estado nutricional (BRUNKEN et al., 2002). Os resultados de estudos recentes realizados em algumas capitais do Brasil mostram tendência de aumento na prevalência da anemia entre os pré-escolares (MONTEIRO et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2002). Essas evidências se revestem de importância epidemiológica na medida em que a anemia exerce efeito negativo no desenvolvimento psicomotor e na aprendizagem da criança (ACC/SCN, 2000) e diminui a capacidade de resposta do sistema imunológico (SCRIMSHAW & SANGIOVANNI, 1997).

O ferro é o microelemento mais abundante no organismo humano. Há duas formas principais de ferro, denominadas ferro heme e ferro não-heme. O ferro heme é constituinte da hemoglobina, a qual transporta o oxigênio desde os pulmões até os tecidos; da mioglobina, que armazena o oxigênio, que será utilizado na contração muscular; e, também, de enzimas (citocromos, catalase e peroxidases). O ferro não-

heme está presente nas proteínas ferro-sulfurosas e metaloflavoproteínas implicadas no metabolismo oxidativo (PAPANIKOLAOU & PANTIPOULOS, 2005).

As principais fontes alimentares de ferro são provenientes de origem animal, tal como carne vermelha e vísceras. Entre as fontes de origem vegetal, as leguminosas contêm quantidades elevadas, destacando-se o feijão (MARTÍNEZ et al., 1999).

Martinez et al. (1999) determinaram a quantidade do ferro em 5,3-8,5 mg 100g<sup>-1</sup> no feijão. Canniatti-Brazaca e Silva (1999) encontraram variação de 6,8 a 15,34 mg 100g<sup>-1</sup> nas leguminosas: feijão preto, feijão comum, feijão branco, grão de bico, soja, feijão guandu, lentilha e soja.

O feijão tem especial importância no Brasil, não somente pelo país ser o maior produtor e consumidor mundial, as produções de feijão em grãos nos anos de 1975 e 2005 foram, respectivamente, de 2,28 milhões e 3,08 milhões de toneladas, com uma média de 2,54 milhões de toneladas no período (FAO, 2006), mas, também, por ser um dos principais alimentos protéicos da população brasileira. Ou seja, além de apresentarem grande importância nutricional por serem as melhores fontes vegetais de ferro, os feijões possuem também alta quantidade de proteína.

O consumo médio *per capita* de feijão no Brasil varia de 8 a 21 kg hab<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> (IBGE, 2006). A Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), realizada nas áreas metropolitanas do País descreve a distribuição da disponibilidade domiciliar de alimentos, destacando uma maior participação do feijão e outras leguminosas no meio rural, assim como, na região Nordeste. Em relação ao rendimento familiar, observou-se que a participação do feijão na dieta diminuía conforme a renda familiar *per capita* aumentava. O consumo alimentar nas últimas três décadas evidenciou declínio no consumo de alimentos básicos e tradicionais da dieta do brasileiro, como o arroz e o feijão (Levy Costa et al., 2003).

Em função do quadro de anemia ferropriva, a determinação dos teores de ferro total e de ferro biodisponível do feijão, importante fonte alimentar da população brasileira, e no contexto de uma dieta habitualmente consumida pela população carente da região Nordeste, suplementada ou não com MM, é imperioso.

## OBJETIVOS

### 2.1 Geral

- Avaliar a biodisponibilidade do ferro do feijão (*Phaseolus vulgaris*, cultivar carioca), através do método de contagem no corpo inteiro, com utilização do radioisótopo  $^{59}\text{Fe}$ , em ratos *Wistar*, em diferentes contextos alimentares.

### 2.2 Específicos

- Estimar a influência da multimistura sobre a biodisponibilidade do ferro do feijão e da DBR, em ratos;
- mensurar a variação ponderal, o consumo dietético e o coeficiente de eficiência alimentar, em ratos submetidos às dietas pré-teste depleção e pré-teste controle, de acordo com a AIN-93 G;
- caracterizar nutricionalmente o feijão.

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1 Importância do ferro na nutrição humana**

##### **3.1.1 Função biológica**

O ferro foi reconhecido como um nutriente essencial há mais de um século. A diversidade e a essencialidade das funções as quais o ferro se encontra relacionado tornaram esse metal de transição da classificação periódica um dos micronutrientes mais estudados e descritos na história. É encontrado em todas as células dos seres vivos, tanto vegetais como animais - como constituinte da hemoglobina e mioglobina- e de muitas enzimas envolvidas em reação de oxidação-redução (COZZOLINO, 2005; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

As funções do ferro resultam de sua habilidade de participar de reações de oxidação e redução. Quimicamente, o ferro é um elemento altamente reativo que pode interagir com o oxigênio para formar intermediários com o potencial de danificar membranas celulares ou degradar o DNA. Portanto, precisa estar firmemente ligado a proteínas para impedir estes efeitos potencialmente destrutivos. Há quatro classes de proteínas contendo ferro: proteínas que contem heme, tais como hemoglobina, mioglobina e citocromos; enzimas contendo ferro e enxofre (peroxidases e catalases), flavoproteínas, heme flavoproteínas; proteínas de transporte e armazenamento, transferrina, lactoferrina, ferritina e hemossiderina, e outras enzimas contendo ferro (COZZOLINO, 2005; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

Os ligantes mais comuns do ferro no sistema biológico são o oxigênio, o nitrogênio e o enxofre. (COZZOLINO, 2005; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005). Conforme o agrupamento de ferro-enxofre da aconitase na Figura 1. Esta proteína está envolvida em ambos os metabolismos da glicose e das gorduras e na regulação do metabolismo de ferro.

Dentre, as principais funções do ferro, as mais bem estabelecidas são aquelas relacionadas ao heme, ligadas às funções das proteínas no organismo. Como componente da 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. A mioglobina, por sua vez, serve como um reservatório de oxigênio dentro do músculo. Outra função se baseia em servir de catalisador da oxidação nas células e nas moléculas livres de heme e atuar como constituinte das diástases oxidantes (catalase, peroxidase, citocromos), intervindo em numerosas reações de oxidação, por meio das quais se libera energia dos constituintes alimentares. A atividade de muitas enzimas envolvidas nestas reações bioquímicas diminui durante a deficiência de ferro nos tecidos (BEARD et. al, 1996; GUYTON & HALL, 2002; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

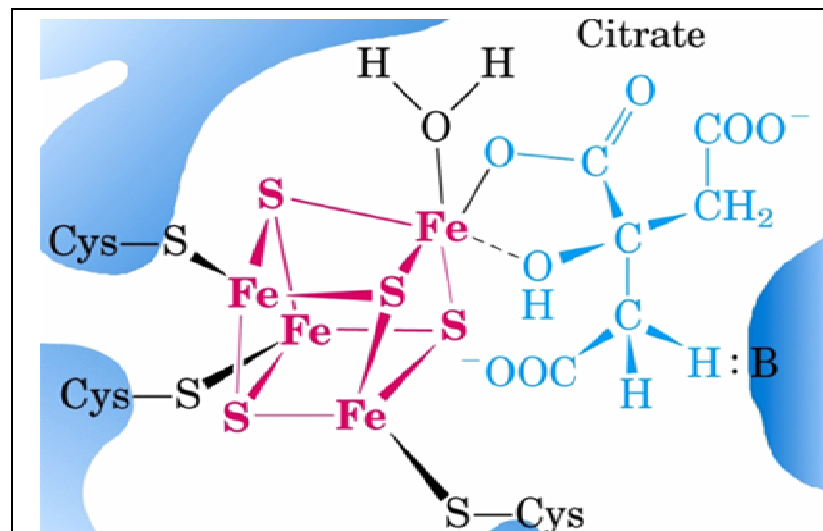


Figura 1. Agrupamento de ferro-enxofre da aconitase  
Fonte: Lehninger (2006).

A produção oxidativa de ATP dentro da mitocôndria envolve enzimas que contêm ferro heme e ferro não heme. Os citocromos, por exemplo, funcionam na cadeia respiratória na transferência de elétrons e no armazenamento de energia através da oxidação e redução (redox) alternadas do ferro ( $Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+}$ ) (BEARD et al., 1996; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

O ferro também parece estar envolvido na função imunológica e no desempenho cognitivo (COZZOLINO, 2005).

Os homens adultos saudáveis possuem cerca de 3,6 g de ferro corpóreo, enquanto que a mulher cerca de 2,4 g (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005). Embora

esse mineral esteja presente no corpo humano em quantidades pequenas, suas funções são essenciais à vida.

O organismo humano adulto contém ferro em dois “pools” principais: 1. ferro funcional na hemoglobina, mioglobina, enzimas heme e não heme e transferrina (uma proteína de transporte no sangue) 2. ferro armazenado na ferritina, hemossiderina (GUYTON & HALL, 2002; OLIVEIRA et al., 1989, MORRIS, 1987).

Em indivíduos normais, a hemoglobina, a mioglobina, o ferro contido nas enzimas, aquele combinado à proteína transferrina no plasma sanguíneo e a quantidade de ferro estocado são, aproximadamente, 65%; 4%, 1%, 0,1% e 25%, respectivamente, do ferro total contido no corpo. Ferritina e hemossiderina são as principais formas de estoque de ferro, além de serem responsáveis pela manutenção do nível de produção de hemoglobina. O fígado, o baço e a medula óssea têm a mais alta concentração desses dois compostos (GUYTON & HALL, 2002; OLIVEIRA et al., 1989).

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).

### **3.1.2 Fontes alimentares de ferro**

O ferro dietético está distribuído em todos os alimentos e é classificado em duas formas, de acordo com o seu mecanismo de absorção: ferro heme e ferro não heme.

A estrutura química do ferro heme está representada na Figura 2. Ele é encontrado nos alimentos de origem animal, representando cerca de 40% do ferro dessa fonte. As principais fontes são as vísceras (fígado, rim, coração), frutos do mar (ostras, mariscos e peixes), carne magra e aves (CARPENTER & MAHONEY, 1992).



A absorção do ferro heme é alta: cerca de 15 a 30 % no indivíduo normal e 35 a 50 % naqueles com baixa reserva de ferro. Dado que a absorção de ferro heme 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 nos alimentos, supondo uma absorção de 25 % (BIANCHI et al., 1992; ELPO et al., 1998; FAO, 1991).

O ferro não heme, por sua vez, em meio ácido é transportado complexado aumentando a absorção deste na membrana do duodeno, facilitando a sua transferência através das microvilosidades da membrana. O ferro não heme é encontrado predominantemente nos alimentos de origem vegetal, mas, também em alguns alimentos de origem animal, como nas enzimas não heme e na ferritina. Dentro as fontes de ferro não heme temos: feijão, cereais, vegetais verde escuros, melão. Os feijões e as hortaliças são as melhores fontes vegetais (BIANCHI, et al., 1992; CARPENTER & MAHONEY, 1992).

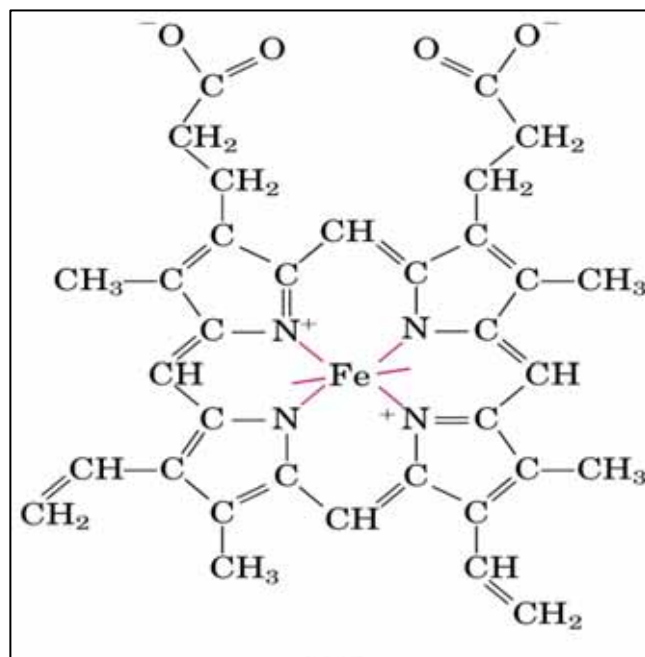


Figura 2. O grupo heme consiste em uma estrutura orgânica complexa do anel protoporfirina, ao qual é ligado um átomo de ferro em seu estado ferroso (Fe<sup>2+</sup>). O átomo do ferro tem seis ligações de coordenação, quatro no plano do anel, que ligam o elemento à molécula da porfirina, e duas ligações perpendiculares a ele. O grupo heme é componente da hemoglobina, mioglobina, citocromos e em muitas outras proteínas heme.

Fonte: Lehninger (2006).

A absorção do ferro não heme é muito menor que a do heme: cerca de 0 a 10%, dependendo muito de fatores químicos, como o estado de oxidação, a solubilidade, o pH do meio e, ainda, dos componentes dietéticos (BIANCHI et al., 1992; ELPO et al., 1998).

Tanto a composição dietética quanto a forma na qual o ferro está presente no intestino exercem influência na eficiência da absorção dietética do mineral. É interessante o fato de que, embora existam transportadores específicos para o ferro heme nas mucosas intestinais dos ratos, estes não absorvem tão eficientemente o ferro heme quanto os humanos (BEARD et al., 1996; BIANCHI et al. 1992; CARPENTER & MAHONEY, 1992).

Cerca de 80 a 90% do ferro presente nas dietas ocidentais está na forma de ferro não heme, procedentes, em sua maior parte, dos alimentos de origem vegetal e dos compostos utilizados no enriquecimento de alimentos. Os alimentos de origem vegetal contribuem com 90% do total de ferro ingerido nos países desenvolvidos e até 100% nos países em desenvolvimento (BIANCHI et al., 1992).

### **3.1.3 Absorção, transporte e armazenamento de ferro**

A absorção de ferro é influenciada por uma variedade de fatores, entre eles, a concentração e a forma química do ferro ingerido, a presença de fatores na dieta que promovam ou inibam a sua absorção e o estado de ferro no organismo (HALLBERG, 1981). Indivíduos anêmicos absorvem até 50%, enquanto em condições de normalidade, 10% do ferro ingerido é absorvido (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

A quantidade de ferro estocado no organismo é importante porque afeta a absorção alimentar desse elemento. O conteúdo de ferro no organismo é controlado, principalmente, pelo mecanismo homeostático de regulação e pelas necessidades fisiológicas individuais, ou seja, quanto menor a quantidade de ferro depositado no organismo, tanto maior é a quantidade absorvida no trato intestinal, e vice-versa. A homeostase de ferro é controlada, em primazia, pela absorção e, secundariamente, pela excreção (ANDERSON, 1996; FAIRWHEATHER - TAIT, 1993 LINDER, 1988).

O processo de absorção envolve a retirada de nutrientes no lúmen intestinal, transferência do nutriente através das células da mucosa e transporte dessas células para outros tecidos e órgãos. Para a absorção, a ingestão de alimento contendo o nutriente mineral, pode apresentar-se na forma solúvel, ocupando as células da mucosa diretamente, ou formar complexos solúveis com outros componentes alimentares, convertidos no meio intestinal para absorção. O mecanismo de absorção do ferro da dieta, através das células da mucosa gastrintestinal, é dependente das formas principais de ferro: ferro não-heme e ferro heme (CLYDESDALE, 1988; LARSEN, 1992).

O ferro heme (isto é, o anel de ferroporfirina intacto) é absorvido através da borda em escova das células de absorção intestinais, após a digestão de proteínas hêmicas. Uma vez que o ferro heme entre no citosol, o ferro ferroso é enzimaticamente removido do complexo ferroporfirina. Os íons de ferro livres se combinam imediatamente com a apoferritina para formar a ferritina, da mesma maneira que o ferro não-heme livre. Portanto, a partir deste momento, o ferro alimentar forma um “pool” comum, que segue o mesmo destino.

A ferritina serve de estoque intracelular e como uma “balsa” que transporta o ferro ligado da borda em escova à membrana basolateral da célula de absorção. A etapa final de absorção ocorre na membrana basolateral, por um mecanismo de transporte ativo pelo quais os íons de ferro são movidos para o sangue, conforme mostrado na Figura 3.

Durante a fase intestinal da digestão, quando ocorre a captação, o ferro se liga a locais específicos da membrana da mucosa, é interiorizado e pode tanto ser retido pelas células da mucosa (enterócitos), quanto transportado à membrana basolateral, de onde é ligado a transferrina no “pool” plasmático. A maioria dos autores relata que a maior parte da absorção do ferro ocorre no duodeno e na parte superior do jejuno (BEARD et al., 1996; BIANCHI et al., 1992; BRITISH NUTRITION FOUNDATION, 1995; GARCÍA - CASAL et al., 1998; MAHAN & ESCOTT - STUMP, 2005).

O ferro, na forma solúvel é condição necessária para absorção no duodeno e jejuno superior. A passagem do ferro por esta camada da borda em escova pode ser

facilitada por ácidos orgânicos, polipeptídeos contendo cisteína, a partir da digestão de carne, peixe ou ave, e aminoácidos que contem enxofre, pode também intensificar a entrada de ferro formando quelatos com o ferro iônico. Conforme o quimo se move para baixo no duodeno, a adição de secreções duodenais aumenta o pH do conteúdo para 7, ponto no qual a maioria do ferro férrico é precipitado, a menos que seja quelado (BOCCIO et al., 2003).

Existem dois mecanismos de absorção do ferro que ocorrem simultaneamente. O primeiro é um processo de difusão passiva, na qual a quantidade de ferro absorvida é proporcional à concentração de ferro no lúmen intestinal. Essa via absorptiva é predominante somente em indivíduos com reservas normais de ferro. O segundo processo de absorção é limitado, mediado por um transportador dependente de energia, passível de saturação cinética e inibição competitiva. Esse processo predomina quando os estoques de ferro orgânico estão depletados (CARPENTER & MAHONEY, 1992).

Durante a fase intestinal da digestão, o ferro está presente no lúmen, tanto como ferro heme, como quelatos de ferro não heme. O grupamento heme ou é levado diretamente, por difusão, ou pelo receptor de membrana, para o interior do enterócito. Dentro da célula, o ferro é separado do heme pela enzima hemeoxigenase, entrando para o “pool” celular comum, processando-se de maneira análoga ao ferro não heme. 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 (BEARD et al., 1996; BRITISH NUTRITION FOUNDATION, 1995).

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

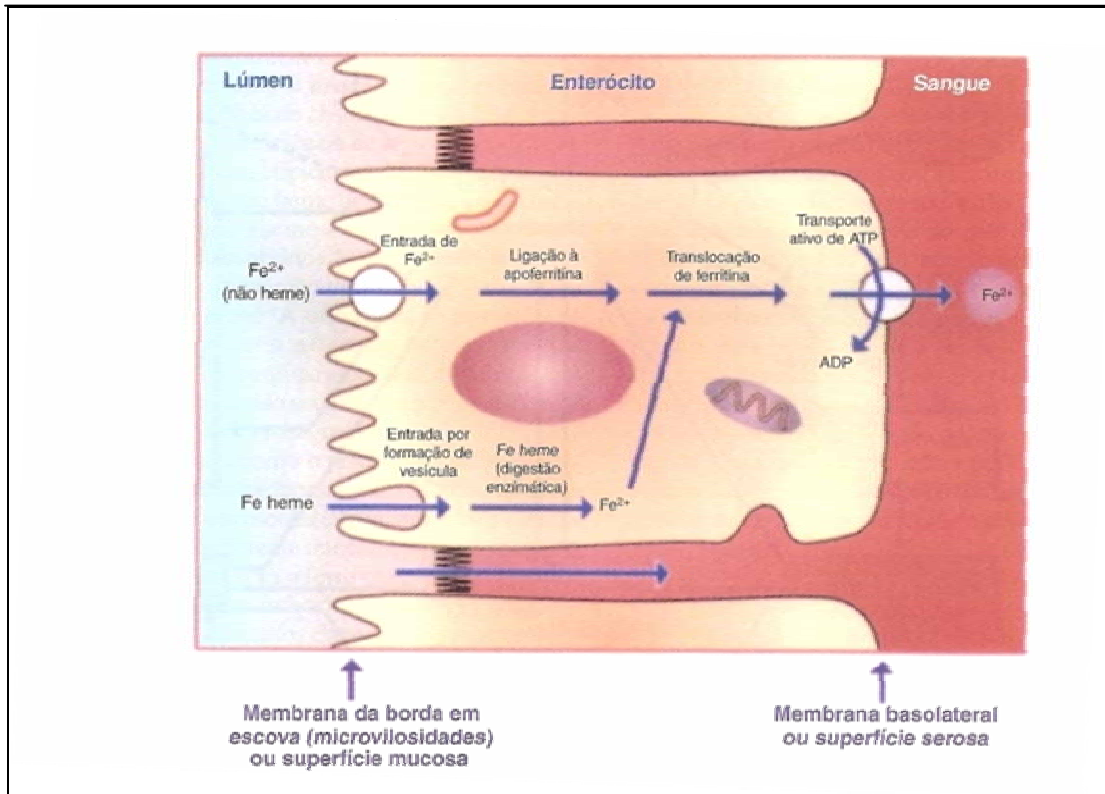


Figura 3. Absorção intestinal do ferro  
 Fonte: Mahan & Escott - Stump, 2005

O transporte de ferro não heme, nos enterócitos, se efetua devido aos receptores específicos, como, transportador de metal bivalente DMT-1 (*divalent metal transporter 1*), encontrado também na literatura como DCT1 ou Nramp2 (BEARD et al., 1996; BRITISH NUTRITION FOUNDATION, 1995; GUYTON & HALL, 2002, COZZOLINO, 2005).

Há, ainda, outras propostas para a absorção do ferro não heme, por meio da ligação com proteínas carreadoras. Uma delas é a de que outra proteína, a mucina, se ligaria ao ferro férrico, solubilizando-o e tornando-o mais biodisponível para o organismo (BENITO & MILLER, 1998). Conrad et al. (1991) concluíram que a mucina desempenha papel importante para que o ferro esteja disponível para absorção no enterócito. A mucina se liga ao ferro em pH ácido e o mantém solúvel para entrada no enterócito. Em experimento "in vivo", observaram que o radioferro ligou-se a mucina, e essa quelação foi absorvida; além de observarem que o ferro que não formou quelato com a mucina no lúmen intestinal precipitou e foi pouco absorvida. A

forma férrica do ferro solubilizado em ácido se liga à mucina gástrica, a qual mantém ferro solúvel e disponível para entrada na mucosa do intestino delgado.

Fatores que mantêm a solubilidade do ferro, em virtude do aumento do pH, como o estado de oxidação (forma ferrosa), as mucinas secretadas pela mucosa e agentes quelantes como o ácido áscórbico, por exemplo, são de grande importância para promover a absorção de ferro não-heme (MAC PHAIL, 2001).

Outra via de captação é através de proteínas que facilitam o transporte, a captação, o uso e o armazenamento do ferro de forma estável. As chamadas proteínas reguladoras de ferro (IRPs) são aquelas cuja síntese cria uma rede homeostática que permite a utilização das propriedades essenciais do ferro de maneira concomitante com a redução de seus potenciais efeitos tóxicos. O controle da expressão dessas proteínas por meio de elementos de resposta ao ferro (IREs) pode ser exemplificado pela modificação da regulação pós-transcricional da ferritina e do receptor de transferrina, de acordo com a disponibilidade de ferro no organismo (COZZOLINO, 2005).

Muito do ferro captado nas células da mucosa é transferido para o sangue quase que imediatamente, mas, depois desta fase rápida de absorção, a transferência continua em uma razão muito mais baixa durante 24 horas, 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. 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).

Com relação ao ferro heme, um fator que possivelmente contribua para o aumento de sua absorção é a hemeoxigenase 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 ferro heme (BEARD et al., 1996; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

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 & HALL, 2002).

A hemoglobina e a ferritina sérica têm papéis aparentemente limitados no estabelecimento da necessidade de se absorver ferro. Há uma sugestão de que a presença no plasma do complexo transferrina-ferro permitiria ao enterócito monitorar a quantidade de ferro corporal e regular sua absorção. A exposição da célula da mucosa intestinal a baixas quantidades de transferrina-ferro sinalizaria à mesma sobre a necessidade de fazer entrar mais ferro para o corpo (BEARD et al., 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 ferro, fica quase totalmente saturada e quase não aceita qualquer ferro novo proveniente das células das mucosas do intestino. 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 & HALL, 2002).

Outro mecanismo de controle da absorção de ferro decorre de estados de hipóxia e pela produção de eritrócitos. 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. Na ausência de eritropoetina, a hipóxia tem pouco ou nenhum efeito sobre a estimulação da produção de hemácias (BOCCIO et al., 2003, PAPANIKOLAOU & PANTOPOULOS, 2005).

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 (GUYTON & HALL, 2002).

Ambas as situações aumentam a mobilização de ferro para a produção de hemácias, tanto dos estoques corporais, quanto da transferrina circulante no plasma. Esta, por sua vez, acaba por liberar o ferro preso à molécula, deixando mais apoferritina livre, sinalizando aos enterócitos sobre a necessidade de aumento da absorção (GUYTON & HALL, 2002).

Após a absorção, este ferro captado nas vilosidades intestinais chega enfim à membrana basolateral do enterócito e é finalmente liberado para o plasma sangüíneo. Aí se combina com a apotransferrina para formar a transferrina, que é então transportada no plasma até os tecidos corporais, onde liberará o ferro que poderá ser estocado ou utilizado pelas células. A transferrina 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 et al., 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. A hemossiderina é semelhante à ferritina, mas contém mais ferro e é muito insolúvel. Certos indivíduos com um defeito genético absorvem quantidades maiores de ferro do que as habituais e desenvolverem hemossiderose, uma doença de armazenamento de ferro. Se a hemossiderose estiver associada à lesão tecidual, ela é chamada hemocromatose (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005). Embora a regulação dos estoques possa ser mantida, mesmo em situações de ingestão aumentada, parece que os mecanismos de controle não são efetivos em todos os indivíduos (LYNCH & BAYNES, 1996).

A maneira como o organismo conserva e reutiliza o ferro é uma importante característica do metabolismo desse mineral. Mais de 90% do ferro da hemoglobina é repetidamente reciclado. A hemoglobina possui uma vida média de 120 dias; passado este período, o mecanismo de reciclagem é feito através da fagocitose dos eritrócitos senis, um processo que ocorre principalmente nos macrófagos no sistema retículo-endotelial, fígado, baço e medula óssea. A destruição normal da hemoglobina das hemácias libera, por dia, 90 mg de ferro, que são reaproveitadas



pelo organismo quase que na sua totalidade. Portanto, o ferro da dieta deve estar disponível para manter o equilíbrio corporal, repondo os 10% perdidos diariamente; caso contrário, resultará em sua deficiência (FERREIRA, 1993).

De maneira geral, somente pequenas quantidades de ferro são excretadas pelo organismo. A maior parte do ferro perdido nas fezes consiste de ferro não absorvido da dieta. O restante representa o ferro contido nas células descamadas do epitélio gastrointestinal, excreção de bile, descamação normal das células da pele e sangramentos. Praticamente nenhuma quantidade de ferro é excretada na urina e no suor. O homem normal perde ao redor de 1 mg de ferro diariamente. Na mulher existe uma perda adicional de ferro que acompanha a menstruação, ao redor de 0,5 mg por dia (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005; OLIVEIRA et al., 1989). Na Figura 4, pode-se observar o esquema do metabolismo de ferro em adultos.

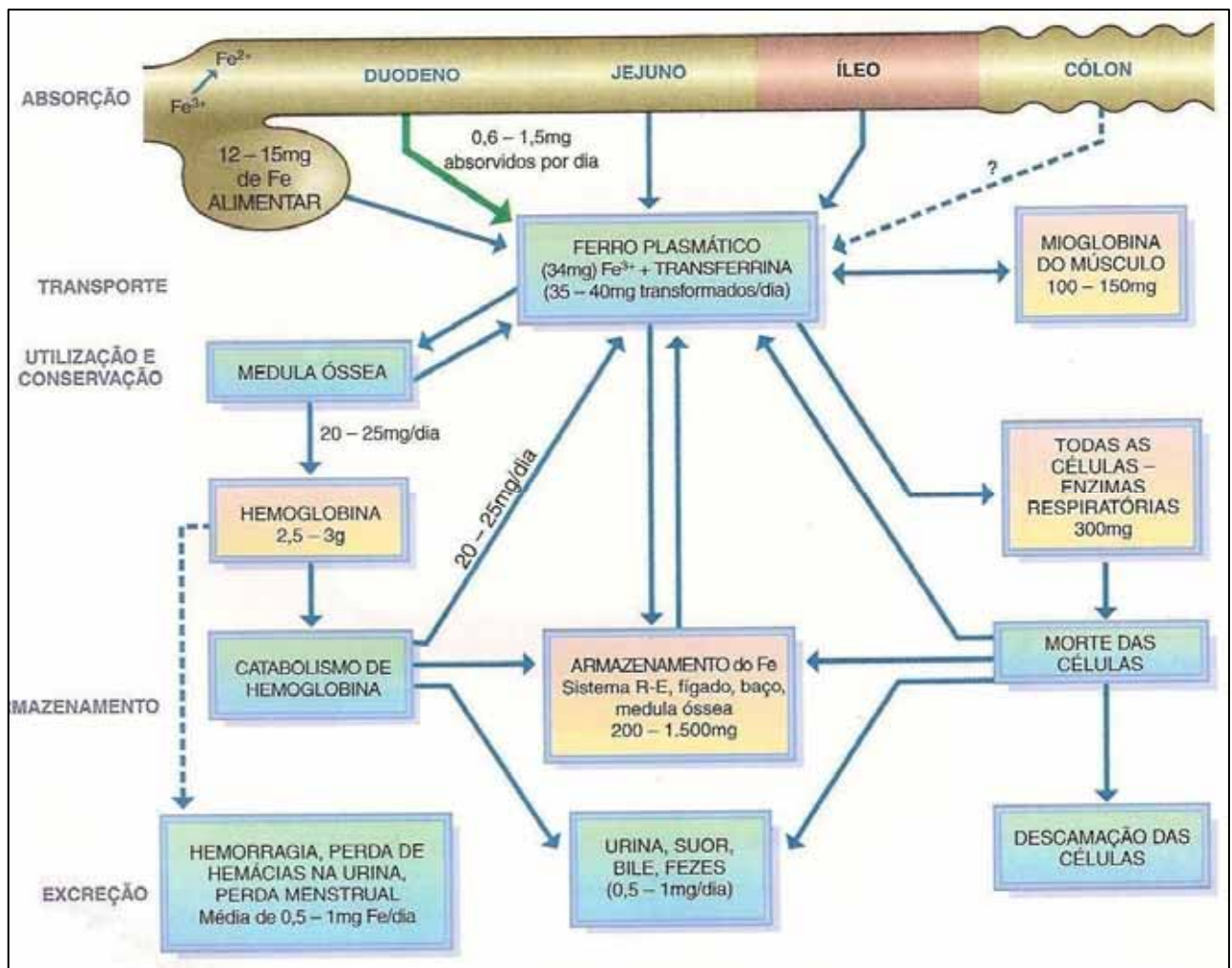


Figura 4. Metabolismo do ferro em adultos  
Fonte: Mahan & Escott - Stump, 2005.

O ferro para o metabolismo provém de três fontes: o reutilizado da degradação da hemoglobina, o liberado dos depósitos do corpo e o absorvido do aparelho gastrintestinal. Dessas três fontes, a maior contribuição provém da hemólise (destruição normal dos eritrócitos) (OLIVEIRA et al., 1989).

### **3.1.4 Recomendações nutricionais de ferro**

Recomendações nutricionais são as quantidades de energia e nutrientes que devem conter os alimentos consumidos para satisfazer as necessidades de quase todos os indivíduos de uma população sadia. Baseiam-se nos teores das necessidades, levando em consideração a biodisponibilidade, às quais se adiciona a quantidade necessária para cobrir a variabilidade individual (VANNUCHI et al., 1990).

As recomendações diárias de ferro para a população brasileira – mostradas na Tabela 1- baseiam-se nas novas recomendações propostas para americanos e canadenses: as DRIs – Dietary Reference Intakes (IOM, 2001). Destaca-se a evolução dos propósitos iniciais de combate às doenças carenciais para um enfoque atual de prevenção das doenças crônicas não transmissíveis.

As DRIs são um conjunto de valores de referência que incluem a EAR (*Estimated Average Intake*), AI (*Adequate Intake*), RDA (*Recommended Dietary Intake*) e UL (*Tolerable Upper Intake Level*), correspondentes às estimativas quantitativas de ingestão de nutrientes, estabelecidas para serem utilizadas para o planejamento e avaliação das dietas de indivíduos saudáveis em grupos, segundo estágio de vida e gênero. Enfatiza-se a necessidade de discussão quanto à propriedade e validade da aplicação de padrões desenvolvidos para a população norte americana em outras populações, inclusive a brasileira (IOM, 2001, Cozzolino, 2005).

O consumo recomendado de ferro para os diferentes grupos de idade é apresentado de acordo com as necessidades de ferro. 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 a infância, o crescimento e a gestação (FAO, 1991). A maior parte das necessidades nutricionais de ferro destina-se a formação de hemoglobina, sendo o restante utilizado na síntese de mioglobina e enzimas hemínicas.

**TABELA 1.** Ingestão dietética de referência (DRI): ingestões recomendadas de ferro para indivíduos

<b>Grupo etário</b>	<b>Ferro (<math>mg\ dia^{-1}</math>)</b>		
	<b>*AI/EAR</b>	<b>RDA</b>	<b>UL</b>
<b>Lactentes</b>			
0-6 meses	*0,27	-	40
7-12 meses	6,9	11	40
<b>Crianças</b>			
1-3 anos	3	7	40
4-8 anos	4,1	10	40
<b>Sexo masculino</b>			
9-13 anos	5,9	8	40
14-18 anos	7,7	11	45
19-30 anos	6	8	45
31-50 anos	6	8	45
51-70 anos	6	8	45
A partir de 70 anos	6	8	45
<b>Sexo feminino</b>			
9-13 anos	5,7	8	40
14-18 anos	7,9	15	45
19-30 anos	8,1	18	45
31-50 anos	8,1	18	45
51-70 anos	5	8	45
A partir de 70 anos	5	8	45
<b>Gravidez</b>			
Menos de 18 anos	23	27	45
19-30 anos	22	27	45
31-50 anos	22	27	45
<b>Lactação</b>			
Menos de 18 anos	7	10	45
19-30 anos	6,5	9	45
31-50 anos	6,5	9	45

Fonte: *Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies (IOM), 2001.*

AI/EAR- Ingestão adequada/Valor médio de ingestão diária estimada para atender às necessidades de 50% de indivíduos saudáveis.

RDA- Quantidade do nutriente suficiente para atender à necessidade de aproximadamente 97% a 98% dos indivíduos saudáveis.

UL- Maior nível de ingestão habitual do nutriente que provavelmente não coloca em risco de efeitos adversos quase todos os indivíduos.

Durante a infância as necessidades de ferro são altas devido ao rápido aumento da massa corpórea, o que ocasiona maior produção de hemoglobina. A fase de crescimento rápido durante a adolescência representa outro período de necessidades aumentadas: maiores no homem que na mulher; entretanto, com o início da menstruação, as necessidades da mulher excedem às do homem. Devido à variação individual da capacidade de absorção, às diferenças entre os alimentos quanto à disponibilidade de ferro para absorção, e à capacidade do organismo em aumentar a absorção de ferro durante os períodos de deficiência, é difícil converter as necessidades fisiológicas de ferro em necessidades dietéticas. As recomendações nos Estados Unidos para ferro estabelecidas pelo “Food and Nutrition Board” do “National Research Council” e os estabelecidos pela junta “FAO/WHO Expert Group” diferem, apesar de estarem baseadas nas mesmas considerações (FAO, 1991; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

As reservas de ferro, do nascimento aos seis meses de idade, quando a criança recebe com exclusividade o leite materno, atendem às necessidades fisiológicas da criança, não necessitando de qualquer forma de complementação. Isto se deve à biodisponibilidade elevada do ferro no leite humano; cerca de 50% de seu ferro é absorvível, o que compensa a sua baixa concentração (0,5-1 mg de ferro/litro). Entretanto, esta biodisponibilidade pode diminuir em até 80% quando outros alimentos passam a ser ingeridos pelo lactente. A partir dos seis meses, ocorre o esgotamento das reservas de ferro, e a alimentação passa a ter papel predominante no atendimento às necessidades deste nutriente (OSÓRIO, 2002).

Os principais fatores que contribuem para o declínio dos níveis de hemoglobina no primeiro ano de vida são representados pela baixa reserva de ferro fetal e curta duração do aleitamento materno, aliados ao oferecimento de alimentos com baixa densidade energética e limitado conteúdo de ferro, ademais das altas concentrações de componentes inibidores da absorção desse micronutriente, normalmente presentes nos alimentos que integram a dieta do desmame (WHO, 1998). O leite materno, fonte de ferro de alta biodisponibilidade, é oferecido para a maioria das crianças até o terceiro ou quarto mês de vida. Geralmente é associado ao leite de vaca, que além de conter baixo teor de ferro biodisponível, propicia pequenas perdas sangüíneas por lesionar a mucosa intestinal e provocar micro-

hemorragias (ACC/SCN, 1997). Pode, assim, contribuir com o declínio dos níveis de hemoglobina.

Para adolescentes do sexo masculino (de 14 a 18 anos de idade) a recomendação de ferro da RDA era de 11 mg/dia. As necessidades de ferro entre os homens diminuem após o estirão de crescimento da adolescência, enquanto as necessidades de ferro nos sexo feminino continuam a ser altas até a transição para a menopausa (NRC, 1989).

As antigas RDA para o ferro eram de 10 mg/dia para homens e mulheres na pós-menopausa e, agora, são de 8 mg/dia. As antigas RDA de 15 mg para mulheres em idade fértil (para repor as perdas de ferro da menstruação e fornecer as reservas de ferro suficientes para suportar uma gravidez) são agora de 18 mg/dia. As recomendações de ferro são maiores durante a gravidez, porém não durante a lactação, apesar dos suplementos serem freqüentemente recomendados para mulheres grávidas e lactentes. Nas mulheres grávidas requer-se o ferro não só para repor as perdas fisiológicas, mas, também, para permitir a expansão da massa de células vermelhas e prover as necessidades do feto e da placenta (NRC, 1989).

Conforme supracitado, somente ínfimas quantidades de ferro são excretadas pelo organismo. Esta perda diária de ferro num homem adulto é cerca de 1 mg. Já que a absorção média de ferro dietético é apenas de 10-20 %, uma porção diária de 9-10 mg atenderia as necessidades de um homem adulto. Estes valores estão em acordo com os recomendados na Tabela 1. Além das perdas fisiológicas de ferro, as mulheres férteis perdem até 2 mg por dia no período menstrual. Portanto as necessidades de ferro da mulher são maiores do que as de um homem (GUYTON & HALL, 2002).

### **3.1.5 Deficiência de ferro**

Em discrepância á tendências epidemiológicas descritas quanto ao declínio da DEP no Brasil, observa-se caminho oposto para outro tipo de nutrição deficitária: “a fome oculta”, definida como carência não explícita de um ou mais micronutrientes, e identificada como problema nutricional mais prevalente no mundo. A fome oculta

compromete várias etapas do processo metabólico, merecendo destaque as alterações observadas no sistema imunológico e no desenvolvimento físico e mental do indivíduo (ILSI, 2006).

Somente na última década o mundo passou a valorizar a importância dos micronutrientes na proteção e preservação de vidas. Uma das maiores deficiências de micronutriente priorizada pela Organização Mundial de Saúde, mundialmente, é: deficiência de ferro (ILSI, 2006).

A deficiência nutricional de ferro ocorre quando a oferta, a biodisponibilidade e/ou a utilização biológica dos nutrientes são insuficientes para promover o crescimento e desenvolver as funções normais do organismo. Elas abrangem as perdas obrigatórias do organismo e os requerimentos nutricionais para o crescimento com aumento das necessidades como na infância, adolescência e gravidez. A deficiência, também, pode ser causada por ingestão inadequada, absorção deficiente, metabolização imperfeita, perda sangüínea crônica. Se essa deficiência persiste, os estoques orgânicos de ferro são exauridos e a anemia ferropriva se instala, afetando os níveis de hemoglobina sangüínea (BRASIL, 2002; CARPENTER & MAHONEY, 1992).

Quando o estoque de ferro do organismo é depletado, o corpo sofre conseqüências funcionais, tais como a ineficiência do transporte de oxigênio e prejuízo no metabolismo oxidativo, no metabolismo nuclear e na transcrição gênica. As seqüelas clínicas incluem a anemia em si, a redução da atividade física, do rendimento do aprendizado (falta de memória) e da diminuição da “performance” no trabalho e a diminuição de eficiência da função imune (BEARD et al., 1996; BRASIL, 2002; CARPENTER & MAHONEY, 1992).

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 (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

A principal conseqüência da falta de ferro em pré-escolares é o déficit no desenvolvimento psicomotor, cujas seqüelas podem ser percebidas depois de 3

anos de a carência ter sido adequadamente tratada. Além de estar associada a sintomas clínicos como fraqueza, tontura, diminuição da capacidade respiratória e distúrbios comportamentais-irritabilidade (LOZOFF et al., 1991).

Geralmente a deficiência de ferro é caracterizada por 3 estágios, a saber:

(a) depleção de ferro: o armazenamento de ferro é baixo (baixos níveis de ferritina e hemossiderina), pequeno aumento da transferrina livre e valores normais de hemoglobina;

(b) eritropoese deficiente: o nível de saturação da transferrina cai e torna-se insuficiente para a manutenção de uma taxa ótima de eritropoese; a concentração de protoporfirina dos eritrócitos torna-se elevada, indicando um desequilíbrio entre a produção de protoporfirina e o suprimento intracelular de ferro. Contudo, o suprimento de ferro ainda é suficiente para manter 95% do nível normal de hemoglobina;

(c) anemia ferropriva: o terceiro estágio é caracterizado pelo esgotamento total das reservas de ferro, levando a uma produção insuficiente de hemoglobina, com o desenvolvimento de anemia microcítica e hipocrômica (CARPENTER & MAHONEY, 1992).

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 (MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

A anemia, por deficiência de ferro, é uma manifestação tardia de uma deficiência de ferro crônica.

### **3.1.6 Anemia**

As anemias nutricionais constituem o maior problema nutricional da atualidade, estimando-se que 2,150 bilhões de pessoas, quase 40% da população mundial, apresentam carência de ferro ou níveis baixos de hemoglobina. É consenso

entre os estudiosos que a deficiência de ferro é o responsável principal pelas anemias nutricionais, chegando a ser responsável por 95% das anemias. É considerada a carência nutricional mais prevalente em todo o mundo, afetando, principalmente, lactentes, pré-escolares, adolescentes e gestantes (BRASIL, 2002, BRUNKEN et al., 2002, ILSI, 2006).

A anemia, diminuição anormal na concentração de hemoglobina no sangue, é considerada a principal consequência da deficiência de ferro. A medida da concentração de hemoglobina é a forma mais comum de avaliação bioquímica para o diagnóstico da deficiência de ferro, uma vez que esta se traduz freqüentemente por redução da hemoglobina e, na maior parte das vezes, a redução da hemoglobina se deve a redução dos estoques de ferro (SZAFARC, 1995).

A redução da concentração de hemoglobina sanguínea, comprometendo o transporte de oxigênio para os tecidos, tem como principais sinais e sintomas: uma redução do rendimento físico, com consequências negativas nas atividades que necessitam de esforço muscular mais intenso, ocorrendo a fraqueza, fadiga, palpitação. Quando no processo evolutivo, a anemia por deficiência de ferro se torna mais acentuada, os defeitos se manifestam na estrutura e função dos tecidos epiteliais, especialmente, língua, unhas, boca e estômago. A pele pode parecer pálida e a conjuntiva ocular apresentar-se descorada (cor rosa leve), ao invés de vermelha. As unhas dos dedos se tornam finas e planas e, eventualmente, a coiloníquia (unhas em forma de colher) se desenvolve. As alterações bucais incluem atrofia das papilas linguais, queimadura, vermelhidão e, em casos severos, uma aparência completamente lisa, cerácea e brilhante da língua (glossite). As alterações gastrintestinais estomatite angular também pode se desenvolver, assim como uma forma de disfagia. A gastrite ocorre frequentemente e pode resultar em acloridria (OSÓRIO, 2002; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

O envolvimento neurológico se manifesta nas mudanças comportamentais – fadiga, anorexia e pica, especialmente pagofagia (ato de comer gelo). Em crianças há redução da função cognitiva, do crescimento e do desenvolvimento psicomotor, além de afetar a termorregulação e a imunidade da criança. Entretanto, os mecanismos homeostáticos fornecem uma notável adaptação, podendo-se também



encontrar acentuada anemia em indivíduos que não apresentam qualquer sintoma (OSÓRIO, 2002; MAHAN & ESCOTT-STUMP, 2005).

Considera-se que a prevalência de 10 a 40% de deficiência de ferro reflete um problema moderado de Saúde Pública e a prevalência maior que 40% caracteriza a deficiência de ferro como um grave problema de Saúde Pública (ACC/SCN, 1997). A Organização Mundial da Saúde estima que metade da população de crianças com idade inferior a 4 anos, nos países em desenvolvimento, sofre de anemia (OMS, 1998).

Entre os determinantes da anemia em crianças, encontram-se o baixo nível sócio-econômico e escolaridade materna, falta de acesso aos serviços de saúde, precariedade nas condições de saneamento, a prematuridade/baixo peso de nascimento, abandono precoce do aleitamento materno, parasitismo intestinal, má absorção, aumento das necessidades orgânicas. Em adultos, os fatores que conduzem a anemia, pode ser devido a absorção inadequada, devido à diarreia, acloridria, doença intestinal, gastrite atrófica, exceção aumentada devido ao sangue menstrual excessivo nas mulheres, hemorragia por lesão; necessidade de ferro aumentada para o crescimento do volume sangüíneo, o qual ocorre durante a adolescência, gravidez e lactação (SILVA et al., 2001, OSÓRIO, 2002).

Estas considerações revelam, portanto, o amplo espectro de situações que contribui para o surgimento da anemia nutricional, ressaltando-se que, na avaliação conclusiva desses fatores, o problema da biodisponibilidade, mais do que simplesmente o quantitativo do consumo, constitui a questão básica na gênese do problema (GROSS et al., 1994). No entanto, em áreas onde a prevalência da anemia é expressiva, a causa mais comum é baixa biodisponibilidade de ferro dietético (ACC/SCN, 1997).

Nos últimos anos, alguns estudos realizados no Estado de São Paulo têm evidenciado que, apesar da diminuição da prevalência da desnutrição e da mortalidade infantil, continua havendo aumento da anemia (SILVA et al, 2001).

Brunken et al. (2002) verificaram elevada prevalência de anemia (63%) e de anemia grave (22,5%) em crianças menores de 36 meses de idade, em creches

públicas de Cuiabá (período integral). Segundo os autores, essa carência de ferro pode ser reflexo da interrupção precoce do aleitamento materno e de uma alimentação com baixa disponibilidade desse nutriente, porém, nem sempre acompanhado de baixa ingestão calórica. Embora as fontes de ferro (carnes e feijões) participassem do consumo alimentar diário, certamente não ocorreu na proporção que deveria, além de serem ingeridos concomitante com fatores antinutricionais presentes nos chás e em outras bebidas à base de guaraná, muito comum na região.

Brunken et al (2002) em levantamento bibliográfico referente à anemia em crianças menores de 5 anos no Brasil encontraram prevalência elevada, variando de 25 a 68%.

Em Maceió, a prevalência da anemia ferropriva em uma amostra representativa de pré-escolares da primeira série do ensino fundamental, foi de 25,4% (SANTOS et al., 2002). Porém, Ferreira et al.(2002) observaram que a prevalência de anemia, em estudos conduzidos em favelas no Estado em Alagoas, no conjunto das crianças da mesma faixa etária foi de 96,4%. Imediatamente após esse trabalho, iniciou-se um projeto de extensão onde foram desenvolvidas diversas atividades direcionadas à prevenção e ao controle do problema, tais como a educação nutricional e tratamento com sulfato ferroso e anti-helmíntico polivalente. Seis meses após a implantação desses procedimentos, verificou-se que a redução da prevalência de anemia fora discreta, no entanto eliminaram-se as formas graves que antes acometiam 16% das crianças. Em 2008, foi observada a prevalência de 12,3% de anemia, na mesma comunidade, surpreendentemente baixa considerando-se o contexto ambiental em que vivem (FERREIRA et al., 2008).

A grave situação da deficiência de ferro no Brasil tem levado à necessidade de avaliar as diferentes alternativas de solução do problema, dentre elas a fortificação de alguns alimentos básicos.

A Política Nacional de Alimentação e Nutrição estabeleceu “o programa de fortificação de farinhas de trigo e de milho” com ferro (4,2 mg/a100 g) e ácido fólico (150µg/100 g), implantado em todo o país desde junho de 2004, mostra a sintonia do governo brasileiro com as recomendações internacionais e sua vontade política em

erradicar a anemia e minimizar a deficiência de ferro dentre os problemas de saúde pública (ILSI, 2006).

Para que um país possa crescer e se desenvolver, sua população deve ter condições de trabalhar e criar. Além disso, os gastos com educação não podem ser desvinculados do investimento na saúde, pois uma população desnutrida e anêmica tem capacidade cognitiva e produtiva aquém das expectativas (BRUNKEN et al., 2002).

### **3.2 Biodisponibilidade de ferro**

A composição dos alimentos é uma indicação muito significativa do seu valor nutritivo; contudo, não é suficiente para uma caracterização completa do ponto de vista nutritivo, isso porque, raríssimos são os nutrientes que, contidos nos alimentos, tornam-se totalmente disponíveis ao organismo após sua ingestão (SGARBIERI, 1987).

O termo biodisponibilidade ou disponibilidade biológica tem sido extensivamente usado na área de alimentos e nutrição. Sua origem conceitual, entretanto, foi no campo da farmacologia experimental, especificamente em relação aos medicamentos (BIANCHI et al., 1992). Define-se biodisponibilidade como a proporção do nutriente nos alimentos que é efetivamente absorvida e utilizada. Ou seja, a biodisponibilidade é definida como a fração do nutriente em uma dieta ou em um alimento que pode ser utilizada por todo organismo (BENDER, 1988).

Segundo Cozzolino (2005) esta definição, persistiu por um tempo, entretanto em 1997, na Conferência Internacional de Biodisponibilidade realizado em Wageningen na Holanda, foi proposta uma redefinição para o termo biodisponibilidade: refere-se a fração de qualquer nutriente ingerido que tem o potencial para suprir demandas fisiológicas em tecidos alvos.

Adotou-se, nesta conferência, a utilização do termo SLAMANGHI, que foi proposto para o estudo de carotenóides e considerou-se que poderia ser utilizado também para os demais nutrientes. O termo lembra os aspectos que devem ser

considerados nos estudos de biodisponibilidade, e cada letra tem seu significado: S = *Species* (especificação do nutriente); L = *Linkage* (ligação molecular); A = *Amount in the diet* (quantidade na dieta); M = *Matrix* (matriz onde o nutriente está incorporado); A = *Attenuators of absorption and bioconversion* (atenuadores da absorção e bioconversão); N = *Nutrient Status* (estado nutricional do indivíduo); G = *Genetic factors* (fatores genéticos); H = *Host related factors* (fatores relacionados ao indivíduo); e I = *Interactions* (interações).

Mahan & Escott-Stump (2005) definem como a quantidade disponível para absorção no intestino delgado e a absorção real (eficiência) do mineral implica em sua retenção no corpo e utilização nas funções celulares ou teciduais. Em relação ao ferro, somente uma pequena proporção do total do micronutriente ingerido na dieta é utilizado por nosso organismo. A utilização compreende os processos de transporte, assimilação celular e transformação na forma biologicamente ativa, de tal maneira que o nutriente seja empregado na manutenção das funções metabólicas normais.

Absorção não é sinônimo de disponibilidade, posto que alguns constituintes na dieta, apesar de serem absorvidos de maneira efetiva, não são metabolizados e, sim, eliminados (BARBERÁ & FARRÉ, 1992). Biodisponibilidade, portanto, não é propriedade de dieta ou alimento por si, mas do indivíduo em relação ao alimento ou à dieta (COZZOLINO & PEDROSA, 1995). A biodisponibilidade de um nutriente é influenciada por fatores distintos, que se classificam em intrínsecos (fisiológicos) e extrínsecos (dietéticos) (SOUTHON et al., 1988).

A porção disponível de qualquer nutriente é aquela que é absorvida em uma forma que possa ser utilizada pelo organismo em seu metabolismo celular. Os fatores mais importantes que interferem na biodisponibilidade dos nutrientes são: digestibilidade, absorção, complexação e presença de substâncias tóxicas. Em relação aos minerais, existe uma grande variação de disponibilidade biológica que depende, principalmente: da natureza química do composto mineral; da complexação com outras substâncias contidas nos alimentos; da natureza química do composto formado; e, da competição de dois ou mais elementos pelo mesmo sítio de ação ou mecanismo de absorção (SGARBIERI, 1987).

A biodisponibilidade dos nutrientes no organismo ocorre em três fases: disponibilidade no lúmen intestinal para absorção, absorção e/ou retenção e utilização pelo organismo. O processamento dos alimentos pode influenciá-la, alterando a quantidade e a espécie de ferro no produto, em relação à matéria-prima (primeira fase). A segunda e terceira fase dependem do mecanismo homeostático e necessidades fisiológicas individuais do organismo (FAIRWEATHER-TAIT, 1993).

No caso de minerais, biodisponibilidade é determinada, principalmente, pela eficiência de absorção a partir do lúmen intestinal para o sangue. Em alguns casos, entretanto, os nutrientes absorvidos podem estar na forma que não são utilizados. Por exemplo, os quelatos de ferro são absorvidos, mas o ferro não está disponível para incorporar-se às proteínas (CARRAZZA, 1988).

Uma característica importante dos minerais, é que estes, quando metabolizados, liberam os respectivos íons que são reutilizados pelo organismo. Desta maneira, suas necessidades são sempre iguais às perdas obrigatórias, adicionadas às quantidades para formação de tecidos novos ou de crescimento. Nas recomendações nutricionais de minerais tem que se levar em conta, também, a sua biodisponibilidade, absorção intestinal e inter-relações com outros nutrientes que interferem com a absorção (CARRAZZA, 1988).

O termo biodisponibilidade, relacionado ao ferro, é a medida daquela fração de ferro alimentar capaz de ser absorvida pelo trato gastrintestinal e, subseqüentemente armazenada e incorporada ao heme (BIANCHI et al., 1992).

A biodisponibilidade do ferro é influenciada por diversos fatores (que também afetam a absorção de outros minerais, como cálcio, zinco, cobre e magnésio), como as necessidades nutricionais individuais, a integridade e o bom funcionamento de todo trato gastrintestinal, os estados fisiológicos, como o de crescimento e gravidez, e, doenças nutricionais (DE ANGELIS, 1999; LATUNDE-DADA & NEALE, 1986).

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 disponibilidade 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 a proporção dos fatores dietéticos, que podem inibir ou facilitar sua absorção (DE ANGELIS, 1999; LATUNDE-DADA & NEALE, 1986).

As dietas têm sido classificadas como sendo de alta (15%), intermediária (10%) e baixa (5%) disponibilidade de ferro, dependendo da proporção de ferro-heme e da presença de inibidores e intensificadores da absorção de ferro não-heme (DE MAYER et al. 1989; FAO/OMS, 1988).

A dieta de baixa disponibilidade é baseada em cereais e vegetais, quantidades insignificantes de peixes, carnes e aves (até 30 g) e ácido ascórbico (até 25 mg). A dieta de disponibilidade intermediária é baseada também em cereais, vegetais ricos em ácido ascórbico e carne. A dieta de alta disponibilidade é uma dieta diversificada, contendo quantidades significantes de ácido ascórbico (75 mg), carnes, aves ou peixes (90 g) e baixa quantidade do ácido fítico. Este tipo de dieta pode facilmente ser classificada como intermediária, quando existe consumo de inibidores, tais como o chá, fibras e alimentos com elevado teor de cálcio (DEMAYER et al. 1989; FAO/OMS, 1988).

A absorção do ferro não heme depende do sal ou quelato usado, que podem aumentar ou reduzir a absorção do ferro, dependendo das suas constantes de estabilidade e solubilidade no pH intraluminal, conforme demonstrado no Quadro 1 (CHAUD & FREITAS, 1994).

Em relação aos fatores químicos (estado de oxidação, solubilidade e pH) que afetam a biodisponibilidade do ferro não heme, sabe-se que o estado de oxidação do ferro varia dependendo do ambiente químico. Na água, 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 sobre os sais férricos é, em parte, responsável pela maior biodisponibilidade dos íons ferrosos no trato gastrointestinal, que dos íons férricos (BIANCHI et al., 1992).

Com o conhecimento da biodisponibilidade dos minerais, considerando os fatores da dieta e do indivíduo, as recomendações destes nutrientes poderão ser

estabelecidas com maior precisão e, desta forma, poderão ser elaborados guias de alimentação específicos para cada país (COZZOLINO, 1997).

**Quadro 1.** Interações dietéticas que alteram a biodisponibilidade do ferro não heme.

NUTRIENTE QUE INTERAGE	EFEITOS
Proteínas	Aumenta a absorção do ferro não heme
Aminoácidos	Mistura de aminoácidos favorecem a absorção do ferro, sendo a cisteína um dos mais ativos
Ácidos orgânicos	Dietas com pH relativamente baixo ou com alto conteúdo de ácido láctico facilitam a absorção
Fosfatos de cálcio	Diminuem a absorção
Zinco	A administração de suplementos de zinco inibe a absorção do ferro. Se o suplemento contiver os 2 elementos, a biodisponibilidade de ferro é menor quanto maior a proporção Zn: Fe
Vitamina C	Favorece a absorção do ferro não heme ao mantê-lo solúvel no pH intestinal. Facilita a mobilização de ferro ao inibir a degradação de ferritina por enzimas lisossômicas.
Vitamina A	Sua deficiência inibe a utilização do ferro e acelera a aparição de anemia. A deficiência de ferro se associa epidemiologicamente com a deficiência de vitamina A
Chá, café	Ao se tomar chá simultaneamente com fonte de ferro, sua absorção cai de 10,4 para 3,3 %, devido à formação de complexos com taninos na luz intestinal. O café também inibe a absorção de ferro
Polifenóis	Ligam e insolubilizam o ferro

Fonte: Caballero, 1988.

### 3.3 Métodos de avaliação da biodisponibilidade do ferro “in vivo”

A importância da determinação da biodisponibilidade de minerais em dietas está centralizada no estabelecimento das recomendações de ingestão desses elementos, em função das necessidades dos indivíduos. Assim, os estudos da biodisponibilidade de nutrientes devem ser específicos para cada país, tendo em vista a grande diversidade de dietas e de indivíduos (COZZOLINO, 1997).

Os traçadores isotópicos apresentam em suas estruturas nucleares os isótopos, elementos químicos idênticos, mas com características nucleares diversas. Isto é, trata-se de um mesmo elemento químico (com mesmo número atômico), mas

com composição nuclear diferente; o que varia é o número de nêutrons. As diferentes proporções entre prótons e nêutrons no núcleo atômico resultam em arranjos nucleares diferentes entre si e que podem resultar em situações de estabilidade (isótopos estáveis) ou de instabilidade (isótopos radioativos) (MARINO, 1994).

A identidade química é a premissa básica para a troca de elementos e para a homogeneização com o elemento e a base da confiabilidade dos resultados obtidos.

Existem métodos para avaliar a biodisponibilidade de isótopos por marcação intrínseca e extrínseca. Segundo Cozzolino (2005), as refeições, ou componentes alimentares específicos, podem ser marcadas com acréscimo de traçadores intrínseca ou extrinsecamente.

A marcação extrínseca consiste em acréscimo de um radionuclídeo, usualmente na forma de um sal inorgânico, diretamente ao alimento que está para ser avaliado. A marcação intrínseca envolve a incorporação biológica do radionuclídeo dentro de uma porção comestível do alimento, durante o crescimento de vegetais ou animais. Nesse caso, o radionuclídeo é biologicamente incorporado aos tecidos (de vegetais ou animais) e associado com os constituintes de ocorrência natural (VAN CAMPEN & GLAHN, 1999; WIENK et al., 1999).

Segundo Barrett et al. (1994), isótopos estáveis de ferro parecem ser tão válidos quanto radioisótopos na determinação de absorção de ferro por marcação intrínseca ou extrínseca. A marcação extrínseca com radioisótopos apresentou-se tão eficiente quanto a marcação intrínseca para o estudo de biodisponibilidade do ferro (WEAVER et al., 1984, DONANGELO et al, 2003). Porém, Gislason et al. (1992) reportaram que absorção do ferro intrínseco foi mais alta que do extrínseco.

As características dos radionuclídeos são os primeiros itens a ser analisados. Assim, meia-vida, tipo de emissão e energia de emissão serão avaliados inicialmente. Depois de administrada o radioisótopo, pode ser utilizada técnicas como retenção nos tecidos e contagem no corpo inteiro no organismo.



O método de retenção no tecido depende da incorporação do nutriente. Em humanos, na prática, essa facilidade só tem sido observada para o ferro, dada a sua alta incorporação na hemoglobina. Assumindo-se que 80% da quantidade de ferro ingerida são incorporadas à hemoglobina. Alguns estudos empregam isótopos radioativos ( $^{55}\text{Fe}$  e/ou  $^{59}\text{Fe}$ ) para marcar de forma extrínseca o ferro dos alimentos e determinar a incorporação na hemoglobina das doses ingeridas de isótopos, após 14 dias de sua administração (COZZOLINO, 2005; TURNLUND, 1991).

O método de contagem no corpo inteiro tem sido amplamente utilizado em estudos com animais e humanos e pode ser realizado, em grande parte, com radioisótopos emissores  $\gamma$ . Em geral, o  $^{59}\text{Fe}$  marcado, intrínseca ou extrinsecamente, em um alimento ou refeição é ministrado ao animal ou homem. E realiza-se a contagem corporal (1 a 5 h após a administração da refeição) antes que ocorra a excreção fecal. A contagem do  $^{59}\text{Fe}$  diminuirá como resultado da excreção fecal. Após período suficiente de contagem no corpo inteiro (5 a 7 dias para animais e 10 a 14 dias para humanos) considera-se ter sido atingido um estágio de equilíbrio do radioisótopo dentro do organismo o que permite considerá-lo um estado constante de contagem. Os resultados da absorção e retenção de ferro são expressos como porcentagem da dieta radiomarcada administrada: Somente  $^{59}\text{Fe}$  pode ser detectado pela contagem no corpo inteiro em detectores de cintilação sólida, já que  $^{55}\text{Fe}$  não emite raios  $\gamma$  (WIENK et al, 1999; VAN CAMPEN e GLAHN, 1999).

### **3.4 Radionuclídeos em estudos de biodisponibilidade**

Os radionuclídeos apresentam a emissão característica de suas radiações, o que os torna diferenciáveis nos sistemas químicos e biológicos, preponderantemente estáveis do ponto de vista nuclear. São, assim, traçadores ideais pela especificidade com que são identificados e quantificados em qualquer etapa do processamento e mesmo quando mais de um radioisótopo está presente. Esse procedimento é normalmente caracterizado por uma boa precisão.

### 3.4.1 Radioatividade

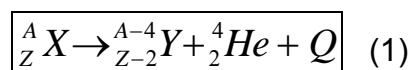
É a transformação espontânea do núcleo de um átomo instável, resultando freqüentemente na emissão de radiação. Como resultado dessa emissão, o átomo radioativo é transformado ou, em outras palavras, sofre desintegração ou decaimento, transformando-se em um átomo de elemento diferente, que pode ou não ser radioativo. A radioatividade observada indiretamente por Becquerel foi resultado da emissão alfa do isótopo de urânio, sendo ele o inventor da palavra radioatividade para descrever a produção desses raios (QUEIROZ et al., 2004).

A desintegração é também chamada de decaimento radioativo, onde o núcleo está diminuindo sua radioatividade para tornar-se estável. Entre as radiações que podem ser liberadas em um processo de decaimento têm-se as partículas alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ) e, algumas vezes, também raios gama ( $\gamma$ ). Cada radioisótopo emite uma quantidade diferente de radiação e a combinação dessas radiações liberadas caracteriza o radioisótopo (ABDALLA, 2004).

O tipo de emissão é, portanto, característico de cada elemento radioativo, decorrente de sua própria estrutura nuclear e de como ela varia em relação às condições de estabilidade para cada elemento químico. O que varia no núcleo é a proporção entre prótons e nêutrons e o número de combinações existentes gera os radioisótopos.

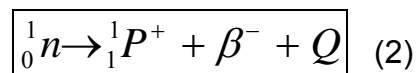
A partícula alfa é emitida por núcleos pesados, de alto número atômico, isto é, de massa atômica superior a 60. Um núcleo instável emite uma partícula com 2 prótons e 2 nêutrons, dando origem a outro elemento de número atômico com 2 unidades a menos que o primeiro (e número de massa 4 unidade a menos). A partícula emitida ( $\alpha$ ) é, portanto, igual ao núcleo do  ${}^4\text{He}$  (NASCIMENTO FILHO, 1997).

Esquemáticamente, representa-se a reação segundo a Equação 1:



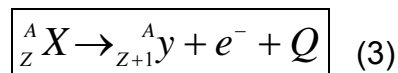
Q= energia liberada

Segundo Nascimento Filho (1997), as partículas beta são idênticas aos elétrons, mas de origem diversa, já que são emitidas pelo núcleo. Podem ser positivas ou negativas e estão presentes em muitos radioisótopos isoladamente ou associadas à radiação gama. É comum tanto em núcleos pesados como em leves. Admite-se que um nêutron do núcleo se transforma num próton mais um elétron e que, no instante da formação, este elétron seja emitido pelo núcleo, e a ele se dá o nome de partícula beta, conforme demonstrado na Equação 2:



Q= energia liberada

Como se pode observar, o número de prótons no núcleo aumenta de uma unidade, enquanto que o número de massa permanece o mesmo, pois, deixa de existir um nêutron segundo a Equação 3:



Q= energia liberada

As radiações gama são ondas eletromagnéticas, como os raios X, diferenciando-se deles por serem emitidos pelo núcleo atômico. A desintegração de um núcleo instável tem como objetivo atingir uma condição de maior estabilidade. Neste sentido, os raios gama ocorrem com o retorno do núcleo excitado ao estado fundamental, em uma ou mais etapas, após os processos de emissão de partículas  $\alpha$ ,  $\beta$  ou captura eletrônica. Assim, os raios  $\gamma$  são produzidos por transformações nucleares, enquanto os raios X são provenientes de transições eletrônicas. O espectro de emissão de raios  $\gamma$  é característico de cada núcleo e, portanto, importante para caracterizar o radioisótopo (QUEIROZ et al., 2004).

A interação básica da radiação com a matéria é a ionização, com formação de par de íon, representado pelo elétron que é liberado e o íon positivo que resulta em sua saída. O grau de ionização é inversamente proporcional à penetração nos meios com os quais interagem e variam, em ordem decrescente (alfa > beta > gama). Conseqüentemente a penetração nos diversos meios, medida pelo alcance em cm,

estará em ordem inversa (gama > beta > alfa). Ou seja, a ordem de periculosidade das radiações gama (mais perigosa), beta e alfa (menos perigosas) é para exposições externas (fora do corpo), invertendo-se para exposições internas (ingestão, inalação) ou contaminação superficial da pele (MARINO, 1994).

### 3.4.2 Características físicas

A desintegração radioativa ocorre com liberação de energia medida em elétron-Volt (eV). A energia liberada pelos átomos instáveis, radioativos é denominada radiação ionizante.

Cada radiação que é emitida pelo núcleo do radionuclídeo tem sempre a mesma energia, que lhe é característico, e que pode ser simples ou múltipla como ocorre no  $^{59}\text{Fe}$ , conforme mostra o esquema de desintegração do  $^{59}\text{Fe}$  na Figura 5.

A análise temporal do decaimento radioativo nos leva à caracterização dos radioelementos, juntamente com o tipo de emissão e a energia da emissão. A constante que rege a desintegração nuclear é conhecida como meia vida ( $\tau_{1/2}$ ), expressa em unidade de tempo (s, h, d). A constante de decaimento radioativo  $\lambda$  é uma característica de cada radioisótopo e exprime a probabilidade da ocorrência de desintegração nuclear, ou, em outras palavras, exprime a velocidade de desintegração nuclear (MARINO, 1994).

A meia-vida física de um radioisótopo significa o tempo necessário para que a atividade radioativa inicial ou o número de átomos iniciais de uma amostra se reduza à metade. A meia-vida é uma das formas utilizadas para expressar a velocidade de desintegração nuclear de um radioisótopo, ou seja, a meia-vida física ( $\tau_{1/2}$ ) de um isótopo radioativo é definida como o tempo necessário para que a metade dos átomos radioativos de uma amostra sofra desintegração, independentemente de seu valor inicial. A meia-vida para diferentes radioisótopos varia de 1 microsegundo a 10 bilhões de anos. Radioisótopos com meia-vida curta têm uma alta taxa de decaimento, ocorrendo o inverso com os de meia-vida longa (MARINO, 1994; NASCIMENTO FILHO, 1997).

A atividade radioativa é uma forma de expressarmos a velocidade que o átomo se desintegra. A atividade radioativa representa a velocidade de desintegração de um determinado núcleo radioativo, cuja unidade é o número de átomos que se desintegram na unidade de tempo, desintegrações por minuto (dpm) ou desintegrações por segundo (dps), ou simplesmente  $s^{-1}$ , expressa em Becquerel (Bq), que equivale 1 dps, ( $1 \text{ Bq} = 1 \text{ dps} = 1 \text{ s}^{-1}$ ), no sistema internacional de unidades. Anteriormente a medida era expressa em Ci, que equivalia a  $3,7 \times 10^{10}$  dps. Ver **Anexo A** (QUEIROZ et al., 2004).

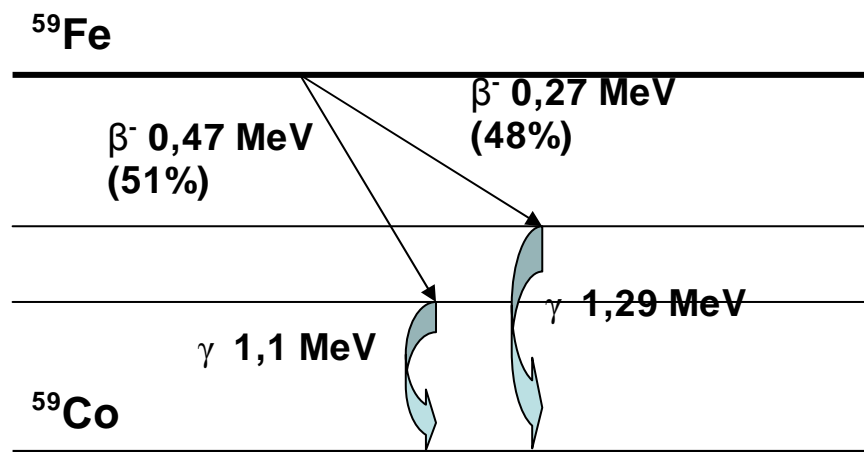


Figura 5. Esquema de desintegração do  $^{59}\text{Fe}$

A atividade específica (AE) ou radioatividade específica é a relação entre a atividade radioativa e a massa do composto no qual está presente, podendo sua unidade ser dada em radioatividade por quantidade da amostra ( $\text{MBq ng}^{-1}$ ,  $\text{mCi mg}^{-1}$ ,  $\text{Bq mg}^{-1}$ ,  $\mu\text{Ci mg}^{-1}$ ) (MARINO, 1994).

Do ponto de vista experimental, os radioisótopos podem ser uma ferramenta inestimável na pesquisa e dois fatores são relevantes na sua escolha: meia-vida física e os tipos de radiações liberadas no decaimento radioativo.

### 3.4.3 Meia-vida efetiva e biológica

Para o número de átomos radioativos, em experimentos, é razoável esperar-se certo número de emissões ou transformações por segundo (ABDALLA, 2004).

A taxa de decaimento espontânea de um radioisótopo é usada como indicadora da quantidade da radioatividade presente, derivando a unidade de radioatividade, inicialmente denominada de Curie (Ci) e definida como “a quantidade de qualquer material radioativo no qual ocorram  $3,7 \times 10^{10}$  desintegrações por segundo (dps)”, ou seja,  $1 \text{ curie} = 1 \text{ Ci} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ dps} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ Bq}$ . Em experimentos com material radioativo, as atividades utilizadas oscilam entre nanocuries ( $1 \text{ nCi} = 37 \text{ Bq}$ ) ou menos, até uns poucos microcuries ( $1 \mu\text{Ci} = 3,7 \cdot 10^4 \text{ Bq}$ ) (QUEIROZ et al., 2004).

O decaimento ou desintegração de um átomo radioativo é incluído de eventos fortuitos individuais e, estatisticamente, os comportamentos comuns podem ser descritos por uma lei precisa, segundo a Equação 4:

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (4)$$

onde “N” é o número de átomos radioativos presentes no radionuclídeo no tempo “t”, “N<sub>0</sub>” é o número de átomos radioativos presentes no radionuclídeo no tempo “t = 0”; “e” é a base do logaritmo natural (e = 2,1782...) e “λ” é uma constante de proporcionalidade, denominada “*constante de decaimento*” (ABDALLA, 2004).

A constante de decaimento é definida como “a fração do número de átomos radioativos presentes no radionuclídeo que decai na unidade de tempo, sendo expressa em termos de 1/tempo”. É característica de cada nuclídeo.

A taxa de decaimento radioativo é característica de cada radionuclídeo. Cientistas falam sobre esta taxa como a meia-vida radioativa de um radionuclídeo, geralmente chamado só “meia-vida” (ABDALLA, 2004).

A meia-vida física se relaciona com a meia-vida biológica, originando a meia-vida efetiva, utilizada sempre que o radionuclídeo seja administrado a um organismo vivo.

O número de átomos radioativos presentes em um sistema, em um dado instante inicial, decresce pelas ações combinadas do decaimento radioativo físico e eliminação biológica. Assim, a probabilidade total ou efetiva de eliminação dos átomos radioativos será a soma das probabilidades de desintegração física e a probabilidade de eliminação biológica. Ou, em termos de meias-vidas, tem-se que a meia-vida efetiva  $\tau_{ef}$  é dada segundo a Equação 5:

$$\lambda/\tau_{ef} = 1/\tau_{fis} + 1/\tau_{biol} \quad (5)$$

Desse modo, a meia-vida efetiva é definida como o intervalo de tempo necessário para que a metade dos átomos radioativos presentes em um sistema ou compartimento, em um dado instante inicial, seja eliminada pelas ações combinadas do decaimento radioativo físico e pela eliminação biológica (QUEIROZ et al., 2004).

Deve ser ressaltado que a meia-vida física depende unicamente do radioisótopo, enquanto a meia-vida biológica e, conseqüentemente, a meia-vida efetiva dependem do composto marcado utilizado e do substrato onde está depositado (QUEIROZ et al., 2004).

Pode-se estimar a meia-vida biológica (na forma) segundo a Equação 6:

$$\tau_{biol} = 0,693 * t / \ln(A_0/A) \quad (6)$$

Onde  $\tau_{biol}$  = meia-vida biológica, e  $A_0$ ,  $A$  = atividades do radioisótopo no instante inicial ( $t=0$ ) e após decorrido um tempo  $t$ , respectivamente.

A meia-vida física do radioisótopo  $^{59}\text{Fe}$  é de aproximadamente 44,6 dias. Ao se trabalhar com animais, esse processo ocorre, porém, há também a eliminação natural do organismo, conhecido como decaimento biológico. Para determinação da meia-vida biológica do ferro utilizou-se a Equação 6 supracitada. A meia-vida biológica no animal pode ser de 5,14 dias.

A meia-vida biológica representa o período de tempo gasto para que 50% dos átomos radioativos sejam removidos da corrente sanguínea- indicando como o elemento em estudo é metabolizado pelos diversos tecidos no organismo (QUEIROZ et al., 2004).

Radiotraçador é um átomo ou molécula radioativa utilizada para monitorar processos biológicos. Os radioisótopos apresentam as mesmas propriedades químicas que as espécies não radioativas, servindo como indicadores ou traçadores do caminho percorrido pelas moléculas no ambiente. Essas características os tornam uma das mais úteis ferramentas para acompanhamento de diversos processos no ambiente ou nos sistemas biológicos (QUEIROZ et al., 2004).

### 3.5 Propriedades nutricionais do feijão

Historicamente leguminosas, feijões, favas existiam e faziam parte da alimentação dos índios, conforme relatos históricos de Câmara Cascudo. O feijão é citado como o alimento de resistência oferecidos aos escravos africanos e é certamente o grande responsável, durante séculos, pela sobrevivência nutricional da maioria da população brasileira. Juntamente ao arroz foi se tornando a alimentação diária, trivial e habitual em nosso país.

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) é a leguminosa mais importante para a população mundial, principalmente, América Latina, Índia e África, onde a proteína animal é limitada por razões econômicas, religiosas e culturais. É uma leguminosa originária das regiões elevadas da América Central (México, Guatemala e Costa Rica), apresenta alto teor protéico na composição centesimal, é excelente fonte de carboidratos e fibra, apresenta baixo teor de lipídeos, sódio e não contém colesterol, além de possuir vitaminas (principalmente do complexo B) e minerais (ANTUNES & SGARBIERI, 1980; GEIL & ANDERSON, 1994). Além disso, as leguminosas são consideradas boas fontes dietéticas de ferro (MARTÍNEZ et al, 1999).

No Brasil é a principal leguminosa fornecedora de proteínas, fazendo parte da dieta diária das classes sócio-econômicas de menor renda (ANTUNES et. al, 1995). Além da alta quantidade de proteínas, participa como melhor fonte vegetal de ferro, sendo valiosa a sua contribuição em casos de deficiência. Porém, a quantidade total de ferro no alimento não indica a quantidade que será biodisponível. Há necessidade não só de quantificar o ferro como também de distinguir, no alimento, o ferro total do ferro biodisponível.



Aykroid & Doughty (1982) descreveram como os feijões podem ser identificados, tais como, dry, kidney, haricot, pinto, comum, frijoles, chumbinho, opoca, rajma dhal.

Na década de 60, Pant & Tulsiani (1969), pesquisando dezenove leguminosas silvestres, encontraram variação protéica de 18% a 47% entre os cultivares. Na década de 70, Silva & Iachan (1975) realizaram pesquisas com dezessete cultivares brasileiros de feijão, encontrando variação protéica entre 22% a 32%, similar com Tobin & Carpenter (1978), os quais compilaram dados sobre a composição centesimal de feijões *Phaseolus vulgaris*, encontrando teores significativos de proteína, 26%. Maldonado & Sammám (2000) verificaram uma variação protéica de 25,1% a 30,2% em cultivares de *Phaseolus vulgaris*.

O feijão é deficiente em aminoácidos sulfurados e rico em lisina, e o arroz é deficiente em lisina e relativamente rico em aminoácidos sulfurados, sendo considerados alimentos complementares. Devido a esse fato, foi importante o papel desempenhado pelas misturas de cereais e grãos de leguminosas nos séculos de evolução da humanidade. O milho e o feijão, importantes ingredientes na dieta dos índios pré-colombianos, ainda hoje constituem alimentos básicos em certas regiões da América Latina. No Brasil, o arroz e o feijão são a base alimentar da população, melhorando o valor biológico das proteínas (VIEIRA, 1992).

Sammám et al. (1999) determinaram a concentração de proteína, umidade e cinza em condições que envolvessem o meio ambiente e o solo de vários cultivares de feijões no Noroeste da Argentina. O cultivar, o local de crescimento, a composição do solo, o clima e o tratamento com fertilizantes alteram a composição de nutrientes. Os minerais e componentes antinutricionais das leguminosas variam, dependendo dos fatores ambientais.

Guzmán-Maldonado et al. (2000) determinaram os teores de proteína, aminoácidos, cálcio, ferro e zinco, além de taninos e ácido fítico de variedades silvestres de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em dois estados do México em comparação com dois cultivares de feijão comum. Os feijões silvestres contêm mais proteína e maior digestibilidade protéica, quando comparados com feijões cultivados. Algumas amostras silvestres mostraram maiores teores de cálcio, ferro e zinco.

Canniatti-Brazaca & Silva (1999) encontraram variação de 6,83 a 15,34 mg 100 g<sup>-1</sup> de ferro nas leguminosas: feijão preto, feijão comum, feijão branco, grão de bico, soja, feijão guandu e lentilha.

Martínez et al. (1998) avaliaram o efeito da variedade e tamanho da vagem de feijões verdes *Phaseolus vulgaris* quanto à composição química, digestibilidade protéica, fatores antinutricionais e disponibilidade dos minerais, concluindo que os feijões com tamanho da vagem menor possuem maior quantidade de minerais e lipídeos e baixo teor dos fatores antinutricionais.

Sgarbieri et al. (1979) verificaram a composição e propriedades nutricionais de quatro variedades de feijões (*Phaseolus vulgaris*) cultivados e consumidos em grande quantidade no Brasil, como rico-23, rosinha G-2, carioca e piratã-1, encontrando que a disponibilidade do ferro foi de 4-5% para todas essas variedades, em relação ao teor do ferro total.

E o feijão devido a sua composição proporciona vários benefícios à saúde, contribui para reduzir os níveis séricos de glicose e colesterol, estimula a saciedade; sendo indicado na prevenção e no tratamento de várias doenças, tais como: distúrbios cardíacos, diabetes mellitus, obesidade e câncer de cólon, preenchendo as principais recomendações dietéticas para a boa saúde: aumento do consumo de fibras, amido e outros carboidratos complexos, e diminuição no consumo de lipídios e sódio (SATHE et al., 1984; GEIL & ANDERSON, 1994; MACHADO et al., 2008).

Entre outros componentes do feijão, destaca-se a presença de substâncias antioxidantes – também vinculadas a um menor risco no desenvolvimento de alguns tipos de câncer e a uma menor incidência de doenças degenerativas (MACHADO et al., 2008).

Tamanha é a importância da leguminosa que o Guia Alimentar para a População Brasileira, elaborado pelo Ministério da Saúde, incentiva o consumo do feijão e coloca sua ingestão como parte de um dos dez passos para uma alimentação saudável. As principais instituições internacionais de incentivo e promoção à saúde também indicam a ingestão diária de uma ou mais porções de feijão (SATHE et al., 1984; GEIL & ANDERSON, 1994).

### 3.6 Multimistura

A melhoria das condições nutricionais de uma população depende do amplo programa de desenvolvimento político, econômico e social. Como alternativa para minimizar a problemática das deficiências nutricionais, os programas de suplementação alimentar aparecem, enquanto não se solucionam os diversos fatores socioeconômicos que determinam a desnutrição e outras carências nutricionais. Varias questões têm sido propostas e colocadas em prática para a solução desta situação: uma delas é a utilização da alimentação alternativa, a qual visa o enriquecimento da dieta habitual da população, melhorando a sua qualidade, através do fornecimento de um concentrado de minerais e vitaminas, resultando na promoção de saúde e combatendo a desnutrição e a anemia (BRANDÃO & BRANDÃO, 1988).

No Brasil, a alimentação alternativa se constitui uma proposta de um conjunto de práticas alimentares que compreende, principalmente, a valorização de determinados alimentos já amplamente consumidos e o uso de alimentos não convencionais. A prática da alimentação alternativa foi incorporada à rotina de trabalho de algumas entidades não governamentais, como a Pastoral da Criança (CNBB), resultando numa diminuição no quadro de desnutrição nacional (BOAVENTURA et al., 2003).

Dentro do Programa de Alimentação Alternativa nasceu a Multimistura, que tem sido utilizada no Brasil pela Pastoral da Criança, em parceria com governos municipais, sendo uma das medidas adotadas para diminuir o quadro de desnutrição infantil, já que a fome e a desnutrição no Brasil continuam sendo as principais causas de morte e doenças de milhões de crianças. A utilização de misturas à base de farelo de cereais, popularmente denominadas "multimisturas", tem sido amplamente divulgada e utilizada nacionalmente e, seu uso freqüentemente questionado quanto à sua eficácia (BION et al., 1997, BOAVENTURA et al., 2003).

Brandão & Brandão (1996) definiram a multimistura como sendo mistura de alimentos não convencionais que enriquecem a alimentação habitual em minerais e vitaminas, para se obter uma dieta, balanceada, sem alteração dos hábitos alimentares. Trata-se de um tipo de alimentação alternativa, constituída basicamente

por farelo de trigo ou arroz, pós da casca de ovo e da folha de mandioca, farinha de trigo e fubá comum.

A multimistura apresenta teor significativo de carboidratos e fibra, 72,4% e 6,12%, respectivamente. No entanto, sabe-se que a fibra interfere na utilização de minerais, pois, no complexo molecular da mesma, algumas substâncias podem agir como agentes quelantes de minerais (MADRUGA et al., 2004).

O Conselho Federal de Nutricionistas (CFN) em 1996 se pronunciou contra a utilização da multimistura devido à ausência de respaldo científico.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA/MS) regulamentou a utilização e os padrões de identidade e qualidade destas misturas à base de farelo de cereais, através da Resolução nº 53 em 15 de junho de 2000, publicada no DOU de 19/06/2000. Esta resolução definiu a Mistura à Base de Farelo de Cereais como sendo "produto obtido pela secagem, torragem, moagem e mistura de ingredientes de origem vegetal, podendo ser adicionada de leite em pó" (BRASIL, 2000).

Farfan (1999) realiza análise crítica sobre a utilização da multimistura, no qual pontua que o tema ética não tem recebido a devida importância para "os programas de intervenção alimentar ou nutricional", planejados não somente para países do terceiro mundo, mas também para as camadas menos privilegiadas dos países desenvolvidos, e que visam melhorar o estado nutricional da população como fator de desenvolvimento. O autor faz uma análise da produção agrícola brasileira salientando que o solo, clima são suficientes para capacidade produtiva de fornecer alimentos à população. Farfan (1999) questiona o valor nutricional da multimistura como suplemento, já que os dados composicionais e propriedades biológicas dos ingredientes não mostram características tão especiais que justifiquem a universalidade de uso que seus preconizadores defendem. E que na absoluta falta de alimento a multimistura poderia, provisoriamente, evitar o óbito por inanição, em casos de extrema pobreza. O autor salienta, também, a desconhecida a aceitabilidade sensorial do produto e ressalva que se deve proporcionar meios de vida dignos à população e a originalidade, o valor social, a louvável ação humanitária e a urgência de uma solução não deveriam ser justificativas para executar o programa sobre bases conceitual ou eticamente questionáveis.

Assim, necessita-se de informações mais completas sobre a composição química, a presença de fatores anti-nutricionais e/ou tóxicos e a biodisponibilidade de minerais presentes na mesma, para uma melhor avaliação. Tal prática tem sido alvo de polêmica, visto não haver comprovação científica de eficácia dessa multimistura como suplemento nutricional para crianças desnutridas e/ou anêmicas.

As carências nutricionais existentes no País, somadas à propagação do uso de multimisturas, amplamente distribuídas pela Pastoral da Criança e ao questionamento de sua utilização, vêm motivando a realização de vários estudos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido nos seguintes locais:

- Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) do Instituto de Química e Biotecnologia, UFAL, Maceió, AL.
- Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Nutrição, UFAL, Maceió, AL.
- Centro de Energia Nuclear na Agricultura, da Universidade de São Paulo (CENA/USP), na cidade de Piracicaba, SP.

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Protocolo experimental

O experimento foi conduzido em três blocos de 30 animais cada. Cada bloco foi realizado em um período de aproximadamente 64 dias, que representou um período experimental, onde os grupos de animais receberam água *MilliQ* e a dieta de interesse *ad libitum*.

Cada bloco foi dividido em duas fases: 1) **pré-teste**, cujo objetivo era obter animais depletados (D) e não depletados (ND) em ferro. Nessa fase, que teve duração de oito semanas, os animais receberam as dietas pré-teste; e, 2) **teste**, onde os animais depletados e não depletados em ferro foram submetidos às dietas teste, ministradas em uma única refeição (Esquema 1).

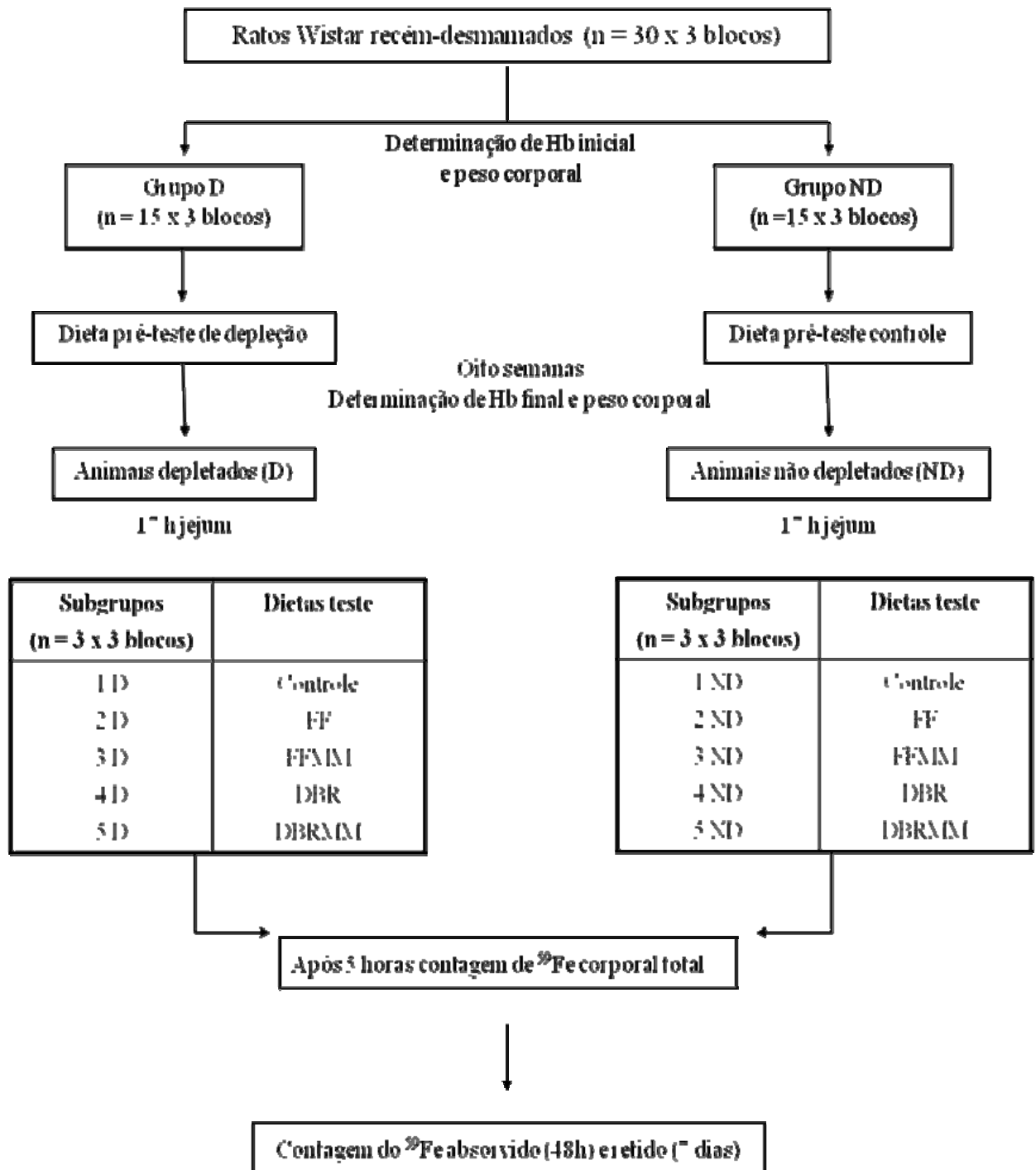
Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Conselho de Ética em Experimentação Animal do CENA/USP, sob protocolo número 3/2005.

#### 4.1.2 Matéria prima

Foram utilizados grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L), variedade carioca, como matéria-prima para a elaboração das dietas teste utilizadas no experimento. Esses grãos foram obtidos a partir do cultivo de sementes, gentilmente cedidas pelo Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de

Queiroz” (ESALQ/USP). Para permitir melhores resultados no cultivo do feijoeiro foram utilizadas soluções nutritivas descritas no item 4.1.6.

### Esquema 1



### 4.1.3 Dietas experimentais

As dietas pré-teste foram fornecidas sob a forma de *pellet* e as dietas teste sob a forma de farinha. Todas as dietas foram preparadas em recipientes de aço inoxidável ou de polietileno, previamente higienizados com água *MilliQ*, enxaguados e secos em estufa, para evitar ingestão de minerais além daqueles fornecidos através da dieta.

A multimistura foi adquirida na Pastoral da Criança (CNBB\Maceió-Al), em **anexo B** e armazenada em câmara fria (4°C) até a utilização nas dietas teste.

Os componentes da dieta básica regional (DBR) (**anexo C**) foram adquiridos no comércio local de Piracicaba/SP.

#### 4.1.3.1 Dietas pré-teste

As dietas **pré-teste de depleção**, sem ferro, e **pré-teste controle** foram elaboradas de acordo com a dieta AIN-93 G (**anexo D**) (REEVES et al., 1997). As mesmas foram oferecidas aos grupos depletado (D) e não depletado (ND), respectivamente, no período anterior à exposição às dietas teste (oito semanas).

As dietas pré-teste utilizadas neste estudo foram desenvolvidas por um comitê do Instituto Americano de Nutrição, de forma a apresentarem os nutrientes necessários para a adequada promoção do crescimento de ratos, sendo denominada AIN-93 G. A única diferença entre as dietas dos grupos foi o conteúdo de ferro fornecido pela mistura mineral, de 0,0 e 35,0 mg de ferro elementar por quilo de ração, para o grupo depletado (D) e não depletado (ND), respectivamente.

#### 4.1.3.2 Dietas teste contendo $^{59}\text{Fe}$

Foram estabelecidas as seguintes dietas teste: **Controle**, elaborada de acordo com a AIN-93, contendo o  $^{59}\text{Fe}$  marcado extrinsecamente na forma de  $\text{FeCl}_3$ , com atividade (A) de 4 nCi ou 148 Bq/15 g, levando em consideração que, para a detecção da radioatividade, a eficiência do aparelho de cintilação sólida era de



3,12%; **FF**, dieta farinha de feijão, como fonte exclusiva de ferro, elaborada de acordo com a AIN-93 G, com 3,29 g de feijão marcado intrinsecamente com  $^{59}\text{Fe}$  e  $A = 48,58 \text{ Bq}$  ( $13 \times 10^{-4} \mu\text{Ci}$ ), levando em consideração que, para a detecção da radioatividade, a eficiência do aparelho de cintilação sólida foi de 11,8%, assim como nas demais dietas; **FFMM**, dieta farinha de feijão, com o feijão marcado, suplementada com a multimistura (MM); **DBR**, dieta básica regional, com 2,4 g de farinha do feijão marcado, com atividade de  $A = 37,93 \text{ Bq}$  ( $10 \times 10^{-4} \mu\text{Ci}$ ); e, **DBRMM**, dieta DBR, com o feijão marcado, suplementada com a multimistura. Adotou-se a proporção de 4% para a adição de MM às dietas, de acordo com Ferreira et al. (2005). O teor protéico das dietas FF e FFMM foi ajustado com caseína, segundo as recomendações da AIN-93 G.

A quantidade de material radioativo adicionado à dieta teste controle foi determinada pela contagem radioativa da farinha do feijão marcado intrinsecamente em 1,00 g. Os valores de contagem por minuto do decaimento radioativo do ferro contido nas dietas oferecidas aos diferentes grupos de animais encontram-se na Tabela 2.

**TABELA 2.** Valores de contagem do decaimento radioativo do ferro das dietas teste oferecidas aos diferentes grupos de animais, em contagem por minuto (CPM) e Bequerel (Bq/15 g)

<b><i>Dietas (15g)/ Tratamentos (n=9)<sup>1</sup></i></b>	<b><i>CONTAGEM (CPM)<sup>2</sup></i></b>	<b><i>BEQUEREL (Bq/15 g)</i></b>
Dieta teste Controle/D	117 ± 22,01	63
Dieta teste FF/D	224 ± 88,58	120
Dieta teste FFMM/D	226 ± 78,57	121
Dieta teste DBR/D	158 ± 28, 14	84
Dieta teste DBRMM/D	153 ± 31,15	82
Dieta teste Controle/ND	116 ± 23,22	62
Dieta teste FF/ND	190 ± 66,02	101
Dieta teste FFMM/ND	194 ± 61,27	104
Dieta teste DBR/ND	143 ± 26,77	76
Dieta teste DBRMM/ND	144 ± 22,55	77

<sup>1</sup>D – animais depletados em ferro; ND – animais não depletados em ferro;

<sup>2</sup>3,12 % de eficiência na contagem do detector de cintilação sólida NaI (TI)

#### 4.1.4 Animais de experimentação

Foram utilizados 90 ratos albinos (*Rattus Norvegicus*) machos, da linhagem *Wistar*, livres de patógenos *SPF* (livres de patógenos específicos), procedentes do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica da Universidade Estadual de Campinas (CEMIB/UNICAMP), com 21 dias de idade, pesando cerca de 60g cada. Os animais foram distribuídos em gaiolas individuais de aço inoxidável, para evitar a coprofagia e a contaminação ambiental com ferro, sob condições controladas de luminosidade e temperatura (ciclo claro-escuro de 12/12 horas; 22 a 28°C).

#### 4.1.5 Composição do reativo de Drabkin utilizado para determinação de hemoglobina

Composição do reativo de Drabkin:

- Bicarbonato de sódio: 1,0 g
- Cianureto de potássio: 0,05 g
- Ferricianureto de potássio: 0,20 g
- Água deionizada: completar para 1.000 mL

#### 4.1.6 Soluções nutritivas utilizadas no cultivo do feijão

1. Solução de Molibdato de Amônio.

Fórmula:  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}4\text{H}_2\text{O}$

Concentração: 0,101 g L<sup>-1</sup>

A solução nutritiva foi aplicada no início do plantio em todos os vasos a fim de fornecer molibdênio às plantas, com o objetivo de auxiliar na fixação biológica do nitrogênio.

2. Solução de Nitrato de Amônio

Fórmula:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$

Concentração: 5,7 g L<sup>-1</sup>

Foi aplicada após 15, 30 e 45 dias do início do plantio em todos os vasos, para fornecimento de N<sub>2</sub>.

#### 4.1.7 Partição do material radioativo

O composto  $^{59}\text{FeCl}_3$  (Perkim Elmer, Boston, MA), inicialmente na forma sólida, foi diluído em 1,00 mL de água *MilliQ* para a elaboração de uma solução estoque necessária para preparar as soluções de trabalho utilizadas na pesquisa. No plantio foi colocada uma alíquota de 1.665 MBq (45  $\mu\text{Ci}$ ) por vaso contendo 3,00 kg de solo arenoso.

Outra alíquota foi retirada da solução de estoque para marcar extrinsecamente a dieta teste controle com 148 Bq (4 nCi).

A descrição do experimento utilizando o  $^{59}\text{Fe}$  e o tratamento dos rejeitos radioativos encontram-se no **anexo E**.

## 4.2 Metodologia

### 4.2.1 Determinação da concentração de hemoglobina (Hb)

No início do estudo e oito semanas após a sua instalação (final da fase pré-teste), foi realizada a determinação da concentração de hemoglobina dos ratos, concentração inicial e final, respectivamente. Os animais foram anestesiados e submetidos à coleta de sangue da cauda, o qual foi armazenado em tubos contendo heparina (anticoagulante), sob refrigeração, a 4°C. A determinação dos índices bioquímicos de hemoglobina foi realizada através de técnica descrita por Lima et al. (2001), utilizando-se *kit* da Labtest®.

O método adotado para determinação da concentração de hemoglobina se baseia na oxidação do íon ferro (ferro  $^{+2}$ ) da molécula heme da hemoglobina para o estado férrico (ferro  $^{+3}$ ) pelo cianeto ionizado, formando cianeto de metahemoglobina. Após a reação, observa-se que o material de estudo fica com tonalidade avermelhada. A intensidade da coloração é proporcional à concentração de hemoglobina presente na amostra e deve ser lida em espectrofotômetro, na região do visível, na faixa de 500 a 540 nm. Os resultados foram expressos em  $\text{g dL}^{-1}$ , com pontos de corte de concentração de Hb < que  $7\text{g dL}^{-1}$  para ratos anêmicos e

> que  $11\text{g dL}^{-1}$  para ratos normais (MCKAY et al., 1983; LIMA et al., 2001). Adotou-se o ponto de corte  $\geq 7$  e  $\leq 11\text{g dL}^{-1}$  para ratos depletados

O procedimento para a determinação da hemoglobina consistiu em adicionar  $20\ \mu\text{L}$  de sangue coletado em  $5\ \text{mL}$  do reativo de Drabkin. Após repouso de 10 minutos, a leitura era realizada no espectrofotômetro modelo PERKIN-ELMER modelo EZ 150, num comprimento de onda de  $540\ \text{nm}$ . Para cada dosagem, fez-se simultaneamente o controle “branco” (reativo de Drabkin puro) e padrão ( $5\text{mL}$  do reativo de Drabkin com  $20\ \mu\text{l}$  do padrão estoque de cianometemoglobina, de  $13,8\ \text{mg dL}^{-1}$ ).

#### **4.2.2 Obtenção de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) intrinsecamente marcado**

Foram utilizados grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L), variedade carioca, como matéria-prima para a elaboração de dietas teste. Esses grãos foram obtidos a partir do cultivo de sementes, gentilmente cedidas pelo Departamento de Produção Vegetal da ESALQ/USP. Procedeu-se o cultivo em vasos de polietileno, contendo  $3\ \text{kg}$  de solo arenoso adubado, conforme recomendação para a cultura do feijão, baseada em análise química do solo.

O plantio foi feito em 30 vasos; dentre estes, 15 continham o radioisótopo  $^{59}\text{Fe}$  (Perkim-Elmer, Boston, MA) com atividade de  $1.665\ \text{MBq}$  de  $^{59}\text{Fe}/\text{vaso}$  ( $45\ \mu\text{Ci}$ ), sob a forma de solução aquosa de  $\text{FeCl}_3$ . O radiomarcador foi adicionado a  $50\ \text{g}$  de areia e, dentro de uma embalagem de saco plástico, foi homogeneizado ao solo e transferido para os vasos. Foram semeadas cinco sementes por vaso, na profundidade de  $1\ \text{cm}$ , cobertas com o solo do próprio vaso. O pH do solo se encontrava na faixa de  $5,3$ , oferecendo boas condições para o desenvolvimento do feijoeiro. Após o plantio e a germinação das sementes, foi realizado o desbaste, deixando apenas três plantas por vaso. Foram realizadas aplicações de adubação de cobertura, sob forma de solução de molibdato de amônio, na dose de  $50\ \text{mL}$ , no início do plantio. Além disso, foi usada solução de nitrato de amônio, após 15, 30 e 45 dias do início do plantio, na dose de  $50\ \text{mL}$ .

O cultivo foi conduzido em casa de vegetação com temperatura ambiente entre 17 e 35°C, monitorada por um termômetro de máxima e mínima. Para auxiliar o controle de temperatura, foi utilizado um sistema de irrigação por aspersão, através de água jogada sobre a cobertura da estufa, sempre que a temperatura no interior da mesma atingia 33°C ± 1°C. Procedeu-se irrigação diariamente. O teor de umidade do solo nos vasos foi mantido pela adição de 100 mL de água/vaso/dia.

No final do ciclo da cultura, as vagens de feijão foram coletadas, transferidas para bandejas e conduzidas à estufa, onde foram secas à temperatura de 60°C, até atingirem 12% de umidade.

#### **4.2.3 Preparo do feijão para a obtenção das dietas**

Os grãos de feijão radiomarcado e não radiomarcado, antes da cocção, foram macerados em água *MilliQ* (deionizada e submetida à luz U.V), na proporção de 1:3 (feijão:água). Após 12 horas de imersão, a água foi desprezada. Em seguida, uma nova alíquota de água *MilliQ* foi adicionada, na proporção de 1:2 (feijão:água), para a cocção em autoclave, a 120°C, 1 ATM, por 10 minutos, conforme Molina et al., 1985. Após o cozimento, os feijões foram congelados em *freezer* a -20°C e liofilizados, utilizando-se um liofilizador modelo Thermo Savant 100 Colin Drive, Holbrook NY 11741. Posteriormente, foram homogeneizados e armazenados em câmara fria (4°C) para utilização nas dietas teste.

#### **4.2.4 Dieta Básica Regional (DBR)**

O charque e a batata doce foram cozidos em estilo caseiro (em água) durante duas horas, para o charque, e 30 minutos, para a batata doce. O charque e a batata doce cozidos foram desidratados em estufa a uma temperatura de 60 - 70°C, durante 48-60 horas. Em seguida, foram triturados e moídos em um *mixer*, modelo Omni-Mixer Homogenizer Sorvall® (Du Pont, Norwalk Connecticut).

Após a redução da umidade, a proporção de cada constituinte da DBR foi ajustada para corresponder à quantidade média consumida pela população,

revelada nos inquéritos dietéticos: feijão - 18,34 g, charque - 3,74 g, batata doce - 12,76 g e farinha de mandioca - 65,16 g (TEODÓSIO et al., 1990).

#### **4.2.5 Análises físico-químicas**

##### **4.2.5.1 Composição Centesimal do feijão**

Através de análises químicas foram obtidos os teores dos seguintes parâmetros: proteína bruta, extrato etéreo, carboidratos, fibra e cinza para o feijão liofilizado. Estas análises foram feitas conforme procedimentos analíticos descritos pela Associação Oficial de Química Analítica, AOAC (1995).

Os feijões cozidos foram congelados em *freezer* e posteriormente liofilizados. Para a obtenção do teor de matéria seca, as amostras acondicionadas em cadinho de porcelana, previamente tarados, foram secas em estufa, por 24 horas, a 105 °C, sendo a umidade obtida por análise gravimétrica, através da diferença de peso entre a amostra úmida e a seca.

O teor de proteínas foi determinado pelo método Microkjeldahl. Nesta metodologia, o teor protéico foi determinado multiplicando-se o conteúdo de nitrogênio total pelo fator 6,25.

Para a determinação do extrato etéreo, foi utilizado o extrator de lipídeos modelo TE 044-8/50, marca Tecnal. Na extração, o éter etílico foi utilizado como solvente à temperatura de 45 °C, em refluxo contínuo da amostra, por 6 horas. Recuperado o éter etílico, os tubos, previamente tarados, foram retidos e colocados em estufa por 20 minutos a 100°C. Em seguida, os tubos foram colocados para esfriar em um dessecador e posteriormente pesados, obtendo-se a quantidade de extrato etéreo por diferença de peso do tubo.

A fração cinza foi obtida incinerando-se a amostra em mufla a 550 °C, por 4 horas.

Os carboidratos digeríveis foram obtidos por diferença entre o total (100) e o somatório dos demais componentes da fração centesimal.

Para a obtenção da fibra bruta foi utilizada a amostra desengordurada resultante do extrato etéreo, na qual foram adicionados 100 mL de solução de ácido sulfúrico (1,25%), aquecido a 150 °C por 30'. A amostra foi filtrada, o resíduo foi retirado com 100 mL de solução NaOH (1,25%), retornando ao Becker e colocado no aparelho aquecido por 30'. A amostra foi filtrada em cadinhos de Gooch com lã de vidro e colocadas em estufa, a 105 °C, por oito horas. Os cadinhos foram retirados da estufa e colocados no dessecador e, posteriormente pesados e levados à mufla, onde permaneceram 4 h, a 550 °C. O valor da fibra foi obtido por análise gravimétrica, através da diferença de peso entre a amostra seca e a cinza resultante da incineração na mufla.

#### **4.2.5.2 Teor de ferro**

As concentrações de Fe presentes nos grãos de feijão e nas dietas foram determinadas através da técnica de fluorescência de energia de dispersão de raios X (EDXRF), conforme descrito por Van Espen et al. (1977). O equipamento de fluorescência de raios X consta de um gerador de alta tensão (marca Philips, modelo PW1830) com tubo de raios X, alvo de Mo (marca Philips, modelo PW1316/92), produzido pela empresa Parr Instrument Co. USA. A partir da qual, através de curva de calibração, foram determinados os teores de ferro nas amostras. Para esta análise, 1,00 grama da amostra foi macerado em um plástico (6,3 µm espessura) e analisado imediatamente. Os raios X do composto Mo-K $\alpha$  (17,44 keV) excitaram a amostra do alvo Mo com filtro de zircônio, operando a 25 Kv e 10 mA. As amostras foram excitadas por 200 s e os raios X característicos K $\alpha$  foram detectados por um espectrômetro multicanal, formado por um detector semicondutor Si (Li). O Software eletrônico convencional AXIL foi usado para interpretar o espectrograma, obtendo as intensidades dos raios X característicos do K $\alpha$ .

#### 4.2.6 Determinação da biodisponibilidade do ferro

##### **Fase 1 - Pré-teste**

Após a determinação da concentração inicial de hemoglobina (Hb inicial) e do peso corporal, os animais foram divididos em dois grupos (n=15 x 3 blocos, cada), os quais foram alimentados com as dietas pré-teste de depleção ou pré-teste controle, durante oito semanas.

O consumo das dietas pré-teste e a evolução ponderal dos animais foram monitorados semanalmente, com o auxílio de uma balança semi-analítica.

Foi calculado, também, o coeficiente de eficiência alimentar que representa a capacidade de converter o alimento ingerido em ganho de peso, sendo calculada através da Equação 7 (CALLEGARO, 1995) :

$$\text{CEA} = \text{ganho de peso(g)} / \text{quantidade de ração ingerida (g)} \quad (7)$$

##### **Fase 2 – Teste**

17 horas antes do fornecimento das dietas teste, a concentração final de hemoglobina dos ratos foi determinada (Hb final). Os animais dos grupos depletado (D) e não depletado (ND) em ferro foram, então, subdivididos em cinco grupos de três animais cada, por bloco (1 D, 2 D, 3 D, 4D e 5D; 1 ND, 2 ND, 3 ND, 4D e 5D, respectivamente), de maneira a não apresentarem diferenças significativas de peso corporal e de concentração final de hemoglobina entre os grupos de igual situação nutricional em ferro. Após 17 horas em jejum os animais receberam 15g de dieta teste, durante 5 horas.

Após este período, foram realizadas as análises da radioatividade do corpo inteiro dos animais, a fim de se estimar a quantidade de dieta que havia sido ingerida. Os animais foram individualmente analisados quanto à radioatividade emitida pelo  $^{59}\text{Fe}$ , utilizando-se um cintilador sólido, equipado com um detector de cristal de iodeto de sódio contendo traços de tálio NaI (TI) (3 x 3 polegadas -



diâmetro x altura - tipo poço, Ortec, USA) e com um analisador multicanal. A atividade do  $^{59}\text{Fe}$  foi medida usando-se uma janela que fixa (965-1490 keV), incluindo os dois fotopicos (1099 e 1292 keV). Para as contagens radioativas, foi utilizada uma fonte padrão ( $^{60}\text{Co}$ ), cujo espectrograma é similar ao do ferro. Foi corrigida a contagem pela radiação de fundo (background/BG).

A retenção de  $^{59}\text{Fe}$  foi monitorada no corpo inteiro dos animais por sete dias consecutivos, nos tempos de contagem 5h, 24 h e em intervalos de 24 h até o 7º dia, após o início da ingestão das dietas teste, conforme proposto por Weaver et al. (1984) e Kannan et al., (2001).

Os resultados de absorção e retenção de ferro foram expressos como porcentagem da dieta radioamarcada consumida, através das equações 8 e 9:

$$\% \text{ Absorção} = \frac{\text{Contagem de corpo inteiro no tempo } 48\text{h}}{\text{Contagem de corpo inteiro no tempo } 0 \text{ (5h)}} \times 100 \quad (8)$$

$$\% \text{ Retenção} = \frac{\text{Contagem de corpo inteiro no tempo } t}{\text{Contagem de corpo inteiro no tempo } 0 \text{ (5h)}} \times 100 \quad (9)$$

No sétimo dia da contagem corporal, quando a excreção se estabiliza, uma estimativa da retenção pode ser obtida tomando-se como referência a contagem no tempo zero (5 h) (VAN CAMPEN & GLAHN, 1999; KANNAN et al., 2001).

As dietas teste foram substituídas pelas dietas anteriormente fornecidas, dieta pré-teste controle e dieta pré-teste depleção, aos animais não depletados e depletados, respectivamente.

O resumo esquemático do experimento por bloco encontra-se no Esquema 1 (p. 50).

### **4.3 Estatística**

Na primeira fase, o delineamento experimental foi distribuído em blocos ao acaso, com 45 repetições por tratamento. Na segunda fase, o experimento foi delineado segundo um arranjo fatorial 2 x 5 em blocos ao acaso. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), através do teste F. As médias, na primeira fase, foram comparadas através do teste t, e na segunda fase através do teste de Tukey. Em todos os casos adotou-se o nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ). Os dados foram analisados utilizando o software SAS (SAS Institute Inc, 2003).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

As análises químicas foram realizadas em amostras de feijão cozido e liofilizado, já que se assemelha com a forma que é consumida pela população, assegurando a textura, o sabor, o aroma e a coloração necessários para que o grão possa ser aceito na dieta humana.

Os resultados obtidos nas análises de umidade, extrato etéreo, cinza, proteína bruta, carboidratos e fibra dietética total são apresentados na Tabela 3.

**TABELA 3.** Composição química do feijão comum liofilizado e teor de ferro

<b>Composição</b>	<b>%</b>
Umidade	6,20
Proteínas	22,31
Carboidrato	60,67
Extrato etéreo	2,59
Fibras	4,18
Cinza	4,05
	<b>mg 100g<sup>-1</sup></b>
Ferro	5,18

O teor de umidade nos alimentos pode ser afetado por fatores que englobam o cultivar, as condições de armazenamento, a época do ano, a idade da planta e o tempo de cocção. Com relação à biodisponibilidade de ferro, não foram encontrados dados que relacionassem o teor de umidade com a absorção do ferro. A análise da umidade é a primeira da composição centesimal e é a base para as outras determinações. O feijão apresentou resultado concordante com a Tabela de composição de alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP (2007), cujo teor de umidade é de 4,53% para farinha de feijão liofilizado. Herrera et al. (1998) obtiveram para feijão carioca cru e cozido, os respectivos teores de umidade

12,3 % e 12,1%, sendo a amostra do feijão cozido desidratada antes da análise. Os valores apresentados estão diferentes dos obtidos nesta pesquisa.

Com relação à proteína bruta é importante observar que as proteínas e os aminoácidos interagem na biodisponibilidade do ferro, fazendo com que seja aumentada a absorção do ferro não heme (CABALLERO, 1988). O feijão carioca é uma importante fonte protéica, com cerca de 22,31% de proteína vegetal no feijão cozido e liofilizado. O teor de proteína encontrado no feijão está de acordo com a média encontrada por Tobin & Carpenter (1978), que foi de 26%. Candela et al. (1997) avaliaram feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) cru e cozido quanto ao teor protéico e encontraram, respectivamente, 23,33% e 28,16%. Antunes et al. (1995) encontraram 23,37%, em matéria seca, para feijão cru, sendo este teor protéico similar ao verificado por Sgarbieri et al. (1979), para feijão cozido.

Os feijões destacam-se, também, pelos efeitos benéficos na saúde dos humanos por serem uma excelente fonte de carboidratos e de lipídeos, 60,67 % e 2,59 %, respectivamente. Ramírez-Cardenas et al. (2008) verificaram o conteúdo de carboidratos de 68,18 a 70,78% em cinco cultivares de feijão comum. Valor semelhante ao encontrado por Oliveira et al. (2001) no feijão liofilizado, sem maceração (69,2%). Os teores de lipídeos encontrados na literatura apresentam-se, em média, 1,7 % no feijão cru, segundo Tobin & Carpenter (1978). Maldonado & Sammám (2000) encontraram no feijão cru a quantidade de 1,01 % de extrato etéreo, valor confirmado por Sammám et al. (1999). Já Antunes et al. (1995) verificaram, no feijão carioca cru, 1,45 % de lipídeos, sendo esse o mesmo valor para feijão cozido verificado por Sgarbieri et al. (1979). Valores semelhantes ao encontrado no presente trabalho.

Quanto ao teor de fibra bruta houve equivalência com os dados de Oliveira et al. (2001), que apresentaram os valores de 4,60 % e 5,70 % para feijão carioca cru e cozido liofilizado sem maceração, respectivamente. Segundo Brigide (2002), no entanto, o feijão cru e o cozido apresentaram os valores de fibra dietética total (FDT) 23,7 % e 18,6 %, respectivamente. A Tabela de composição de alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (2007) apresenta a quantidade de 25,87 %, para feijão carioca cozido, 22,15 %, para feijão mulatinho cozido, e 25,64 %, para

feijão preto cozido. Gonzáles (2000), analisando a quantidade de fibra (FDT) para tratamentos térmicos distintos, encontrou, em relação ao calor prolongado, panela de pressão e feijão sem tratamento (cru), os valores de 21,24, 25,63 e 24,31 %, respectivamente.

Em relação às fibras, de acordo com a ingestão dietética recomendada (DRI) a recomendação é de 20 a 40 g por dia (IOM, 2001). A ingestão de feijão pode auxiliar a suprir essa recomendação, ressaltando a importância de fibras nas dietas alimentares. A fibra dietética é conhecida como o material dos alimentos resistente à hidrólise enzimática no sistema digestivo dos vertebrados. É proveniente de alimentos de origem vegetal e é formada principalmente por celulose, hemicelulose, pectina, gomas e lignina (ACEVEDO & BRESSANI, 1990).

Mattos e Martins (2000) estimaram o consumo médio diário de fibras alimentares totais nas refeições de uma população de área metropolitana. O almoço e jantar mostraram-se bastante semelhantes quanto aos alimentos consumidos, sendo que predominaram arroz (referido por 97,5 % das pessoas no almoço e 89,1 % no jantar) e feijão (respectivamente, 91,2 % e 83%), confirmando serem esses os itens básicos do padrão alimentar brasileiro, sendo o feijão o único alimento que apresentou-se dentro da categoria “muito alto” em fibras.

A cinza ou resíduo mineral fixo é o produto que se obtém após o aquecimento da amostra, à temperatura de 500 a 600° C até a combustão total da matéria orgânica (SILVA, 1981). Na análise da fração cinza, pode-se ter uma indicação da riqueza mineral das amostras. Os resultados de cinza são condizentes com aqueles apresentados por Tobin & Carpenter (1978), que relataram teor de cinza em feijão de 4,11 %. Também estão de acordo com Antunes et al. (1995), que analisaram os cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*), entre eles carioca, e encontraram o valor de 4,18 % para feijão cru, assim como Sgarbieri et al. (1979), que encontraram, para feijão cozido, teor semelhante. Sammám et al. (1999) e Maldonado & Sammám (2000) encontraram o teor de 4,45% no feijão carioca cru, resultado semelhante ao obtido na presente pesquisa. Candela et al. (1997), analisando feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), obtiveram, respectivamente, os seguintes teores no feijão cru e cozido 4,87% e 5,65%, concluindo que a quantidade de elementos minerais com a

aplicação de tratamento térmico e, em seguida, com maceração é alterada significativamente.

Sementes de leguminosas e vegetais são fontes de proteína para a maior parte da população de países em desenvolvimento e, são, particularmente, recomendadas para o aumento no consumo de proteínas e minerais, especialmente, o ferro, o zinco, o cálcio e o magnésio, que são importantes componentes dietéticos (ADEWUSI & FALADE, 1996).

No que se refere ao ferro, o teor no feijão foi de 5,18 mg 100g<sup>-1</sup>, similar ao teor encontrado por Martini (2002). Ramirez-Cárdenas et al. (2008) encontraram uma variação do teor de ferro de 4,81 a 9,16 mg 100g<sup>-1</sup> em cinco cultivares de feijão comum.

#### VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE Hb, GANHO DE PESO, QUANTIDADE DE RAÇÃO INGERIDA E COEFICIENTE DE EFICIÊNCIA ALIMENTAR (FASE PRÉ-TESTE)

As concentrações iniciais de Hb não diferiram estatisticamente entre os grupos depletado (10,13 ± 1,36 g dL<sup>-1</sup>) e não depletado (10,53 ± 1,73g dL<sup>-1</sup>) (p>0,05). No entanto, após oito semanas de estudo, final da fase pré-teste, foram observadas diferenças significativas entre os grupos depletado e não depletado (9,16 ± 0,82 vs 12,69 ± 1,74 respectivamente; p<0,05). Portanto, a dieta pré-teste de depleção foi eficaz na instalação do quadro de depleção de ferro nos animais. A dieta pré-teste controle, por sua vez, foi suficiente para a manutenção do estado nutricional em ferro dos animais do grupo não depletado.

Os valores médios de concentração de hemoglobina induzidos pelas dietas pré-teste de depleção e pré-teste controle dos animais reagrupados de acordo com as diferentes dietas teste, estão apresentados na Tabela 4.

O tempo de duração do presente estudo foi estabelecido em oito semanas, na fase pré-teste, devido ao projeto piloto desenvolvido no Biotério da Faculdade de Nutrição da UFAL, no qual foi estipulado um prazo de 6 semanas para o período de depleção dos animais, que não se mostrou suficiente para a obtenção dos

resultados esperados. Tal período de tempo foi igual ao utilizado por Souza et al. (1976). Outros autores optaram por períodos pouco menores, como Dhur et al. (1990) (7 semanas), enquanto que Beard et al. (1995) determinaram um período menor (4 semanas).

**TABELA 4.** Concentração de hemoglobina dos animais agrupados por dietas teste

<i>Tratamentos</i>	<i>Hb (g dL<sup>-1</sup>) inicial *</i>	<i>Hb (g dL<sup>-1</sup>) final *</i>
Controle (D)	10,63 ± 1,56 <sup>a</sup>	9,08 ± 0,96 <sup>a</sup>
FF (D)	9,49 ± 0,95 <sup>a</sup>	9,03 ± 0,53 <sup>a</sup>
DBR (D)	10,31 ± 1,64 <sup>a</sup>	9,60 ± 1,02 <sup>a</sup>
FFMM (D)	9,97 ± 0,94 <sup>a</sup>	8,92 ± 0,85 <sup>a</sup>
DBRMM (D)	10,23 ± 1,72 <sup>a</sup>	9,18 ± 0,74 <sup>a</sup>
Controle (ND)	10,05 ± 2,44 <sup>a</sup>	12,81 ± 1,79 <sup>b</sup>
FF (ND)	11,09 ± 1,67 <sup>a</sup>	12,67 ± 1,72 <sup>b</sup>
DBR (ND)	11,52 ± 1,73 <sup>a</sup>	12,68 ± 1,40 <sup>b</sup>
FFMM (ND)	10,09 ± 1,56 <sup>a</sup>	12,78 ± 0,96 <sup>b</sup>
DBRMM (ND)	9,88 ± 1,56 <sup>a</sup>	12,52 ± 2,11 <sup>b</sup>

Dados expressos em média ± DP.

\* Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estaticamente entre si, através do teste t ( $p > 0,05$ ).

O teor de hemoglobina foi utilizado para avaliar o estado nutricional em ferro dos animais. A instalação da deficiência de ferro obedece a três estágios. Inicialmente há a completa utilização dos depósitos corporais de ferro, localizados principalmente no fígado, baço e medula óssea. Numa segunda fase, há o comprometimento do transporte de ferro, e somente no último estágio ocorre a diminuição da concentração de hemoglobina. Dallman et al. (1982) observaram que, em ratos, a deficiência de ferro não obedece aos três estágios da instalação da doença. Constataram, ainda, que ocorre diminuição do hematócrito antes da exaustão dos depósitos corporais, ou seja, o aparecimento da anemia ocorre paralelamente à diminuição do ferro de armazenamento.

Ringler & Dabich (1979), em revisões bibliográficas, encontraram uma variação de Hb para ratos de 11,4 a 19,2 g dL<sup>-1</sup>, podendo haver alterações conforme raça, linhagem, idade, sexo e estado de saúde do animal. Para Harkness & Wagner (1993), os valores médios de Hb para roedores variam de 11 a 18 g dL<sup>-1</sup>. De acordo com esses valores, o grupo não depletado (ND) da presente pesquisa apresentou o valor de Hb dentro dos padrões desejáveis. Ao contrário do grupo depletado (D) que não alcançou os níveis preconizados para ratos anêmicos (7 g dL<sup>-1</sup>), tornando-se, dessa maneira, depletados em ferro.

Segundo Wienk et al. (1999), para a condução de bioensaio de repleção de hemoglobina o método da AOAC não especifica a raça do rato que deve ser usada. Em estudo comparando a indução dietética de anemia entre ratos *Fischer 344*, *Wistar* e *Sprague-Dawley*, os autores encontraram que a raça *Sprague Dawley* era menos suscetível à anemia por deficiência de ferro. Após serem alimentados com uma dieta deficiente em ferro por 6 semanas, os valores médios de Hb para ratos *Sprague-Dawley* e *Wistar* eram ainda mais elevados do que o valor máximo esperado. As ratas fêmeas mostraram um ganho mais elevado de Hb do que os ratos machos. No entanto, são escassas as informações sobre a velocidade relativa de repleção de Hb entre as raças de ratos.

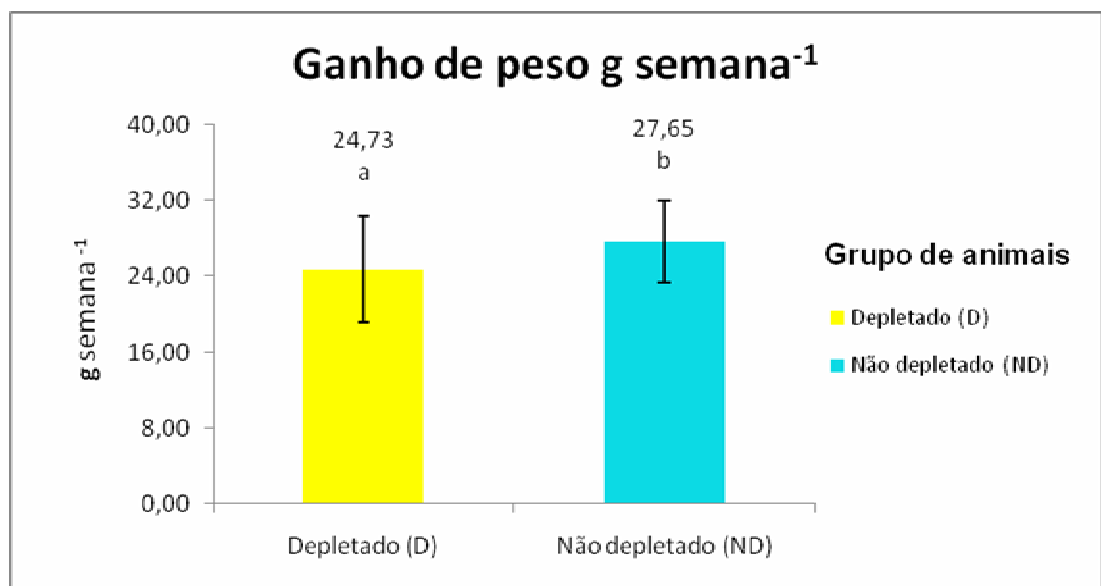
Sriratanaban & Thayer (1971) observaram hemoglobina média de  $5,3 \pm 2,4$  g dL<sup>-1</sup> no grupo que recebia ração deficiente em ferro e  $15,1 \pm 0,2$  g dL<sup>-1</sup> no grupo que recebia ração com ferro, após período que variou de 85 a 124 dias. Os valores apresentados por Valberg et al. (1961) foram bastante semelhantes aos do presente estudo, em relação ao teor médio de hemoglobina do grupo que recebeu ração deficiente em ferro, que foi de 8,2 g dL<sup>-1</sup>, porém foi maior no grupo controle 16,7 g dL<sup>-1</sup>, após 120 dias de administração da dieta. Fernandez et al. (1997) evidenciaram mediana da hemoglobina de 6,0 g dL<sup>-1</sup> (5,5 a 9,0) num grupo de ratos que recebeu dieta deficiente em ferro durante seis semanas. O grupo controle apresentou mediana da hemoglobina de 15,1 g dL<sup>-1</sup> (14,0 a 17,0).

As Figuras 6, 7 e 8 mostram o ganho de peso, o consumo alimentar (quantidade de ração ingerida) e o coeficiente de eficiência alimentar (CEA) dos animais na fase pré-teste. A exposição às dietas pré-teste de depleção ou pré-teste



controle interferiu nestas variáveis, de modo que o ganho de peso e a quantidade de dieta ingerida no grupo não depletado foram maiores do que no grupo depletado ( $p \leq 0,05$ ). Já o coeficiente de eficiência alimentar não apresentou diferença estatística entre os grupos.

Avaliando os dados apresentados na Figura 6, verifica-se que o grupo ND (não depletado) apresentou uma variação de  $24,73 \pm 5,61$  g em comparação ao grupo D (depletado), que apresentou os maiores valores,  $27,64 \pm 4,33$  g. Ou seja, o ganho de peso médio do grupo depletado (D), cuja ração foi deficiente em ferro, foi menor do que do grupo não depletado (ND), assim como a ingestão alimentar (Figura 7) e o teor de Hb.]



**Figura 6.** Média de ganho ponderal (g semana<sup>-1</sup>) dos animais na fase pré-teste. Dados expressos em média  $\pm$  DP. **a** difere de **b**, pelo teste t ( $p < 0,05$ ) ( $n = 15 \times 3$  blocos cada).

Os resultados mostram as repercussões da deficiência de ferro sobre o crescimento dos animais. Isto demonstra que a deficiência de ferro exerce influência não somente sobre a concentração de hemoglobina, mas, também, sobre o desenvolvimento dos animais, refletindo um menor ganho ponderal. Isto pode ser explicado pelo fato de que a ração com ferro proporciona fornecimento necessário de ferro ao organismo do rato para ter uma boa produção de massa de células

sangüíneas. Conforme relatado por Osório (2002), na fase denominada deficiência de ferro, sem anemia ferropriva, ocorre um ligeiro decréscimo da circulação das células vermelhas e a redução da concentração de hemoglobina sanguínea compromete entre outros sinais e sintomas, o crescimento. Ou seja, a anemia pode afetar o estado geral de saúde.

As evidências apresentadas mostram o efeito negativo da deficiência de ferro sobre o crescimento. Dentre as possíveis explicações para essa observação, além da diminuição da ingestão, pode ser considerada a possibilidade do incompleto aproveitamento do alimento, em decorrência de alterações da função digestiva e absorptiva do trato gastrointestinal (Whays, 1999; Osório, 2002).

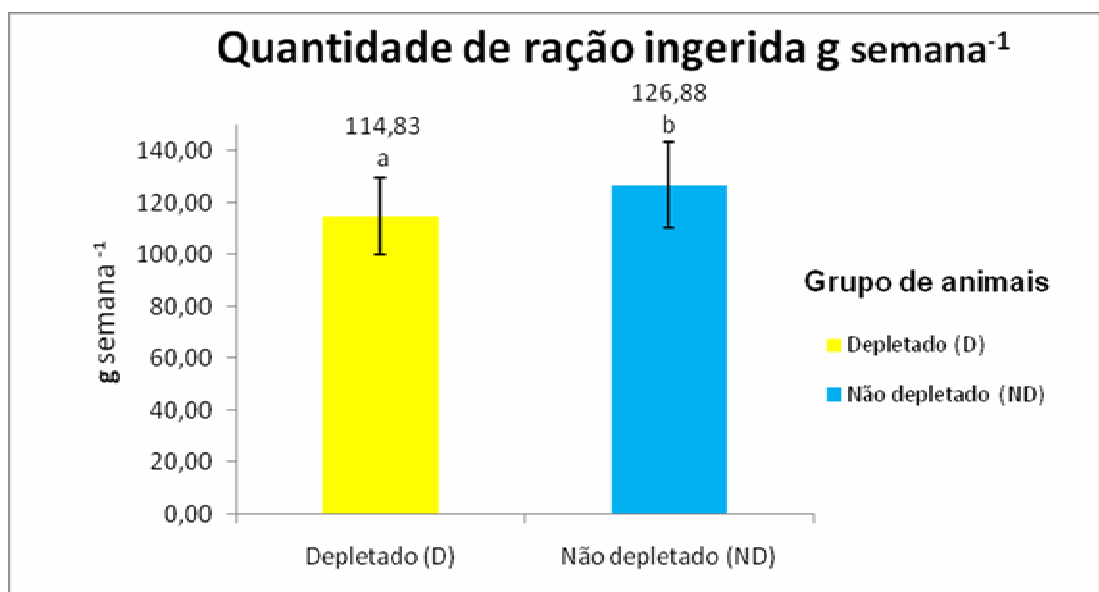
Whays (1999) evidenciou alterações do crescimento decorrentes da deficiência de ferro, em ratos. Dhur et al. (1990) observaram peso corporal de ratos anêmicos significativamente menor que de ratos do grupo controle, a partir da segunda semana de dieta. Um terceiro grupo de animais, que recebeu ração em quantidade semelhante àquela consumida pelos ratos anêmicos, porém com conteúdo normal de ferro, apresentou evolução ponderal semelhante a do grupo anêmico, sugerindo que a anorexia decorrente da deficiência de ferro seria a responsável pela diminuição da velocidade de crescimento.

Fernandez et al. (1997) também observaram ganho de peso estatisticamente menor em ratos com deficiência de ferro, quando comparados com ratos normais. Após receberem ração pobre em ferro durante seis semanas, os ratos foram alimentados com dieta com conteúdo normal de ferro por mais quatro semanas, observando-se aumento significativo do peso, porém, ainda de valor estatisticamente inferior ao grupo que recebeu dieta com conteúdo de ferro normal durante todo o estudo.

A quantidade de dieta ingerida pelo grupo não depletado foi estatisticamente maior do que a do grupo depletado ( $p < 0,05$ ). Em números absolutos, os animais do grupo não depletado ingeriram quantidade de ração de  $126,88 \pm 14,54$  g, e os animais do grupo depletado de  $114,83 \pm 12,74$  g, conforme mostrado na Figura 7.

Dessa maneira, as alterações observadas com relação ao ganho de peso parecem ser decorrentes de baixa ingestão da dieta dos ratos do grupo depletado se comparada à do grupo não depletado. Em geral, a ingestão média diária da dieta do grupo depletado foi menor do que a do grupo não depletado.

Cozzolino et al. (1980) relataram que, ao proporcionar uma suplementação adequada de minerais e vitaminas, os índices de crescimento de ratos alimentados com dietas à base de misturas de arroz e feijão (75:25 e 83:17) são semelhantes àqueles de ratos alimentados com dietas de caseína. De Angelis et al. (1985) observaram que a adição de 30 % de leite a uma dieta à base de arroz e feijão (55:45), sem suplementação, não é suficiente para igual ganho de peso, consumo alimentar e CEA de animais alimentados com dietas de caseína adequadas em vitaminas e minerais. Esses dados indicam que, apesar da presença de fatores antinutricionais do arroz e feijão, a oferta de nutrientes é suficiente para manter o crescimento, quando a dieta está equilibrada em minerais e vitaminas.



**Figura 7.** Média do consumo dietético (g semana<sup>-1</sup>) dos animais na fase pré-teste. Dados expressos em média  $\pm$  DP. **a** difere de **b**, pelo teste t ( $p < 0,05$ ). ( $n = 15 \times 3$  blocos cada).

Wayhs (1999) verificou que a média geral da ingestão diária de ração do grupo controle foi, em geral, maior do que a do grupo depletado. Observou-se que tanto no grupo depletado quanto no controle ocorreu variação da ingestão com o

tempo. Ao calcular a eficiência alimentar, verificou-se que não houve diferença estatística entre as médias gerais dos grupos. Esse comportamento foi semelhante ao verificado na presente pesquisa.

Como de acordo com Beard et al. (1995), que avaliaram o crescimento, a taxa metabólica basal e a eficiência alimentar de ratos com anemia ferropriva, os ratos com deficiência de ferro apresentaram ganho de peso estatisticamente menor do que os ratos do grupo controle. E, a eficiência alimentar, calculada através da relação entre as calorias ingeridas e o conteúdo calórico das carcaças, foi significativamente menor no grupo anêmico.

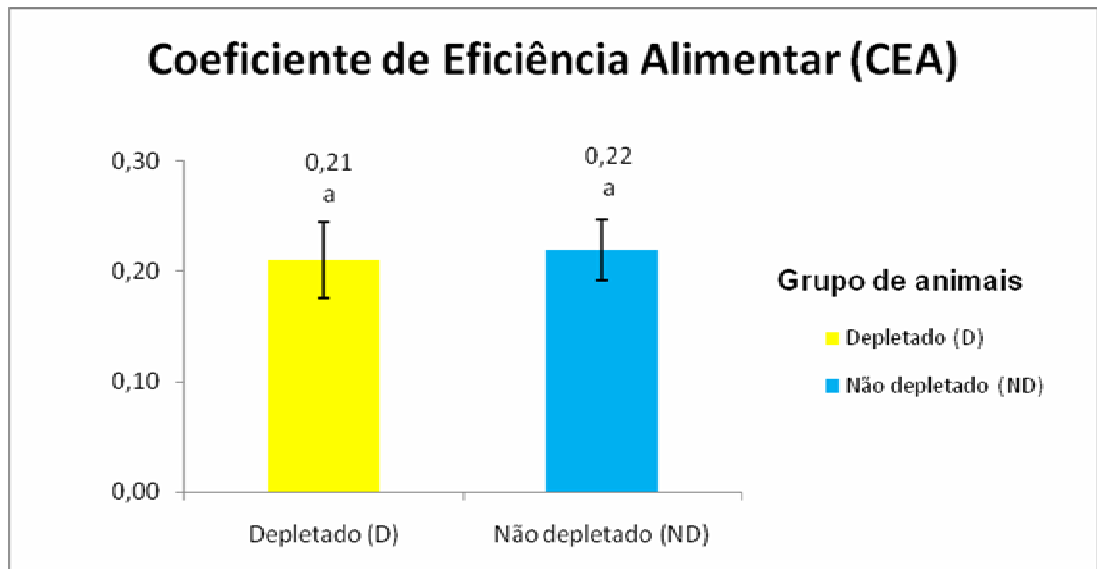
Nas duas primeiras semanas do estudo de Beard et al. (1995), a ingestão média em relação ao peso corporal foi maior, com significância estatística, no grupo controle. Essa diferença foi diminuindo, ocorrendo uma inversão na última semana do estudo, quando os ratos anêmicos apresentaram ingestão por grama de peso 5 a 15% maior. Embora apresentassem ingestão alimentar proporcionalmente maior, os ratos anêmicos não conseguiam incorporar adequadamente o alimento ingerido, principalmente numa temperatura ambiental mais baixa.

Na maioria das pesquisas, para os animais do grupo anêmico, cuja dieta é deficiente em ferro, os dados revelam uma tendência à redução do consumo alimentar. E, conseqüentemente, um menor ganho de peso, conforme apresentado nesta pesquisa.

Não houve diferença entre os grupos com relação ao coeficiente de eficiência alimentar, conforme mostrado na Figura 8. Estes resultados indicam que os ratos alimentados com ração pobre em ferro apresentaram menor ganho de peso, possivelmente em decorrência da menor quantidade de alimento ingerido. Portanto, a observação conjunta desses dados sugere que a deficiência de ferro pode desencadear diminuição da ingestão alimentar, que inicialmente é a principal responsável pelo baixo ganho ponderal dos ratos depletados, refletindo-se dessa forma, em CEA similar entre os grupos depletado e não depletado.

## BIODISPONIBILIDADE DE FERRO (FASE TESTE)

A análise do teor de ferro indica a quantidade do mineral presente na amostra, porém não indica quanto deste será realmente absorvido. Sabe-se que nem todo o ferro presente no alimento ou na dieta é absorvido, podendo ser total ou parcialmente utilizado pelo indivíduo. Dependendo da presença de substâncias estimuladoras ou inibidoras em cada refeição, a absorção de ferro pode variar entre 2 a 35% (MONSEN et al. 1978). Assim, as quantidades recomendadas de consumo são influenciadas por dois fatores: as necessidades individuais e a biodisponibilidade do ferro consumido (DEMAYER, 1989).



**Figura 8.** Coeficiente de eficiência alimentar dos animais na fase pré-teste. Dados expressos em média  $\pm$  DP. Mesma letra indica tratamento equivalente estatisticamente pelo teste t ( $p > 0,05$ ) ( $n=15 \times 3$  blocos cada).

Os dados referentes ao teor de ferro das dietas experimentais são apresentados na Tabela 5. Dentro de um mesmo nível de adição de ferro, as dietas mostraram-se semelhantes – tanto para D como para ND - mesmo para a dieta controle, que não possuía feijão em sua composição, mas apresentou conteúdo de ferro semelhante às demais.

**TABELA 5.** Teor de ferro nas dietas teste utilizadas como tratamentos

<i>Dietas teste</i>	<i>Teor de ferro (mg 100g<sup>-1</sup>)</i>
Controle (D)	3,50
FF (D)	4,47
DBR (D)	3,45
FFMM (D)	5,37
DBRMM (D)	3,73
Controle (ND)	3,50
FF (ND)	5,32
DBR (ND)	3,48
FFMM (ND)	4,32
DBR MM (ND)	3,64

Favaro et al. (2000) verificaram que o nível de ingestão de ferro encontrava-se adequado nas refeições, de acordo com as recomendações nutricionais proposta por RDA (**4 – 6mg**), WHO (**4 – 8mg**) e Homem Padrão (**6,4mg**) em uma pesquisa realizada com refeições servidas no restaurante da Faculdade de Saúde Pública/USP, freqüentado pelos estudantes universitários e funcionários, considerando-se o percentual de 40% das recomendações para a refeição considerada. Segundo os autores, no Brasil, os dados epidemiológicos têm demonstrado que é alto o índice de anemia provocada pela deficiência de ferro, levando à conclusão de que provavelmente não é a falta, mas sim a biodisponibilidade deste elemento que é baixa na dieta.

Osório (2000) verificou baixa biodisponibilidade de ferro em crianças de 6-59 meses, em todos os grupos etários e áreas geográficas do estado de Pernambuco. A autora evidencia que a adequação energética não é necessariamente garantia de adequação do consumo do ferro e que deve-se considerar, também, que a quantificação da ingestão de ferro pouco esclarece sobre a adequação do seu consumo. O aproveitamento de ferro tem relação qualitativa com o consumo total da dieta, uma vez que são necessários alimentos específicos para a sua melhor utilização pelo organismo. Sendo assim, o estudo dos fatores específicos da dieta,

relacionados à absorção de ferro, são de extrema importância na compreensão do quadro epidemiológico do problema.

Vitolo & Bortoloni (2007) investigaram os fatores dietéticos determinantes da ausência de anemia entre lactentes de famílias de baixo nível socioeconômico no município de São Leopoldo (RS), e verificaram que as crianças que não apresentaram anemia mostraram ter maior consumo de ferro dietético do que as que apresentaram anemia. A caracterização da biodisponibilidade do ferro das dietas mostrou estar associada ao estado nutricional de ferro das crianças, sugerindo ser um indicador útil para programas de avaliação ou intervenção que tenham como objetivo o combate à anemia ferropriva.

Assim, esses estudos destacam a importância da biodisponibilidade de ferro em diferentes contextos alimentares. O método que utiliza radionuclídeo é um indicativo da biodisponibilidade do elemento presente em um alimento ou dieta, que apresenta boa correlação com o método “*in vivo*” feito com seres humanos.

Os resultados da análise de variância para as seguintes causas de variação dos percentuais de absorção e retenção de ferro: grupos (animais depletados e não depletados), tratamentos dietéticos (Controle, FF, DBR, FFMM, DBRMM) e interação entre os fatores grupos e tratamentos estão nas Tabelas 6 e 7.

**TABELA 6.** Análise de variância para a variável absorção de ferro

<b>Causas da variação</b>	<b>Grau de liberdade (GL)</b>	<b>Quadrado Médio</b>	<b>P ≥ F</b>
Grupos	1	689,728924	**
Tratamentos	4	7411,824751	Ns
Blocos	2	162,713593	Ns
Grupo x tratamentos	4	148,179196	Ns
Resíduo	78		
<b>Total</b>	<b>89</b>		

\*\* - significativo ( $p \leq 0,05$ )

Ns- não significativo ( $p > 0,05$ )

**TABELA 7.** Análise de variância para a variável retenção de ferro

<b>Causas da variação</b>	<b>Grau de liberdade (GL)</b>	<b>Quadrado Médio</b>	<b>P ≥ F</b>
Grupos	1	882,50807	**
Tratamentos	4	19680,46194	Ns
Blocos	2	403,67993	Ns
Grupo x tratamentos	4	107,17595	Ns
Resíduo	78		
<b>Total</b>	<b>89</b>		

\*\* - significativo ( $p \leq 0,05$ )

Ns- não significativo ( $p > 0,05$ )

Verifica-se que os grupos D e ND apresentaram diferença estatística entre si. E os tratamentos (dietas) não diferiram entre si, assim como, a interação grupo x tratamento não foi significativa.

E os resultados sobre o percentual de absorção e de retenção do ferro marcado das dietas teste estão apresentados nas Figuras 9 e 10.

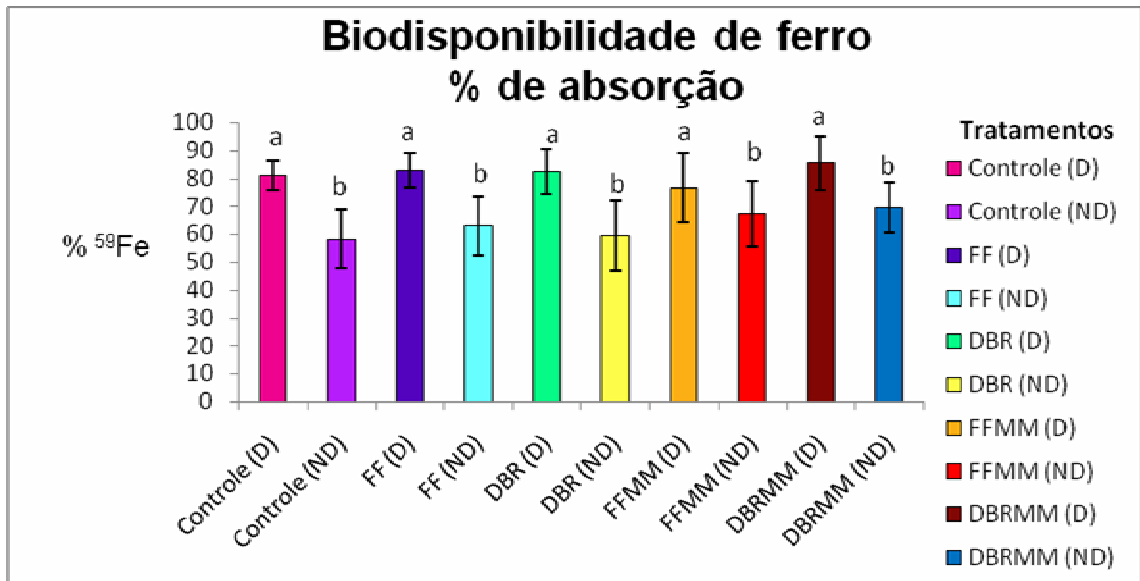
Os grupos depletados apresentaram percentuais significativamente maiores que os não depletados, tanto para a absorção quanto para a retenção de ferro, independente da dieta teste a que estavam expostos. Portanto, como era de se esperar, o estado nutricional em ferro dos animais foi fator determinante da magnitude dos processos de absorção e retenção do mineral.

Os valores de absorção de  $^{59}\text{Fe}$  de ratos depletados alimentados com dietas contendo feijão radiomarcado foram de 76,53% a 85,39% e, de ratos não depletados, foram de 59,32% a 69,51%. Para o tratamento controle, grupo depletado, a absorção foi de 80,98%, e o mesmo tratamento, para o grupo não depletado, foi de 58,21%.

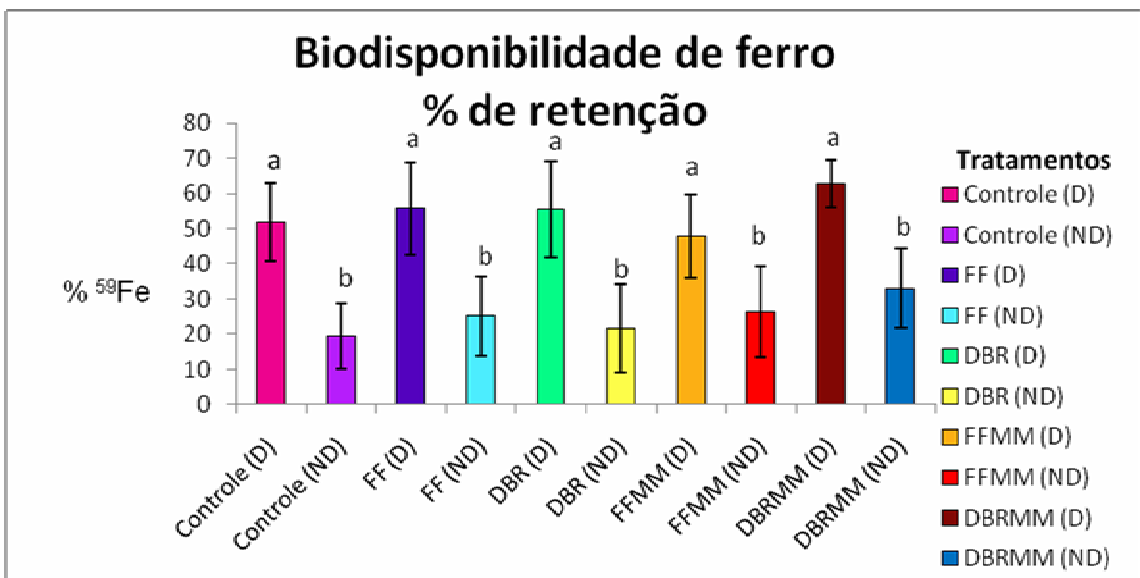
Quanto à retenção de  $^{59}\text{Fe}$  para o grupo depletado foram encontrados os valores de 47,81% a 67,72%, e para o grupo não depletado, a retenção variou de



21,68% a 32,98%. Para o tratamento controle do grupo depletado a retenção de  $^{59}\text{Fe}$  foi de 51,93%, e para o tratamento controle do grupo não depletado, foi de 19,59%.



**Figura 9.** Biodisponibilidade do ferro - % de absorção. Dados expressos em média  $\pm$  DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estaticamente entre si, através do teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).



**Figura 10.** Biodisponibilidade do ferro - % retenção. Dados expressos em média  $\pm$  DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estaticamente entre si, através do teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

É importante ressaltar que a biodisponibilidade se estabelece através da porcentagem da ingestão de ferro que se torna disponível para ação metabólica. Observou-se que a dieta (tratamento) contendo feijão (FF) radiomarcado apresentou

alta biodisponibilidade, 82,76% de absorção para o grupo depletado e 63,02% para o grupo não depletado, com retenção de 55,7% e 25,12%, para os grupos depletado e não depletado, respectivamente.

Comparações entre os grupos não depletados e depletado mostraram uma diferença significativa tanto para absorção quanto para a retenção, confirmando que a magnitude da absorção do ferro se estabelece a partir do estado nutricional do indivíduo.

Os dados referentes à avaliação estatística das dietas teste encontram-se na Tabela 8. Essa avaliação estatística foi realizada para animais depletados e não depletados, agrupados por dieta teste (mesmo tratamento), para efeito de comparação das dietas.

Em relação às dietas testadas (fator tratamento) não foi observada diferença significativa. O grupo depletado teve absorção maior do que o grupo não depletado, assim como a retenção. Ou seja, esses dados revelam que o estado nutricional dos grupos proporcionou comportamentos diferentes quanto à biodisponibilidade do ferro conforme a Tabela 9, e não as dietas (tratamentos), já que qualitativamente estas não apresentaram diferença significativa. Isso indica que qualquer uma das dietas (tratamentos) pode proporcionar o mesmo efeito quanto à biodisponibilidade do ferro.

**TABELA 8.** Biodisponibilidade do ferro das dietas teste independente do estado nutricional em ferro dos animais

<i>Tratamentos</i>	<i>N</i>	<i>Absorção* (%)</i>	<i>Retenção* (%)</i>
Controle	18	69,60±14,26 <sup>a</sup>	35,76±16,38 <sup>a</sup>
FF	18	72,89±13,19 <sup>a</sup>	40,41±20,63 <sup>a</sup>
DBR	18	70,86±15,67 <sup>a</sup>	38,63±22,53 <sup>a</sup>
FFMM	18	71,89±14,18 <sup>a</sup>	37,15±22,11 <sup>a</sup>
DBRMM	18	77,45±12,04 <sup>a</sup>	47,85±21,88 <sup>a</sup>

\* Dados expressos em média ± DP. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estaticamente entre si, através do teste de Tukey ( $p > 0,05$ ) ( $n=9 \times 2$ )

**TABELA 9.** Concentração de hemoglobina, ganho de peso, ingestão de dieta pré-teste, CEA e biodisponibilidade de ferro nos animais depletados ou não depletados em ferro, nos animais agrupados por estado nutricional em ferro

<i>Estado Nutricional</i>	<i>N</i>	<i>Hb inicial (g dL<sup>-1</sup>)</i>	<i>Hb final (g dL<sup>-1</sup>)</i>	<i>Ganho de peso (g semana<sup>-1</sup>)</i>	<i>Ingestão de dieta pré-teste (g semana<sup>-1</sup>)</i>	<i>CEA</i>	<i>Absorção (%)</i>	<i>Retenção (%)</i>
D	45	10.12±1,39 <sup>a</sup>	9.16±0,79 <sup>a</sup>	24.73±5,61 <sup>a</sup>	114.83±14,74 <sup>a</sup>	0.21±0,03 <sup>a</sup>	81.61±9,61 <sup>a</sup>	54.74±17,67 <sup>a</sup>
ND	45	10.52±1,69 <sup>a</sup>	12.69±1,67 <sup>b</sup>	27.65±4,33 <sup>b</sup>	126.88±16,54 <sup>b</sup>	0.22±0,03 <sup>a</sup>	63.4±11,32 <sup>b</sup>	25.17±12,50 <sup>b</sup>

\* Dados expressos em média ± DP. **a** difere de **b**, na mesma coluna, pelo teste de Tukey (p<0,05) (n=45)

A maioria dos experimentos não utiliza dietas que refletem, com fidedignidade, a inadequação observada nos regimes alimentares deficitários, característicos dos segmentos populacionais de baixa renda, que vivem nas áreas de desnutrição endêmica. Nesse sentido, Teodósio et al. (1990) desenvolveram um modelo experimental que reproduz, no rato, quadro clínico muito semelhante ao da desnutrição infantil energético-protéica (DEP), prevalente no Nordeste brasileiro. Esta dieta foi denominada Dieta Básica Regional (DBR), que promove restrição protéico-calórica periódica, levando o indivíduo à desnutrição. Nesta pesquisa, a DBR não foi aplicada para induzir um estado que mimetiza a desnutrição e, sim, para avaliar a biodisponibilidade do seu ferro, nos estados nutricionais depletado e não depletado dos animais.

Vários estudos têm reportado a incontestável inibição exercida por algumas substâncias químicas sobre a absorção de ferro não-heme, proveniente de alimentos de origem vegetal. Entre essas substâncias citam-se os fitatos, os oxalatos, os taninos e os polifenóis, que formam complexos insolúveis com o ferro na luz intestinal (FARFAN, 1998; SANT'ANA et al., 2006). Porém, pesquisas mostram que a influência de substâncias dietéticas na absorção de ferro em ratos é bem menor do que na espécie humana. Reddy e Cook (1991) em estudos comparativos usando ferro radioativo, observaram que substâncias dietéticas, tais como fitatos, que diminuem a absorção de ferro não heme em humanos, exercem um efeito bem menos pronunciado em ratos.

Na presente pesquisa, não houve diferença estatística entre as dietas suplementadas ou não com multimistura, o que indica que a mesma não influenciou na biodisponibilidade do ferro, como fator antinutricional ou promotor. Os tratamentos FF e FFMM apresentaram os seguintes valores de retenção: 55,7% e 47,81%, respectivamente, para o grupo depletado, e para o grupo não depletado, 25,12% e 26,49%. Os tratamentos DBR e DBRMM apresentaram os seguintes valores: 55,57% e 62,72%, para o grupo depletado, e 21,68% e 32,98%, para o grupo não depletado.

A multimistura é fonte de quantidades apreciáveis de fitatos e oxalatos, cujas razões molares com cátions bivalentes, como o ferro, o cálcio e o zinco, são problemáticas do ponto de vista nutricional, podendo determinar uma baixa biodisponibilidade de tais nutrientes. Porém, este efeito inibitório não foi pronunciado na presente pesquisa,

Diversos ensaios biológicos conduzidos com ratos têm indicado a ineficiência do uso da MM no combate à desnutrição ou outras deficiências nutricionais (MADRUGA et al., 2004; FERREIRA et al., 2005). Farfan (1998) observou que a eficácia dos farelos de trigo e arroz, importantes ingredientes da MM, quando utilizados como suplementos de dietas pobres para ratos ou crianças com deficiência nutricional generalizada, é significativamente inferior a de dietas controle. Sant'Ana et al. (2006), ao avaliarem o efeito do consumo de uma MM sobre o estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares, observaram que as crianças que ingeriram MM sofreram uma depleção mais acentuada, provavelmente em função da presença de fatores antinutricionais e/ou do aumento do consumo de cálcio, redutor competitivo da absorção do ferro dietético.

No entanto, Bion et al. (1997), estudando os efeitos da MM sobre o valor nutritivo de uma mistura de feijão com arroz, em ratos *Wistar*, concluíram que a mesma não exerceu efeitos notórios sobre os diversos parâmetros nutricionais investigados, tais como, coeficientes de digestibilidade, de eficiência alimentar e de eficiência protéica, e utilização da proteína líquida, assim como as determinações de hemoglobina e hematócrito e de lipídios totais da carcaça. Siqueira et al. (2001), investigando a biodisponibilidade de cálcio, ferro e zinco, em ratos alimentados com

dieta deficiente suplementada com MM, a qual adicionaram-se várias proporções de fitatos e minerais, concluíram que o teor de fitatos não prejudicou a biodisponibilidade dos minerais. Ferreira et al. (*in press*), por sua vez, avaliando os efeitos do consumo de MM sobre o estado nutricional de crianças de uma favela da periferia de Maceió, Alagoas, concluíram que a suplementação não alterou o perfil antropométrico ou a frequência de anemia e hipovitaminose A, observados naquela população.

Em função dos dados controversos encontrados na literatura e da prática corrente do uso de MM em populações carentes, estudos sobre os efeitos do seu consumo sobre o estado nutricional ainda são necessários. No contexto da DBR, tais estudos, especialmente aqueles voltados para a biodisponibilidade de ferro, são particularmente importantes, uma vez que a anemia por deficiência de ferro encontra-se freqüentemente associada aos estados de desnutrição e pode ser complicada pela presença de fatores antinutricionais na alimentação.

Na presente pesquisa, não houve diferença significativa entre os grupos de animais de igual situação nutricional em ferro, submetidos às diferentes dietas teste, para as variáveis percentual de absorção e de retenção. Dessa maneira, pode-se afirmar que a biodisponibilidade do ferro contido na FF e DBR foi similar e de grandeza semelhante a da dieta controle, independentemente da adição de MM.

O efeito da proteína sobre a absorção de ferro não heme é diferenciado de acordo com a fonte alimentar, tendo as proteínas de carnes, aves e peixes um efeito estimulador, e as proteínas de leite e dos ovos, um efeito inibidor, tal como o ácido fítico, um fator antinutricional responsável pela diminuição da biodisponibilidade de minerais presentes na multimistura (BRIGIDE, 2002; HAROLDO et al., 2005). É interessante observar na presente pesquisa, que dentre as dietas testadas, tanto o efeito inibidor como o estimulador não foi pronunciado.

A dieta FF possui um alto teor de ferro, com boa biodisponibilidade nesse tipo de alimento. Este fato é importante dado o grande o consumo de feijão no Brasil. Moura & Canniatti- Brazaca (2006) avaliaram a disponibilidade do ferro no feijão comum e os efeitos de suas interações com ácido ascórbico e a cistina, concluindo

que a adição destes na dieta torna o ferro presente no feijão mais biodisponível, equiparando-se à carne bovina.

Welch et al. (2000) avaliaram a biodisponibilidade de ferro a partir de 24 genótipos selecionados de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., cujas sementes continham diferentes concentrações de ferro. A biodisponibilidade foi avaliada em ratos, com sementes de feijão marcado intrinsecamente com  $^{59}\text{Fe}$  medida em espectrograma  $\gamma$ . A biodisponibilidade de ferro a partir das refeições teste dependeu do genótipo do feijão e variou de 53% e 76% do total de ferro. Genótipos de feijão com alto teor de Fe resultaram em aumento da biodisponibilidade de ferro.

Kannan et al. (2001) investigaram se a biodisponibilidade de ferro e zinco em feijão preto cultivado hidroponicamente, com marcação intrínseca e extrínseca, poderia ser melhorada com os processos de fermentação e germinação em produtos alimentícios infantis (“papinhas”), formulados com feijão preto e feijão preto com arroz, determinada pela técnica de contagem no corpo inteiro em ratos. A fermentação não aumentou a biodisponibilidade de ferro em ratos alimentados com feijão sem arroz. A absorção do  $^{59}\text{Fe}$  em produtos fermentados variou de 48 % e 58 %. A germinação realçou significativamente a retenção do ferro dos feijões de 46 a 55 %, e do feijão preto com arroz de 34 a 48 %. Esses valores de biodisponibilidade estão de acordo com os verificados na presente pesquisa.

Entretanto, outro trabalho envolvendo radiomarcador observou valores abaixo do encontrado nesta pesquisa (Donangelo et al., 2003). Os autores avaliaram a biodisponibilidade de ferro em mulheres com baixa reserva férrea, por marcação intrínseca e extrínseca do ferro e do zinco em dois genótipos de feijão hidropônicos (*Phaseolus vulgaris* L.), um deles com concentrações normais de ferro e zinco e o outro com concentrações maiores. A absorção do ferro foi baixa em ambos os tipos de feijão: 1,83 % e 1,86 %, no feijão com concentrações normais de ferro e zinco, e 1,03 % e 1,01 %, no feijão com concentrações maiores, para as marcações extrínseca e intrínseca, respectivamente. Foi utilizada a técnica radioativa pela retenção dos tecidos (hemoglobina). Após 14 dias, as amostras de sangue foram coletadas e a quantidade de ferro marcado ( $^{55}\text{Fe}$  e  $^{59}\text{Fe}$ ) foi calculada através das amostras sanguíneas coletadas e de estimativas do total de volume sanguíneo.

Hu et al. (2006) avaliaram a biodisponibilidade de ferro em quatro variedades de feijões (*Phaseolus vulgaris L.*) com diferentes cores (branco, vermelho, carioca e preto) nas seguintes formas: grão inteiro, feijão sem casca e somente a casca do feijão. Utilizaram um modelo 'in vitro' simulando a digestão humana em células Caco-2, mostrando que o feijão branco proporcionou os maiores níveis de biodisponibilidade comparado aos demais (20 vezes maior), o ferro presente na casca apresentou biodisponibilidade duas vezes superior do que aquele do grão inteiro.

Outro estudo conduzido por Hamdaoui et al. (2003), em bioensaio utilizando ratos para verificar a biodisponibilidade de ferro pela técnica de depleção-repleção de hemoglobina, na refeição típica da Tunísia (BSR), relata que há um aumento significativo na biodisponibilidade do ferro quando adicionada carne (6,4 % vs 15,8 %), enquanto a adição dos chás preto e verde ocasiona uma diminuição significativa da biodisponibilidade (-19,6% e - 14,9%, respectivamente). O ganho de peso também foi significativamente menor nos grupos dos animais que receberam chás (3,9 g e 13,0 g, respectivamente) do que no grupo BSR (24,9 g).

Pelos resultados do presente estudo o estado nutricional em ferro dos animais exerceu contribuição maior sobre a biodisponibilidade do ferro presente no feijão do que o tipo da dieta que foi fornecida aos mesmos. A ingestão de feijão, concomitantemente com uma dieta adequada em proteínas, carboidratos, lipídeos, minerais e vitaminas caracteriza-se como uma dieta de alta biodisponibilidade de ferro, contribuindo em suprir as necessidades nutricionais dos indivíduos.

## 6 CONCLUSÕES

O feijão pode ser considerado uma boa fonte de ferro, contribuindo nutricionalmente para a população brasileira, devido a sua alta biodisponibilidade. Isto se reveste de essencial importância, pois o feijão é um alimento de fácil acesso, além de não apresentar custo elevado, possibilitando sua aquisição por grande parte da população.

A magnitude da biodisponibilidade do ferro dietético de todas as dietas investigadas foi determinada pelo estado nutricional em ferro dos animais.

A suplementação com multimistura nas dietas não exerceu qualquer influência sobre a biodisponibilidade do ferro alimentar, em ratos depletados ou não depletados em ferro. Assim, pode-se concluir que suplementação do feijão comum e da DBR com MM, nas condições aqui adotadas, é inócua.

Os animais do grupo depletado em ferro apresentaram menor quantidade de dieta ingerida e, também, menor ganho de peso em relação ao grupo não depletado. Isso sugere, possivelmente, que a anorexia decorrente da dieta deficiente em ferro provocou diminuição da ingestão de dieta e, conseqüentemente, menor ganho de peso no grupo depletado. O coeficiente de eficiência alimentar foi semelhante para ambos os grupos de animais.

A caracterização nutricional do feijão corroborou a sua importância como fonte de proteínas, fibras, lipídeos, carboidratos e ferro.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, A. L. **Contribuição à aplicação de traçadores isotópicos em estudos com animais**. Piracicaba, 2004. Tese (Livre-docência) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.
- ACEVEDO, E.; BRESSANI, R. Contenido de fibra dietetica y digestibilidad del nitrogeno en alimentos centroamericanos: Guatemala. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.40, n.3, p.439-451, Sep. 1990.
- ADEWUSI, S.R.A.; FALADE, O.S. The effects of cooking on extractable tannin, phytate, sugars and mineral solubility in some improved Nigerian legume seeds. **Food Science and Technology International**, v.2, p.231-239, 1996.
- ADMINISTRATIVE COMMITTEE ON COORDINATION. SUB COMMITTEE ON NUTRITION (ACC/SCN). **Third Report on the World Nutrition Situation**. Geneva; 1997.
- ADMINISTRATIVE COMMITTEE ON COORDINATION. SUBCOMMITTEE ON NUTRITION NEWS (ACC/SCN/NEWS). **Forth Report on the World Nutrition Situation. Nutrition throughout the life cycle**. Geneva; 2000.
- ANDERSON, G.J. Control of iron absorption. **Journal Gastroenterolgy Hepatology**, v.11, p. 1020-1032, 1996.
- AYKROID, W.R.; DOUGTHY, J. **Legumes in human nutrition**. Rome: FAO, 1982. 152p. (Food and Nutrition Paper, 20)
- ANTUNES, P.L.; BILHALAVA, A .B.; ELIAS, M.C & S.; GERMANO, J.D. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivares rico 23, carioca, piratã-1 e rosinha-g2. **Revista Brasileira De Agrociência**,v.1, n.1, p.12-18, 1995.
- ANTUNES, P. L.; SGARBIERI, V.C. Fatores antinutricionais, toxicidade e valor nutricional do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Agros**, v.15, n.1, p.39-62, 1980.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis**, Washington DC USA 1995.
- BARBERÁ, R.; FARRÉ, R. Biodisponibilidad de los elementos traza. **Revista Espanhola de Ciencia y Tecnologia de Alimentos**,v.32, n.4, p.381-399, 1992.
- BARRETT, J.F.R.; WHITTAKER, P.G.; FENWICK, J.D.; WILLIAMS, J.G.; LIND, T. Comparison of stable isotopes and radioisotopes in the measurement of iron absorption in health women. **Clinical Science**, v.87, n. 1, p. 91-95, 1994.
- BEARD, J.L.; ZHAN, C.S.; BRIGHAM, D.E. - Growth in iron-deficient rats. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 209, p.65-72, 1995.

- BEARD, J.L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D.J. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutrition Reviews** , v.54, n.10, p.295-317, 1996.
- BENDER, A .E. Nutritional significance of Bioavailability. In: DAT, S.; JOHNSON, I.T.; FEWICK, G. (Eds). **Nutrient availability: Chemical and biological aspects**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1988, p. 3-10.
- BENITO, P.; MILLER, D. Iron absorption and bioavailability: an updated review. **Nutrition Research**, v.18, n.3, p.581-603, 1998.
- BIANCHI, M.L.P; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a disponibilidade de ferro dos alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.42, n.2, p.94-100, 1992.
- BION, F.M.; PESSOA, D. N. P.; LAPA, M. A.G.; CAMPOS, F.A.C. S.; ANTUNES, N. L. M.; LÓPEZ, S. M. L. Uso de uma “multimistura” como suplementação alimentar: estudo em ratos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 47, n. 2, p. 242-247. 1997.
- BOCCIO, J.; SALGUEIRO, J.; LYSIONEK, A.; ZUBILLAGA, M.; GOLDMAN, C.; WEILL, R.; CARO, R. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.53, n.2, p.119-132, jun. 2003
- BRANDÃO, T. T. C., BRANDÃO, R. F. **Alternativas alimentares**. Brasília: Pastoral da Criança; 1988. (publicado pela CNBB).
- BRANDÃO, T. T. C., BRANDÃO, R. F. **Alimentação Alternativa**. Brasília: INAN/Ministério da Saúde. 1996. 95p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Metas governamentais para o ano 2000**. Brasília: Ministério da Saúde; 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução — RDC n.º 53 de 15 de Junho de 2000. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura à Base de Farelo de Cereais**. Brasília, 2000. 4p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Área técnica de alimentação e nutrição**. <http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/carenciais/index/html> (3 fev. 2002).
- BRIGIDE, P. **Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) irradiados**. Piracicaba, 2002. 58 p. Dissertação (Mestrado). ESALQ/USP.
- BRITISH NUTRITION FOUNDATION. **Iron nutritional and physiological significance**. London: Chapman & Hall, 1995. 186p.

BRUNKEN, G.S.; GUIMARÃES, L. V; FISBERG, M. Anemia em crianças menores de 3 anos que freqüentam creches públicas em período integral. **Journal de Pediatria**. v. 78, n. 1, p. 50-56, 2002.

CABALLERO, B. Interacciones entre los componentes de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.38, n.3, p.656-684, 1988.

CALLEGARO, M.D.G. - **Efeito do arroz integral em relação ao polido na mistura arroz-feijão sob alguns parâmetros de avaliação nutricional em ratos em crescimento**. São Paulo, 1995. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.

CANDELA, M.; ASTIASARAN, I.; BELLO, J. Cooking and warm holding: effect on general composition and aminoacids of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), chickpeas (*Cícer aritinum*) and lentils (*Lens culinaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 4763-4767, 1997.

CARRAZZA, F.R. Minerais em dietas latinoamericanas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.38, n.3, p.599-621, 1988.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; SILVA, F. C. Avaliação do aproveitamento do ferro de leguminosas por diálise "in vitro" In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO. Nutrição: Perspectivas para o próximo século, 5, São Paulo, **livro de resumos**, p.258, 1999.

CARPENTER, C.E; MAHONEY A .W. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. **Critical Review Food Science Nutrition**, v. 31, n. 4, p. 333-367, 1992.

CHAUD, M.V.; FREITAS, O. Compostos alternativos para o tratamento e/ou prevenção da anemia ferropriva. **Cadernos de Nutrição**, v.8, p.1-9, 1994.

CONSELHO FEDERAL DE NUTRICIONISTAS – CFN; Posicionamento do CFN quanto a multimistura; Brasília; 1996. ( In mimeo).

CLYDESDALE, F.M. Minerals: Their chemistry and fate in food. In: Smith K.T. (Ed). **Trace minerals in food**.New York: Marcel Dekker, 1988. p.57-94.

CONRAD, M.E.; UMBREIT, J.N.; MOORE, E.G. A role for mucin in the absorption of inorganic iron and other metal cations. **Gastroenterology**, v.100, p.129-136, 1991.

COZZOLINO, S.M.F. Biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição. PUCAMP**, v. 10, n. 2, p. 87-98, 1997.

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. São Paulo, ed: Manole, 2005. 878 p. v. 1.

COZZOLINO, S. M. F. ; LAJOLO, F. M. ; ZUCAS, S. M. . Estudo nutricional de dietas regionais brasileiras. I- arroz e feijão influencia da proporção na mistura,

suplementação com minerais e vitaminas e da restrição no consumo, sobre a utilização biológica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 16, p. 155-166, 1980.

COZZOLINO, S.M.F.; PEDROSA, L.F.C. Grupo de trabalho: biodisponibilidade de nutrientes. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.1, p.53-56, 1995.

DALLMAN, P.R.; REFINO, C.; YLAND, M.J. - Sequence of development of iron deficiency in the rat. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 35, p.671-77, 1982.

DE ANGELIS, R.C. **Fome oculta, impacto para a população do Brasil**. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 236p.

DE ANGELIS, R.C.; MAURON, J., FINOT, P.A.; BESSON, R.; VODOZ, G.; ROGANO, R.N.; VECCHIA, M.G. Bioavailability Of Mineral Elements In The Brazilian Basic Food System Of Rice And Beans.. **Nutrition Research**. v. 5, p. 969-981, 1985.

DE MAYER, E. M; DALLMAN, P.; GURNEY, J. M. et al. **Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care**. Geneva: WHO, 1989. (A Guide for Health Administrators and Programme Managers).

DONANGELO, C.M.; WOODHOUSE, L. R., KING, C.M.; TOFFOLO, G., SHAMES, D. M., VITERI, F.E., CHENG, Z., WELCH, R., M., KING, J.C.. Iron and Zinc Absorption from Two Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes in Young Women **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 17, p. 5137-5141. 2003.

DHUR, A.; GALÁN, P.; HERCBERG, S. - Effect of decreased food consumption during iron deficiency upon growth rate and iron status indicators in the rat. **Annals Nutrition Metabolism**, v. 34, p. 280-87, 1990.

EFIOK, B.J.S. Radioactivity and related calculations. In: **Basic calculations for chemical & biological analyses**. 1996.

ELPO, E.R.S.; FREITAS, R.J.S.; GOMES, E.C. Avaliação dos teores de ferro nos alimentos da cesta básica. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, n.1, p.65-67, 1998.

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Tabela de composição de alimentos. Disponível <http://www.fcf.usp.br/tabela/resultado.asp?IDLetter=T&IDNumber=50> (acessado 26/03/2007).

FAIRWEATHER-TAIT, S. J. Bioavailability of nutrients. In: MACRAE, R.; ROBINSON, R.K.; SADLER, M. J. **Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition**. London: Academic Press, 1993. p.384-388.

FANTINI, A. P.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SOUZA, M. C.; MANSI, D. N. Disponibilidade de ferro em misturas de alimentos com adição de alimentos com alto teor de vitamina C e de cisteína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 435-502, 2008.

FAO/OMS. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Requirements of Vitamin A, Iron, Folate, and Vitamin B<sub>12</sub>**. Report of a Joint FAO/Who Expert Consultation. Rome: FAO, 1988. (FAO Food and Nutrition Series n.23)

FAO. **Necessidades de vitamina A, hierro, folato y vitamina B12**: informe de una consulta mista FAO/OMS de expertos. Roma, 1991. 121p. (Serie Estudios FAO Alimentación y Nutrición)

FAO. Base de dados. FAOSTAT. Disponível em: <<http://apps.fao.org>> acesso em 16 de fevereiro de 2006.

FARFAN, J. M. Alimentação alternativa: análise crítica de uma proposta de intervenção nutricional. **Caderno de Saúde Pública**. v. 14, n.1, p. 205-212. 1998,

FAVARO, D. I. T., AFONSO, C., VASCONCELLOS, M. B. A. *et al.* Determinação de elementos minerais e traços por ativação neutrônica, em refeições servidas no restaurante da Faculdade de Saúde Pública/USP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.176-182. 2000.

FERNANDEZ, M. I. M.; GALVÃO, L. C.; BORTOLOZZI, M. F.; OLIVEIRA, W. P.; ZUCOLOTO, S.; BIANCHI, M. L. P. Disaccharidase levels in normal epithelium of the small intestine of rats with iron deficiency anemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, p. 849-54, 1997.

FERREIRA, F. A. G. **Nutrição humana**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1993.1291p.

FERREIRA, H. S. **Desnutrição: magnitude, significado social e possibilidade de prevenção**. Maceió: EDUFAL; 2000.

FERREIRA, H. S.; ASSUNÇÃO, M. L.; VASCONCELOS, V. S.; MELO, F. P.; OLIVEIRA, C. G.; SANTOS, T. O. Saúde de populações marginalizadas:desnutrição, anemia e enteroparasitoses emcrianças de uma favela do "Movimento dos Sem Teto", Maceió, Alagoas. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 2, n. 2, p.177-185, 2002.

FERREIRA, H. S.; ASSUNÇÃO, M. L.; FRANÇA, A. O. S.; CARDOSO, E. P. C.; MOURA, F. A. Efetividade da "multimistura" como suplemento de dietas deficientes em vitaminas e/ou minerais na recuperação ponderal de ratos submetidos à desnutrição pós-natal. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 1, 2005.

FERREIRA, H. S.; ASSUNÇÃO, M. L.; FLORÊNCIO, T. M. M. T.; LIMA, M. A. A. Estado nutricional de pré-escolares da região semi-árido Estado de Alagoas 2005. **Cadernos de Estudos Desenvolvimento Social em Debate**: Ministério do

Desenvolvimento Social e Combate à Fome, Secretaria de Avaliação e Gestão da Informação. Brasília, DF, 2006. n. 4, 116 p.

FERREIRA, H. S.; CAVALCANTE, S. A.; CABRAL JR., C. R.; PAFFER, A. T. Efeitos do consumo da multimistura sobre o estado nutricional: ensaio comunitário envolvendo crianças de uma favela da periferia de Maceió, Alagoas, Brasil. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.* (*in press*).

FISBERG, M., BRAGA, J. A. P.; GIORGINI, E.; PAULA, R. C. Tratamento e prevenção da anemia carencial por deficiência de ferro. **Pediatria Moderna**. v. 34, n. 10, p. 651-657, 1998.

GEIL, P.B.; ANDERSON, J.W. Nutrition and health implications of dry beans: a review. **Journal of the American College of Nutrition**, v 13, n 6, p.549-558, 1994.

GISLASON, J.; JONES, B.; LÖNNERDAL, B.; HAMBRAEUS, L. Iron absorption differs in piglets fed extrinsically and intrinsically iron-59 labeled sow's milk. **Journal of Nutrition**, v.122,n.6 ,p.1287-1292, 1992.

GONZÁLES, G.C.A. Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.50, n.3, p.281-285, 2000.

GROSS, R.; SCHULTHINK, W.; JULIAWAT, I. Treatment of anaemia with weekly iron supplement iron. **The Lancet**, v. 17, n. 344, p. 821, 1994. Supl. 89924.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

GUZMÁN- MALDONADO, S.H.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; PAREDE-LÓPES, O. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Science Food Agriculture**, v.80, p.1874-1881, 2000.

HALLBERG, L. Bioavailability of dietary iron in man. **Annual Review of Nutrition**, v.1, p. 123-147, 1981.

HARKNESS, J. E.; WAGNER, J. E. *Biologia e clinica de coelhos e roedores*.3. ed. São Paulo: Roca; 1993.

HAMDAOUI, M. H., CHABCHOUB, S., HÉDHILI, A. Iron bioavailability and weight gains to iron-deficient rats fed a commonly consumed Tunisian meal 'beans seeds ragout' with or without beef and with green or black tea decoction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5063-5069. 2001.

HERRERA, I.M.; GONZÁLES, E.P.; ROMERO, J.G. Fibra dietética soluble. Insoluble total en leguminosas crudas e cocidas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Guatemala, v. 48, n. 2, p. 179-181, 1998

HU, Y.; CHENG, Z.; HELLER, L. I.; KRASNOFF, S.B.; GLAHN, R.P.; WELCH, R.M. Kaempferol in red and pinto bean seed (*Phaseolus vulgaris* L.) coats inhibits iron bioavailability using an in vitro digestion/human caco-2 cell model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, n. 24, p. 9254-9261, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA-IBGE. **Estimativas da população**. Disponível em: \_\_\_\_\_. **Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em: 16 fev. 2006.

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTES DO BRASIL (ILSI). **Necessidades nutricionais de crianças e adolescentes**. Série: alimentos fortificados e suplementos).2006.

KANNAN, S., NIELSEN, S. S., RODRIGUEZ-BURGER, A. P., MASON, A.C. Iron and Zinc Bioavailability in Rats Fed Intrinsically Labeled Bean and Bean-Rice Infant Weaning Food Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**., v. 49, p. 5063-5069. 2001.

LARSEN, T. Interactions between minerals: Comparison between mineral absorption in rat and pig. In: Jungvid H., Forshell, L.P., Eggum B.O (Eds).The Rat as a Model for Man and Pig In Nutritional and Physiological Studies. **National Institute of Animal Science**, Tjele, Denmark, p.137-142, 1992.

LATUNDE-DADA, G.O.; NEALE, R.J. Review: availability of iron from foods.**Journal of Food Technology**, v.21, p.255-268, 1986.

LEVY-COSTA, R. B.; SICHIERI, R.; PONTES, N. S.; MONTEIRO, C. A. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 4, p. 530-540, 2005.

LIMA, A. O; SOARES, J. B.; GRE, J. B., GALIZZI J.; CANÇADO, J. R. Métodos de laboratório aplicados a clinica; técnica e interpretação. 8º ed. Guanabara Koogan (ed) Rio de Janeiro: 2001.

LINDER, M.C.Nutrición y metabolismo de los elementos traza. **Eunsa**, p.189-216, 1988.

LYNCH, S. R.; BAYNES, R. D. Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for iron dietary recommendations. **Journal of Nutrition**,v.126, n.9, p.2404S-2409S, 1996. Supplement.

LOZOFF, B.; JIMENEZ, E.; WOLF, A. W. Long-term developmental outcome of infants with iron deficiency. **New England Journal Medicine**, v. 325, p. 687-94, 1991.]

MACHADO, C. M.; FERRUZZI, M. G.; NIELSEN, S.S. Impact of the hard-to-cook phenomenon on phenolic antioxidants in dry beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 56, n. 9, p. 3102-10, 2008.

MACPHAIL, A. P. Iron deficiency and developing world. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.51, n.1, p.2-6, 2001.

MADRUGA, M. S., SANTOS, H. B.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M. Avaliação nutricional de uma dieta suplementada com multimistura: estudo em ratos. **Ciência. Tecnologia de Alimentos**, v.24 n.1, p. 129-33.2004.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 11.ed.São Paulo: Roca, 2005. 1242p.

MALDONADO, S.; SAMMÁM, N. Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos en el noroeste argentino. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.50, n.2, p.195-199, 2000.

MARINO, D. A. Aplicação de traçadores isotópicos em estudos de biodisponibilidade de minerais. **Cadernos de Nutrição**, v. 8, p. 19-30, 1994.

MARTÍNEZ, C.; ROS, G.; PERIAGO, M. J. et al. *In vitro* protein digestibility and mineral availability of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as influenced by variety and pod size. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.77, p.414-420, 1998.

MARTÍNEZ, C.; ROS G.; PERIAGO, M.J.; LÓPEZ, G. Biodisponibilidad del hierro de los alimentos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 49, n. 2, p. 106-113, 1999.

MARTINI, F. C. C. **Comparação entre a disponibilidade de ferro na presença de vitamina A e beta-caroteno em alimentos e medicamentos**. Piracicaba, 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq/USP).

MATTOS, L. L.; MARTINS, I. S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n.1, p. 50-55, 2000.

MCKAY, R. H; HIGUCHI, D. A.; WINDER, W. W; FEEL, R. D.; BROWN, E. B. Tissue effects of iron deficiency in the rat. **Biochemical and Biophysical Acta**. V. 757, n. 3, p. 352, 1983.

MOLINA, M. R.; FUENTE, G. DE LA; BRESSANI, R. Interrelationships between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and other characteristics of the black bean (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Food Science**, v. 40, p. 587-591, 1975.

MONSEN, E. R.; HALLBERG, L.; LAYRISSE, M. et al. Estimation of available dietary iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.31, p.134-141, 1978.

MONTE, C. M. G. Desnutrição: um desafio secular à nutrição infantil. **Jornal de Pediatria**, v. 76, (Supl. 3), S 285 - S297, 2000.



MONTEIRO, C. A, SZARFARC, S. C, MONDINI, L. Tendência secular da anemia na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). *Revista Saúde Pública*, v.32, p. 62-72, 2000.

MORRIS, E. R. Iron. In:Mertz, W. (Ed).**Trace elements in human and animal Nutrition**,New York, Academic Press, 1987, v. 1, p. 79-141.

MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 270-276, 2006.

NASCIMENTO FILHO, V. F. **Características físicas dos principais radioisótopos utilizados em ciências biológicas**. Piracicaba:USP-CENA, 1997. 8p. (Boletim Técnico, 9).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Recommended Dietary Allowances**. 10.ed. Washington DC : National Academy Press, 1989. 284p.

OLIVEIRA, J. D. E.; SANTOS, A. C.; WILSON, E. D. **Nutrição básica**. São Paulo:Editora Sarvier, 1989. 286p.

OLIVEIRA, A. C.; QUEIROZ, K. S.; HELBIG, E.; REIS S. M. P. S.; CARRARO, F. O processamento doméstico do feijão-comum ocasionou uma redução nos fatores antinutricionais fitatos e taninos, no teor de amido e em fatores de flatulência rafinose, estaquiose e verbascose. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.51, n.3, 2001.

OLIVEIRA, R. S., DINIZ, A. S., BENIGNA, M. J. C., MIRANDA-SILVA, M.,LOLA, M. M., GONÇALVES, M. C et al. Magnitude, distribuição espacial e tendência da anemia em pré-escolares da Paraíba. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, p. 26-32. 2002.

OMS (Organização Mundial da Saúde). Fundo das Nações Unidas para a Infância. **SITUAÇÃO MUNDIAL DA INFÂNCIA**. BRASÍLIA (DF); 1998.

OSÓRIO, M. M. **Perfil epidemiológico da anemia e fatores associados à hemoglobina em crianças de 6-59 meses de idade no Estado de Pernambuco**. Recife, 2000.Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco,CCS/Depto. de Nutrição; 2000.

OSÓRIO, M. M. Fatores determinantes da anemia em crianças. **Jornal de Pediatria**.v. 78, n. 4, p. 269-278. 2002.

PANT, R.; TULSIANI, D. R. P. Solubility, amino acid composition, and biological evaluation of proteins isolated from leguminous seeds. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.17, p.361, 1969.

PAPANIKOLAOU, G.; PANTOPOULOS, K. Iron metabolism and toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**. v. 202, p. 199– 211, 2005.

QUEIROZ, B. P. V.; NASCIMENTO FILHO, V.; SPESSOTO, A. M. Uso do radioisótopo  $^{14}\text{C}$  em estudos de comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente. In: FAY, E.F.; SILVA, C.M.M.S (orgs). **Agrotóxicos & Ambiente**. Brasília/DF, Embrapa informação tecnológica. 2004. 400 p.

REDDY, M. B.; COOK, J. D. Assessment of dietary determinants of nonheme-iron absorption in humans and rats. **American Journal Clinical Nutrition**, v.54, p. 732-728, 1991.

REEVES, P. G. Components of AIN-93 diets a improvements in the AIN-76A diet. **Journal of Nutrition** v.127, n.5, p.8385-841S, 1997.

RINGLER, D., DABICH, L. **Hematology and Clinical Biochemistry**. In: The Laboratory Rat. San Diego: Academic Press, 1979. p. 105-19.

SAMMÁN, N.; MALDONADO, S.; ALFARO, M.E. et al. Composition of different bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) of northwestern Argentina (region NOA): cultivation zone influence. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.47, n.7, p.2685-2689, 1999.

SANT'ANA, L. F. R.; CRUZ, A. C. R. F.; FRANSCSCHINI, S. C.C.; COSTA, N. M. B. Efeito de uma multimistura alimentar no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 445-454, 2006.

SANTOS, C.D; SANTOS, L. M. P.; FIGUEIROA, J. N.; MARROQUIM, P. M. G.; OLIVEIRA, M. A. A. Anemia em escolares da primeira série do ensino fundamental da rede pública de Maceió, Alagoas, Brasil. **Cadernos de. Saúde Pública**, v.18, n.6, 2002.

SAS Institute Inc. **SAS System for Statistical Analysis**, SAS 9.2. Cary,NC, 2003.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. Dry beans of *Phaseolus*: a review I. Chemical composition. Protein. **CRC Critical Reviews Food Science and Nutrition**, v. 20, n.5, p.31-39, 1984.

SCHIMITZ, B. A. S. **Avaliação e um programa de atenção primária a saúde: impacto sobre o estado nutricional**. São Paulo, 1999. Tese (Doutorado em Nutrição)- Universidade Federal de São Paulo/EPM, 1999.

SCRIMSHAW, N. S.; SANGIOVANNI, J. P. Synergism of nutrition, infection and immunity an review. **American Journal Clinical Nutrition**, Suppl 1, v. 66, p. 462-277, 1997.

SGARBIERI, V. C.; ANTUNES, P.L.; ALMEIDA, L.D. Nutritional evaluation of four varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Journal of Food Science**, v. 44, 1306-1308, 1979.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento.** Campinas:UNICAMP, 1987.

SILVA, J.D. **Análise de Alimentos (métodos químicos e biológicos).** Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1981. 166p.

SILVA, L. S. M.; GIUGLIANI, E. R. J.; AERTS, D. R. G. de C. Prevalência e determinantes de anemia em crianças de Porto Alegre, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública.** v. 35 ,n. 1, p. 66-73, 2001.

SILVA, V.R.; IACHAN, A. Proteins from varieties of Brazilian beans (*Phaseolus vulgaris*)| Quantification and fractionation of proteins. **Revista Brasileira de Tecnologia,** v.6, p.133, 1975.

SIQUEIRA, E. M. A.; ARRUDA, S. F.; SOUSA, L. M.; SOUZA, E. M. Phytate from an alternative dietary supplement has no effect on the calcium, iron and zinc status in undernourished rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición,** v. 51, n. 3, p. 250-257, 2001.

SIQUEIRA, E. M. A.; AZEVEDO, I. T.; ARRUDA, S. F.; LIMA, S. M. D.;GONÇALVES, C. A.; SOUZA, E. M. T. Regional low-cost diet supplement improves the nutritional status of school children in a semi-arid region of Brazil. **Nutrition Research.** n. 23, p. 703-12, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO (SBAN). Aplicações das recomendações nutricionais adaptadas a população brasileira. **Cadernos de Nutrição.** São Paulo, v.2, p. 155, 1990

SOUTHON, S.; FAIRWEATHER-TAIT J.; HAZELL T. Trace element availability from the human diet. **Proceeding of the Nutrition Society,** v.47, n. 1, p.27-35, 1988.

SOUZA, J. S.; PINHEIRO, J. B.; GARCIA, M .F. T.; PAIS, M. V. R.; NUNES, V. - Muqueuse intestinale dans l'aémie ferriprive du rat. **Helvetiae Paediatrica Acta,** 31:167-71, 1976.

SRIRATANABAN, A.; THAYER, W.R. Small intestinal disaccharidase activities in experimental iron dan protein deficiency. **American Journal Clinical Nutrition,** v. 24, p. 411-15, 1971.

SZARFARC, S. C.,STEFANINI, M. L. R.; LERNER, B. R. Anemia Nutricional no Brasil. **Cadernos de Nutrição,** v. 9, p. 5-24, 1995.

TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E.S.; ROMANI, S.A.M.; GUEDES, R.C.A. A regional basic diet (RDB) from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion,** v.40, n.4, p.533-47, 1990.

TOBIN, G.; CARPENTER, J. The nutritional value of the dry bean (*Phaseolus vulgaris*): a literature review. **Nutrition Abstracts And Reviews Series A**, Aberdeen, v. 48, n. 11, p. 919-936, 1978.

TURNLUND, J.R. Bioavailability of dietary minerals to humans: the stable isotope approach. **Critical Review of Food Science**, v.30, n. 4, p.387-396, 1991.

VALBERG, L.S.; TAYLOR, K.B.; WITTS, L.J. The effect of iron deficiency on the stomach of the rat. **British Journal of Nutrition**, v.15, p. 473-80, 1961.

VALENTE, K. C. L. Alimentação escolar um direito humano. Brasília, 2000, 47 p.

VAN CAMPEN, D.R.; GLAHN, R. P. Micronutrient bioavailability techniques: accuracy, problems and limitations. **Field Crops Research**, v. 60, p. 93-113, 1999.

VAN ESPEN, P.; NULLENS, H.; ADAMS, F.A. Computer analysis of X-ray fluorescent spectra. **Nuclear Instruments and Methods**.v. 142, p. 243-250. 1977.

VANNUCCHI, H.; MENEZES, E.W.; CAMPANA, O. et al. **Aplicação das recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira**. Ribeirão Preto: SBAN, 1990. 156p.

VIEIRA, C. Leguminosas de grãos: importância na agricultura e na alimentação humana. **Informe Agropecuário**, v.16, n.174, p.5-11, 1992.

VITOLO, M. R.; BORTOLINI, G. A. Biodisponibilidade do ferro como fator de proteção contra anemia entre crianças de 12 a 16 meses. **Jornal de Pediatria** , v. 83,n.1,p. 33-38. 2007

WAYHS, M., L., C. **Crescimento, absorção intestinal da D-xilose e morfometria jejunal em ratos com anemia ferropriva**. São Paulo, 1999. 107p. UNIFESP/EPM.

WEAVER, C.M; NELSON, N.; ELLIOTT, J. G. Bioavailability of iron to rats from processed soybean fractions determined by intrinsic and extrinsic labeling techniques. **Journal of Nutrition**, v.114, P. 1042-1048, 1984.

WELCH, R.S.; HOUSE, W.A.; BEEBE, S.; CHENG, Z. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris L.*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 48, n. 8, 2000.

WIENK, K.J.H., MARX, J.J.M., BEYNEN, A.C. The concept of iron bioavailability and its assessment. **European Journal of Nutrition**, v. 38, n.2, p.:51–75, 1999.

World Health Organization (WHO). The world health report 1995: Bridging the Gaps. World Health Organization: Geneva, 1995.

World Health Organization (WHO). Complementary feeding of children in development countries: a review of current scientific knowledge. Geneva; 1998. (WHO/NUT/98.1)

**ANEXOS**

## Anexo A – Unidades de radioatividade

Unidades de radioatividade e seus equivalentes (Efiok, 1996).

Unidade	Definição	Equivalente
Curie (Ci)	Quantidade de uma substância radioativa decaindo numa velocidade de $3,7 \cdot 10^{10}$ desintegrações por segundo ( $3,7 \cdot 10^{10}$ dps)	$1 \text{ Ci} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ dps} = 2,22 \cdot 10^{12} \text{ dpm}$
Microcurie ( $\mu\text{Ci}$ )	1 milionésimo de 1 curie	$1 \mu\text{Ci} = 2,22 \cdot 10^6 \text{ dpm}$
Desintegrações por minutos (dpm)	Número de átomos radioativos que se desintegram por minuto	
Contagem por minuto (cpm)	Número de desintegrações detectadas por minuto (se o sistema de detecção tiver uma eficiência de 100%, então cpm é igual a dpm)	$\text{cpm} = \text{dpm} \cdot \text{eficiência}$ (fração)
Becquerel (Bq)	Unidade da radioatividade definida como a quantidade de uma substância radioativa decaindo a uma velocidade de 1 desintegração por segundo (1 dps)	$1 \text{ Bq} = 1 \text{ dps}$ $= 60 \text{ dpm}$ $= 2,7 \cdot 10^{-11} \text{ Ci}$ $1 \text{ Ci} = 3,7 \cdot 10^{10} \text{ Bq}$ $1 \text{ mCi} = 3,7 \cdot 10^7 \text{ Bq}$ $1 \mu\text{Ci} = 3,7 \cdot 10^4 \text{ Bq}$ $1 \text{ nCi} = 37 \text{ Bq}$

**Anexo B – Multimistura (MM)**

INGREDIENTES	%
pó de casca de ovo	10
Folha de mandioca	10
Farelo de trigo	80

MM da Pastoral da Criança de Maceió

**Anexo C - Composição da Dieta Básica Regional (DBR)**

INGREDIENTES	QUANTIDADE (g) *
feijão mulatinho **	18,34
batata doce	12,76
Farinha de mandioca	65,16
Charque	3,74

\* base seca

\*\* para fins experimentais, o feijão mulatinho foi substituído pelo feijão comum carioca  
TEODÓSIO et al. 1990.



**Anexo D - Composição percentual das dietas pré-teste de depleção e controle**

<b>INGREDIENTES</b>	<b>AIN 1993 G (%) *</b>	<b>AIN 1993 G (%) **</b>
Caseína	20	20
Sacarose	10	10
Óleo de soja	7	7
Fibra microcristalina	5	5
Mistura salina		3,5
Mistura salina sem Ferro	3,5	
Mistura vitamínica	1	1
L-cistina	0,30	0,30
Bitartarato de colina	0,25	0,25
Amido de milho	39,75	53
Amido de milho dextrinizado	13,20	13,20
Metionina	1,6	1,6
t- butil- Hidroquinona	0,014	0,014

\*ração dieta pré-teste depleção \*\* ração dieta pré-teste controle (AIN-93 G =dieta para roedores de laboratório proposta pelo American Institute of Nutrition)

Composição da mistura mineral (AIN-93G-MX) que fornece as concentrações recomendadas de minerais para a dieta AIN- 93G

<b>MISTURA MINERAL</b>	<b>mg/Kg de ração</b>
<b>Minerais Essenciais</b>	
Cálcio	5000,0
Fósforo	1561,0
Potássio	3600,0
Enxofre	300,0
Sódio	1019,0
Cloro	1571,0
Magnésio	507,0
Ferro*	35,0
Zinco	30,0
Manganês	10,0
Cobre	6,0
Iodo	0,2
Molibdênio	0,15
Selênio	0,15
Minerais potencialmente benéficos	
<b>MISTURA MINERAL</b>	<b>mg/kg de ração</b>
Silício	5,0
Cromo	1,0
Flúor	1,0
Níquel	0,5

Boro	0,5
Lítio	0,1
Vanadium	0,1

\* No preparo da ração do grupo pré-teste depleção, o conteúdo de ferro da mistura mineral foi de 0,0 mg/kg.

Composição da mistura vitamínica (AIN-93-Vx), que fornece as concentrações recomendadas de vitaminas para a dieta AIN-93 G

<b>VITAMINA</b>	<b>U/Kg de ração</b>
Ácido nicotínico, mg	30
Pantotenato, mg	15
Piridoxina, mg	6
Tiamina, mg	5
Riboflavina, mg	6
Ácido fólico, mg	2
Vitamina K, µg	750
D-Biotina, µg	200
Vitamina B <sub>12</sub> , µg	25
Vitamina A, UI	4000
Vitamina D <sub>3</sub> , UI	1000
Vitamina E, UI	75

## Anexo E - Descrição do experimento utilizando $^{59}\text{Fe}$

### *a) Preparação das soluções de trabalho*

São necessários o uso de jaleco de mangas compridas, luvas de látex, avental plumbífero, óculos de proteção plumbífero, protetor de tireóide e dosímetro para proceder a abertura do frasco contendo  $^{59}\text{FeCl}_3$  na forma sólida. Para manipulação do material radioativo conta-se com suporte plumbífero e tijolos de chumbo como blindagem à radiação gama (Figura 11). Inicialmente, procede-se a abertura do frasco contendo  $^{59}\text{FeCl}_3$  na forma sólida, diluindo em solução aquosa contendo 1 mL. Preparar-se-ão 730 $\mu\text{L}$  de solução de um castelinho de chumbo (contendo 675  $\mu\text{Ci}$  de  $^{59}\text{Fe}$  completando 15 mL para a solução de trabalho sendo depois distribuído 1 mL para cada vaso, que receberá aproximadamente 45  $\mu\text{Ci}$ .



Figura 11. Blindagem à radiação gama

A solução remanescente, dita solução estoque, é armazenada em frasco próprio devidamente blindado (Figura 12), em ambiente apropriado para esse fim (depósito de armazenamento de material radioativo).



Figura 12. Castelinhos de chumbo disponíveis para  
transportação e conservação de fontes gama

*b) Plantio do feijão e acompanhamento do crescimento*

Em 15 vasos, contendo 3 kg de terra, procede-se o plantio, adicionando 1 mL da solução trabalho (45  $\mu\text{Ci}$ ). Os vasos são acondicionados em casa de vegetação devidamente trancados e sinalizados com monitoramento periódico do local até a colheita, sendo realizada periodicamente monitoração de contaminação.

*C) Processamento do feijão radioativo e contagem dos animais*

O feijão colhido é posto em estufa a 60° C, autoclavado e liofilizado e posteriormente dado aos animais como dieta. Durante 7 dias é realizado a contagem corporal total dos animais em cintilador sólido.

**Fórmula para cálculo de decaimento radioativo**

O cálculo dos prazos necessários para o decaimento da *atividade* dos radionuclídeos presentes em *rejeitos* sólidos posteriormente eliminados no sistema de coleta de lixo urbano, será baseada nas normas vigentes da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), sendo calculado pela fórmula:

$$A = A_0 \times e^{-\lambda t}$$

Onde:

**A** é a atividade final

**A<sub>0</sub>** é a atividade inicial ( $\mu\text{Ci. Kg}^{-1}$ )

**e** é o número neperiano e equivale a 2,71828

**t** é o tempo em dias

$\lambda$  é a constante de decaimento =  $\ln 2 / T_{1/2}$  ou  $0,693 / T_{1/2}$   
 ( $T_{1/2}$  equivale à meia-vida)

### Gerenciamento de rejeitos

#### a) Da preparação da solução trabalho

Do frasco original contendo 1 mCi é preparado a solução trabalho (730  $\mu\text{L}$ ) e a solução estoque (270  $\mu\text{L}$ ). A solução estoque (270  $\mu\text{L}/325 \mu\text{Ci}$ ) é armazenada em local apropriado para esse fim.

Nesta etapa do procedimento geram-se duas ponteiros, o frasco original (vazio) e o frasco solução de trabalho (vazio) como rejeitos.

Cada ponteira pesa 0,80 g e cada frasco pesa aproximadamente 15g. Associando-se 2% da atividade inicial a cada rejeito teremos para a atividade estimada os dias para descarte calculados, considerando o limite de  $2 \mu\text{Ci kg}^{-1}$ , de acordo com as normas da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN).

#### Exemplo de cálculo de rejeito radioativo

REJEITO	ATIVIDADE ESTIMADA	DIAS PARA DESCARTE
Ponteiras (duas)	$20\mu\text{Ci} = 12500\mu\text{Ci/kg}$ $1,6 \cdot 10^{-3}$	563 d
Frasco original	$20\mu\text{Ci} = 1333\mu\text{Ci/kg}$ $15 \cdot 10^{-3}$	419 d
Frasco solução de trabalho	$20\mu\text{Ci} = 1333\mu\text{Ci/kg}$ $15 \cdot 10^{-3}$	419 d

Os dias para descarte são calculados utilizando a equação do decaimento radioativo:

$$A = A_0 \cdot e^{-\lambda t/\tau} \quad \Leftrightarrow \quad t = \frac{-44,6 \cdot \ln \frac{A}{A_0}}{0,693}$$

onde  $A = 2 \mu\text{Ci}$

$\tau = 44,6 \text{ d}$

*b) Do plantio ao processamento do feijão*

Os rejeitos gerados nesta etapa são: solos, vasos e vagens. Um grama do solo e 1 g de vagem são levados ao detector sólido para contagem. Estima-se a atividade específica dos vasos levando-se em conta a atividade do solo, contado em cintilador sólido (1 g). Através da contagem procede-se ao cálculo da atividade específica para encaminhamento dos rejeitos gerados, conforme supracitado. Caso os materiais apresentem valores inferiores ao limite de isenção de rejeitos sólidos, são descartados em lixo comum, caso contrário, são armazenados em ambiente apropriado para esse fim (depósito de rejeitos radioativos do CENA).

*c) Animais*

Após o abate, os animais são pesados e a atividade específica é calculada, tendo por base a contagem corporal dos animais no primeiro dia.

O Programa de gerenciamento de rejeitos radioativos do CENA utiliza como inventário de rejeitos, os formulários seguintes.