

Teste para comprovar a eficiência do método de extração e determinação de ácido fólico em sementes de soja utilizado na Embrapa Soja

MOREIRA, A.A.¹; MANDARINO, J.M.G.²; CARRÃO-PANIZZI, M.C.²; OLIVEIRA, M.A.²; LEITE, R.S.²; OLIVEIRA, G.B.A.³; SANTOS, H.M.C.³; SILVA, C.E.⁴; ¹Universidade Norte do Paraná / UNOPAR, ²Embrapa Soja, ³Universidade Tecnológica Federal do Paraná / UTFPR, ⁴Faculdade de Apucarana / FAP, EMBRAPA SOJA, C Postal, 231, 86001-970, LONDRINA, PARANÁ, e-mail: aleixo@cnpso.embrapa.br.

Introdução

O ácido fólico (mio-inositol hexakisfosfato, IP6), ou seus sais (fitatos), é abundante em cereais e leguminosas, e representa reserva de fosfato para a planta. Na soja e derivados, o teor de ácido fólico varia de 1% a 1,5% do peso seco dos grãos. Com pH entre 0,5 e 9,0, o ácido fólico apresenta-se na sua forma estericamente estável (SHANSUDDIN, 1999).

A molécula de ácido fólico apresenta alta capacidade de ligação com cátions divalentes (Cu > Zn > Co > Mn > Fe > Ca), devido aos seis grupos fosfatos aniônicos. Seus sais possuem baixa solubilidade, o que determina sua pequena absorção no trato gastrintestinal. Assim sendo, o principal efeito antinutricional do ácido fólico é a diminuição da biodisponibilidade de minerais (HARLAND e NARULA, 1999), embora, em animais experimentais tenha sido confirmada uma menor biodisponibilidade de minerais com a presença de ácido fólico na dieta, os resultados em seres humanos indicam pouca ou nenhuma alteração nas quantidades normalmente presentes na dieta (LAJOLO et al., 2004).

Mais importante do que as propriedades antinutricionais do ácido fólico, é sua atividade anticancerígena na redução dos riscos de alguns tipos de câncer (SHANSUDDIN, 2002) e (LAJOLO et al., 2004).

Em diversos estudos com animais experimentais e com cultura de células, sua atividade anticancerígena estaria, ao menos em parte, associada à ação antioxidante, que resulta da quelatação de metais. Há indícios de que a ação antitumoral do IP6 ocorra por meio de suas formas fosforiladas menores (IP1), que participam na divisão celular. Esses estudos realizados in vitro mostraram que o ácido fólico promoveu a reversão ao fenótipo normal de alguns tipos de células malignas, tais como: K-562 da eritroleucemia humana, HT-29 do carcinoma de cólon humano e células de linhagem hematopoiéticas. Essa ação antineoplásica também poderia se dar via células NKC (leucócitos), pois o ácido fólico aumentaria a citotoxicidade das células NKC e, com isso, reduziria a proliferação de células malignas (SHANSUDDIN, 2002 e SHANSUDDIN ET AL., 1997).

Tendo em vista os benefícios desse composto químico, é primordial que análises comprovem os seus teores em sementes de cereais, leguminosas, dentre outras fontes vegetais, para que sua utilização tenha garantias de sua real disponibilidade. Assim sendo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência do método empregado para análise do teor de ácido fólico em sementes de soja, que é utilizado na Embrapa Soja, em Londrina, PR.

Material e Métodos

Foram utilizados grãos da cultivar de soja BRS 257, cultivada em Londrina no ano de 2009, na forma de farinha, na qual foi determinado o teor de ácido fítico, em base seca, conforme metodologia descrita por Latta e Eskin (1980) com modificações de Ellis e Morris (1986), a qual é utilizada na Embrapa Soja. Em seguida retirou-se 20g dessa farinha que foi fracionada em duas partes com 10g cada. Numa dessas porções de farinha foi adicionado 0,2225g de uma solução padrão de ácido fítico (Inositol Hexaphosphoric acid, 45 wt%) concebendo um aumento de 1% da concentração do mesmo na amostra. Na outra porção de 10g foi acrescentado 0,4450g da mesma solução, que representou 2 % de acréscimo de ácido fítico. Após a adição da solução padrão e objetivando a homogeneização e fixação do ácido fítico na farinha de soja foi realizada uma diluição à base de água de 1:3. Em seguida a amostra foi homogeneizada sob agitação constante durante uma hora. Posteriormente, essa solução foi congelada e então liofilizada até a secura total. Na massa seca obtida foi realizado o procedimento de extração e determinação do teor de ácido fítico por meio do método avaliado neste trabalho. O valor obtido foi subtraído do valor já existente da amostra analisada, o qual foi determinado previamente, resultando assim no teor adicionado recuperado, expresso pela fórmula: Teor AF (Adicionado) = Teor AF (Final) - Teor AF (Inicial), na qual AF representa ácido fítico. O resultado dos cálculos da fórmula utilizada indica o percentual de recuperação do método empregado. Esse procedimento foi realizado em três extrações de cada amostra, nas quais foi realizada análise em triplicata para cada extração.

Resultados e Discussão

Na tabela 1 são mostrados os resultados encontrados na determinação do percentual de recuperação do teor de ácido fítico, quando foram adicionados 1% e de 2% de uma solução padrão de ácido fítico na amostra de farinha de soja.

Tabela 1. Percentual Médio de Recuperação do Ácido Fítico (AF).

Extração	Adição Padrão AF (%)	Recuperação (%) *	Eficiência (%)
1 ^a	1	0,90	90,0
2 ^a	1	0,82	82,0
3 ^a	1	0,86	86,0
1 ^a	2	1,76	88,0
2 ^a	2	1,77	88,5
3 ^a	2	1,75	87,5
Média de Eficiência			87,0

* Média de três repetições para cada extração

Esse resultado confirma que o processo de agregação, extração e determinação utilizado foi eficiente.

Conclusão

A metodologia para determinação do teor de ácido fítico que é utilizada como rotina no laboratório de Análises Físico-Químicas e Cromatográficas da Embrapa Soja, apresentou eficiência de recuperação de 87%, demonstrando assim que a mesma pode ser aplicada para a quantificação do ácido fítico em grãos de soja. Entretanto, outros testes são necessários para se comprovar se esta correlação de 0,87 se mantém constante para extrações em outros tipos de material.

Referências

ELLIS, R.; MORRIS, R. Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chromatography. **Cereal Chemistry**, v. 63, p. 58-59, 1986.

HARLAND, B.F.; NARULA, G. Phytate and its hidrolysis products. **Nutrition Research**, Tarrytown; v.19, n.6, p.947-96, 1999.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I.; PRYME, I.F.; DALE, T.M. . Beneficial (antiproliferative) effects of different substances. In: MUZQUIZ, M.; HILL, G.D.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; PEDROSA, M.M. (Ed.). **Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and oilseeds**. Wageningen: Wageningen Academic, 2004. p. 123-35.

LATTA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid method for phytate determination. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 28, p. 313-315, 1980.

SHAMSUDDIN, A.M. Metabolism an cellular functions of IP6: a Review. **Anticancer Research**, Atenas; v.19, n.5, p.3733-3736, 1999.

SHAMSUDDIN, A.M. Anti-cancer function of phytic acid. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford; v.37, p.769-782, 2002.

SHAMSUDDIN, A.M.; VUCENIK, I.; COLE, K.E. IP6: a novel anti-cancer agent. **Life Sciences**, Elmsford; v.61, n.4, p.343-354, 1997.