

DISPONIBILIDADE DE FERRO E ZINCO EM FEIJÃO COMUM PARA ESTRATÉGIA DE BIOFORTIFICAÇÃO

IRON AND ZINC AVAILABILITY IN COMMON BEANS FOR BIOFORTIFICATION STRATEGY

Priscila Zaczuk Bassinello¹; Rayssa Miranda de Araújo²; Rosângela Nunes Carvalho³; Ivã Matsushige⁴; José Luís Viana de Carvalho⁵; Helton Santos Pereira⁶

Introdução: A biofortificação de alimentos é uma ferramenta para melhorar a qualidade nutricional dos alimentos, por meio de melhoramento genético convencional, principalmente em relação a micronutrientes como minerais e vitaminas, os quais incorporados à dieta auxiliam a suprir sua deficiência comumente encontrada em populações mais carentes. A introdução de produtos agrícolas biofortificados já é uma realidade no Brasil e em outros países em desenvolvimento e tem servido para complementar as intervenções em nutrição existentes, proporcionando uma maneira sustentável e de baixo custo para alcançar as populações com limitado acesso aos sistemas formais de mercado e de saúde. A presença de fatores antinutricionais em grãos impede ou dificulta a absorção desses minerais no organismo, devendo-se estudá-los em conjunto para se ter um parâmetro de biodisponibilidade. No Brasil, pode-se considerar que as culturas do feijoeiro e do arroz conferem um impacto significativo na dieta nacional. Considera-se que sua combinação é bastante completa em nutrientes, pois agrega a presença do amido, como fonte de energia, do ferro, de proteínas e outros micronutrientes (Bassinello et al., 2012). Desta maneira, estas culturas podem ser alvo de ações dentro de programas de melhoramento, objetivando-se aumentos significativos nos teores de micronutrientes. Este trabalho teve como objetivo determinar os níveis de fósforo, ferro e zinco em grãos de feijão de diferentes cultivares, nas formas crus e cozidos, para verificar a variabilidade e o efeito do cozimento na retenção mineral. Verificou-se também a presença de ácido fítico, fator antinutricional que tem potencial quelante de minerais, para a determinação indireta da disponibilidade mineral por meio do cálculo da razão molar (fitato:ferro e fitato:zinco).

Material e Métodos: Foram utilizados grãos recém-colhidos de cultivares de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L) provenientes do programa de melhoramento genético do feijoeiro da Embrapa Arroz e Feijão e do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), multiplicados na safra de inverno (2013) na fazenda Capivara da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antonio de Goiás/GO: BRS Cometa (grupo carioca), BRS Agreste (grão especial, tipo mulatinho), BRS Esplendor (grupo preto), BRS Pontal (grupo carioca), BRS Supremo (grupo preto) e Piratã 1 (grupo carioca – IAC). Para o preparo dos grãos cozidos, foi realizada a maceração prévia em água deionizada, na proporção de 1:2 (feijão:água). Após 12 horas de imersão, a água foi desprezada e, adicionada nova água deionizada, na proporção de 1:3 (feijão:água) para o cozimento em panela de pressão elétrica, por 40 minutos. As amostras cozidas foram congeladas, liofilizadas e moídas antes das análises. A análise de ferro e zinco seguiu metodologia adaptada de Kalra (1998) e Sarruge e Haag (1974). Massas de amostras de grãos de feijão em torno de 1,000±0,200 g, previamente pulverizadas (com pelo menos 200 mesh em moinho de bolas de óxido de zircônio e jarros em PTFE), secas e com teores de umidade determinadas, foram solubilizadas por digestão úmida com ácidos nítrico e perclórico concentrados e P.A. adicionados em etapas separadas, respectivamente, com intervalo

¹Pesquisadora, Área de Ciência de Alimentos, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás, Goiás, Brasil. priscila.bassinello@embrapa.br;

²Bolsista de graduação, Laboratório de Grãos e Subprodutos, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás, Goiás, Brasil. rayssaraujo89@gmail.com;

³Analista, Área de Ciência de Alimentos, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás, Goiás, Brasil. rosangela.carvalho@embrapa.br;

⁴Analista, Área de Ciências Agroambientais, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás, Goiás, Brasil. iva.matsushige@embrapa.br;

⁵Pesquisador, Área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. jose.viana@embrapa.br;

⁶Pesquisador, Área de Melhoramento Genético do Feijoeiro, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antonio de Goiás, Goiás, Brasil. helton.pereira@embrapa.br

mínimo de 16 h. O aquecimento em etapas por bloco de digestão microKjeldahl (até 210°C) iniciou-se após esse período até a evolução de fumos brancos. Em seguida as amostras foram avolumadas aproximadamente a 10 mL e determinou-se a densidade de 10 % das amostras usando um micropipetador ajustado a 1,000 mL como picnômetro. Posteriormente foram efetuadas as medições de absorvância de soluções padrão de calibração e amostras em espectrofotômetro de absorção atômica por chama. A massa de amostra utilizada na análise (1,000 g) e o volume final de diluição (10 mL) foi estabelecida através da verificação da faixa linear da curva de Ringbom e as quantidades de ácido nítrico e perclórico foram estabelecidos através de otimização univariada e avaliação dos perfis e superfícies de resposta, sobretudo para os elementos Fe e Zn. A determinação de fósforo baseou-se no método descrito por Nogueira e Souza (2005) sendo utilizada técnica de espectrofotometria de absorção molecular na faixa do visível. Os grãos e vidrarias receberam lavagens prévias específicas para descontaminação de elementos metálicos. A análise de fitatos seguiu metodologia descrita por Haug e Lantzsch (1983), em que a absorvância da solução foi determinada em espectrofotômetro UV/VIS a 519 nm e os valores calculados com base na curva padrão de fitato de sódio. O cálculo da porcentagem de retenção mineral (RR) em feijão cozido baseou-se na seguinte fórmula: $\% RR = (\text{Teor ferro/zinco por grama de matéria-prima processada} \times \text{peso (g) matéria-prima processada}) / (\text{Teor ferro/zinco por grama matéria-prima in natura} \times \text{peso (g) matéria-prima in natura})$. A biodisponibilidade de minerais foi determinada por meio das razões molares entre o ácido fítico e os minerais da amostra, tendo como critério o valor crítico, descrito na literatura para essas razões (SAHA et al., 1994; WHO, 1996). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições de amostras e triplicata de análise. Os dados (base seca) foram analisados estatisticamente, utilizando-se o programa GENES.

Resultados e Discussão: As amostras de feijões foram analisadas quanto aos teores de minerais e ácido fítico em sua forma crua, cozida desprezando-se o caldo, cozida considerando-se o caldo e somente no caldo (dados por tratamento serão apresentados somente no pôster). No caso de fósforo, houve redução no teor em grãos cozidos, considerando-se amostra sem caldo. Porém, não houve diferença significativa entre genótipos. Com exceção do zinco, os demais minerais parecem migrar em quantidade considerável para o caldo durante cozimento do feijão conforme já observado (Figueiredo et al., 2008; Bassinello et al., 2008). A análise de variância apontou efeito significativo do cozimento na quantidade de minerais presentes nas amostras. O teor de ácido fítico não parece ter relação direta com o teor de fósforo do grão cru, apesar de não ter havido diferença significativa na sua concentração entre amostras como para o fósforo. Na tabela 1 estão descritos os dados médios gerais dos genótipos quanto aos minerais (grãos crus e cozidos com caldo). Em geral, observou-se variabilidade quanto aos teores de Zn (32,45 a 43,85 mg/kg), Fe (69,67 a 79,35 mg/kg) e razões molares AF/Zn (0,45 a 2,91 e 21,6 a 29,5) e AF/Fe (0,05 a 1,39 e 9,7 a 11,4) para grãos crus e cozidos, respectivamente. As cultivares com as menores razões molares AF/Zn e AF/Fe mantiveram esse perfil após cozimento para AF/Fe e somente a BRS Supremo para ambas as razões molares, podendo ser indicada como potencial cultivar de feijão biofortificada. Dietas com razão molar AF:Fe >14 comprometem a biodisponibilidade desses minerais em animais e humanos (Ellis et al., 1987; Richard e Thompson, 1997). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 1996), dietas com razão molar AF:Zn acima de 15 apresentam baixa biodisponibilidade de Zn (10% a 15%), entre 5 e 15 apresentam média biodisponibilidade de Zn (30% a 35%) e, abaixo de 5 apresentam alta biodisponibilidade (45% a 55%). A biodisponibilidade, tanto do ferro quanto a do zinco é inversamente proporcional à sua razão molar AF:Elemento. O fitato no organismo apresenta efeitos diversos, podendo ser benéfico ou prejudicial à saúde, dependendo, principalmente, da concentração dos outros nutrientes na dieta do indivíduo. A dieta à base de feijão com arroz, predominante no Brasil, é rica em fitato, inibidor da absorção de zinco e, pobre em zinco (Oliveira et al., 2003). Neste estudo, as razões molares AF/Zn encontradas nas amostras cruas foram inferiores aos respectivos valores críticos mencionados, porém acima desses valores para amostras cozidas (grão+caldo), ou seja, pode-se considerar alta a disponibilidade de zinco para amostras cruas e baixa para as cozidas. Já para AF/Fe, amostras cozidas representaram média

[Digite aqui]

biodisponibilidade do mineral em relação às cruas. O ferro presente nos alimentos de origem vegetal (ferro inorgânico) é menos biodisponível que o ferro hêmico, encontrado nos alimentos de origem animal (Weaver e Plawecki, 1994). No entanto, alguns estudos têm demonstrado resultados contraditórios quanto à influência da forma em que o ferro se apresenta no alimento sobre o estado nutricional em Fe de indivíduos. O teor de fitato isolado não explica a baixa biodisponibilidade de ferro nos feijões, podendo ter outros compostos polifenóis envolvidos na sua complexação. Quanto à retenção mineral (Tabela 2), observam-se diferenças estatísticas entre amostras e destaca-se a boa porcentagem de retenção mineral nos grãos cozidos. Vale ressaltar que a migração do ferro para o caldo, confirmada pelos teores analisados nas partes, reflete a maior retenção de Fe quando não se despreza o caldo no cálculo. Já para o zinco, ocorre o efeito contrário, ou seja, parece que o mineral fica mais retido no grão após cozimento. Variações quanto à retenção de micronutrientes são normalmente encontradas, de acordo com o tipo de cozimento e alimento/matriz em estudo. Esses resultados são corroborados pelos trabalhos de Figueiredo et al. (2008) com feijões cozidos com e sem maceração e por Pereira et al. (2014) com feijões caupi.

Tabela 1. Teores médios gerais de minerais, ácido fítico e razão molar (fitato:mineral) para feijões.

	P (g/Kg)	Fe (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)	AF:Fe (cru)	AF:Fe (cozido)	AF:Zn (cru)	AF:Zn (cozido)
BRS Cometa	4,745a (0,04)	75,890b (4,23)	40,977b (3,27)	1,39a (0,14)	9,93a (0,01)	2,745a (0,32)	23,74cd (0,79)
BRS Agreste	3,898a (0,17)	74,157b (2,40)	32,447d (1,61)	1,105a (0,30)	10,85a (0,17)	2,908a (0,72)	29,483a (1,99)
BRS Pontal	3,783a (0,05)	78,812a (3,40)	35,882c (2,84)	0,782a (0,03)	9,683a (0,09)	1,852a (0,17)	27,193ab (0,57)
BRS Esplendor	4,898a (0,02)	69,670c (1,08)	43,845a (1,69)	0,25a (0,07)	11,413a (0,48)	0,455a (0,11)	21,577d (0,35)
BRS Supremo	4,363a (0,20)	79,345a (1,73)	42,605ab (2,40)	0,0473a (0,04)	10,073a (0,10)	0,101a (0,09)	22,56d (1,07)
Piratã 1	4,242a (0,01)	70,140c (3,20)	36,708c (1,68)	0,416a (0,004)	10,873a (0,36)	0,873a (0,04)	25,93bc (0,43)

Médias \pm desvio-padrão (n = 6) seguidas de letras diferentes na coluna indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05). Resultados em base seca.

Tabela 2. Retenção (%) de ferro e zinco em feijões cozidos.

Feijão	Ret. Fe (sem caldo)	Ret. Fe (com caldo)	Ret. Zn (sem caldo)	Ret. Zn (com caldo)
BRS Cometa	101,933a (2,45)	108,226a (1,96)	88,326a (2,60)	38,665b (1,91)
BRS Agreste	88,300c (1,67)	95,543b (2,54)	79,946c (2,17)	31,312d (2,83)
BRS Pontal	96,310b (3,97)	106,340a (3,23)	79,353c (2,25)	33,876cd (2,09)
BRS Esplendor	96,183b (3,48)	97,870b (2,15)	84,700b (1,69)	42,645a (1,96)
BRS Supremo	90,833c (3,18)	97,0233b (2,54)	86,536ab (1,12)	40,904ab (2,14)
Piratã 1	101,213a (3,26)	106,670a (3,80)	83,973b (1,76)	35,519c (2,94)

Médias \pm desvio-padrão (n = 6) seguidas de letras diferentes na coluna indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p < 0,05). Resultados em base seca.

Conclusões: Dada a presença constante do feijão na dieta nacional, o monitoramento dos teores de fitato, polifenóis e de minerais deve ser estimulado, em busca do adequado balanço entre eles, visando a garantir o fornecimento adequado e disponibilidade de minerais e otimizar os efeitos benéficos do fitato. Estratégias de biofortificação para ferro e zinco em feijão são viáveis em função da variabilidade mineral encontrada. Deve-se sempre orientar o preparo mais adequado do alimento para garantir a absorção mineral e, no caso de feijão, recomenda-se consumo de grão cozido com caldo.

[Digite aqui]

Agradecimentos: Os autores agradecem ao Programa *HarvestPlus* e ao fundo de pesquisa Embrapa-Monsanto (BioFORT) pelo suporte financeiro e ao analista Roberto Carlos G. Santos do Laboratório de Análises Agroambientais da Embrapa Arroz e Feijão pelo apoio técnico nas análises de minerais.

Referências:

- BASSINELLO, P. Z.; SILVA JÚNIOR, L.L.DA; MELO, LEONARDO CUNHA; PELOSO, MARIA JOSÉ DEL. Retenção mineral do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) após cozimento. In: 9 CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2008, Campinas. **Anais de Congresso...** Campinas, SP: Instituto Agrônômico de Campinas, 2008. v. 1. p. 1197-1200.
- BASSINELLO, P.Z, CARVALHO, R.N, ARAÚJO, M.R; ALMEIDA, R.P; COBUCCI, R.M.A. Potencial de aproveitamento de farinhas de quirera de arroz e bandinha de feijão em biscoitos tipo cookie. Embrapa, 2012. (Embrapa. **Comunicado Técnico**, 204. 2012. 8 p.)
- ELLIS R, KELSAY JL, REYNOLDS RD, MORRIS ER, MOSER PB, FRAZIER CW. Phytate: zinc and phytate X calcium: zinc milimolar ratios in self-selected diets of americans, Asian Indians, and Nepalese. **J Am Diet Assoc.** 1987; 87(8):1043-7.
- FIGUEIREDO, R.; CORREA, M. M.; CARVALHO, L. M. J.; SALVADOR, L.; NUTTI, M. R.; CARVALHO, J. L. V.; PELLOSO, M.J. ; WATANABE, E. Assessment of Iron and Zinc Retention in Varieties of Common Beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) after Cooking Process. In: **14th IUFOST**, 2008, Shanghai. 14th IUFOST. Shanghai, 2008. v. 1.
- HAUG, WOLFGANG.; LANTZSCH, H.J. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereal and cereal products. **Journal of Science Food Agriculture**, v.34, p.1423-1426, 1983.
- KALRA, Y. P.; **Handbook of Reference Methods for Plant Analysis**. CRC Press / Taylor & Francis Group. Pgs: 37-60. 1998. ISBN-13: 978-1-57444-124-6. New York - USA.
- NOGUEIRA, A.R.A.; SOUZA, G.B. **Manual de Laboratórios: Solo, Água, Nutrição Vegetal, Nutrição Animal e Alimentos**. São Carlos, Embrapa Pecuária Sudeste, p. 171-173, SP 2005.
- Oliveira AC, Reis SMPM, Carvalho EM, Pimenta FMV, Rios KR, Paiva KC, et al. Adições crescentes de ácido fítico à dieta não interferiram na digestibilidade da caseína e no ganho de peso em ratos. **Rev Nutr.** 2003; 16(2):211-7.
- PEREIRA, E.J.; CARVALHO, L. M. J.; ORTIZ, G.D.; CARDOSO, F. S. N.; CARVALHO, J. L. V.; VIANA, D.S.; FREITAS, S. C.; ROCHA, M.M. Effects of cooking methods on the iron and zinc contents in cowpea (*Vigna unguiculata*) to combat nutritional deficiencies in Brazil. **Food & Nutrition Research**, v. 58: 20694-20700, 2014. - <http://dx.doi.org/10.3402/fnr.v58.20694>
- RICHARD SE, THOMPSON LV. Interactions and biological effects of phytic acid. In: Shahidi F, editor. **Antinutrients and phytochemicals in food**. ACS symposium series, nr 662. Washington (DC): American Chemical Society; 1997. Chapter 17: 294-312.
- SAHA PR, WEAVER CM, MANSON AC. Mineral bioavailability in rats from intrinsically labeled whole wheat flour of various phytate levels. **J Agric Food Chem.** 1994; 42(11):2531-5.
- SARRUGE, JOSÉ RENATO; HAAG, HENRIQUE PAULO; **Análise Química de Plantas**. Depto. de Química, Setor de Nutrição de Plantas - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo. Piracicaba – São Paulo - Brasil. 1974.
- WEAVER CM, PLawecki KL. Dietary calcium: adequacy of a vegetarian diet. **Am J Clin Nutr.** 1994; 59 (Suppl):1238S-41S.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Trace elements in human nutrition and health**. Geneva; 1996.