

Biodisponibilidade de ferro de uma multimistura em uma dieta de arroz e feijão

Bioavailability of iron in a multi-mixture in a rice and bean diet

ABSTRACT

SANT'ANA, L. F. R.; CRUZ, A. C. R. F.; COSTA, N. M. B. Bioavailability of iron in a multi-mixture in a rice and bean diet. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP, v. 31, n. 3, p. 1-14, dez. 2006.

Multi-mixtures have been used as an alternative source of iron in the diet. This study aimed to evaluate iron bioavailability in a multi-mixture containing 33% wheat flour, 33% corn flour, 32% wheat bran, 1% manioc leaves and 1% egg shell. Eight weaning rats per group were fed a diet without addition of iron for 14 days (depletion), followed by the experimental diets (repletion) for 14 additional days. The experimental diets supplied 6, 12, and 24mg Fe/kg diet, containing ferrous sulfate, a multi-mixture or a 50% rice + 48% bean + 2% multi-mixture, as exclusive sources of this mineral. Hemoglobin levels were determined after depletion and repletion by the cyanometahemoglobin method, to verify hemoglobin gain. Iron bioavailability was similar independently of the sources studied (ferrous sulfate, rice + bean + multi-mixture and multi-mixture alone). Hemoglobin gain increased in proportion to the addition of iron to the diet, but no difference was observed among the three diets ($p>0.05$). Weight gain was not influenced by iron content in the animals fed a diet with ferrous sulfate or a diet with the rice + bean + multi-mixture. However, a decrease in this parameter was observed in the diet containing multi-mixture alone, when its proportion in the diet was increased, being different from the standard at 24mg iron/kg level in the diet. Increase in the multi-mixture content led to a lower energetic and nutritional diet density, which may have contributed to a lower animal weight gain.

Keywords: Iron. Bioavailability. Multi-mixture. Rice. Beans.

LUCIANA FERREIRA
DA ROCHA SANT'ANA¹;
ANA CRISTINA
RODRIGUES FERREIRA
DA CRUZ²; NEUZA MARIA
BRUNORO COSTA³

¹DS, Universidade Federal de Viçosa.

²MS em Ciências da Nutrição, Universidade Federal de Viçosa.

³PhD, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CEP 36571-000.

Endereço para correspondência:

Profa. Neuza Maria Brunoro Costa,

Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa,

Campus Universitário, CEP 36571-000,

Viçosa, MG,

Telefone: (31) 38991268.

FAX: (31) 38992541.

e-mail: nmbc@ufv.br

Apoio financeiro:

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico –

Bolsa de Estudo e

FAPEMIG – Bolsa de

Iniciação Científica.

Agradecimentos:

Eliane Lopes Rosado,

Ferlando Lima Santos,

Ivy Scorzi Cazelli Pires,

Lorena Maria Ybarra,

Lucía Ramirez Cárdenas,

Luciana Neri Nobre.

RESUMEN

Multimezclas de alimentos están siendo usadas como fuente alternativa de aporte de hierro a la dieta. El objetivo del trabajo fue evaluar la biodisponibilidad de hierro en una multimezcla de alimentos compuesta de 33% de harina de trigo, 33% de harina de maíz, 32% de fibra de trigo, 1% de hoja de yuca e 1% de cáscara de huevos. Se utilizaron grupos de 8 ratas recién-desmamados que se alimentaron con dieta sin adición de hierro por 14 días (depleción) y en seguida se separaron en grupos experimentales (repleción) por otros 14 días. Las dietas experimentales ofrecieron 6, 12 y 24mg Fe/kg y contenían como única fuente de este mineral el sulfato ferroso, multimezcla o una mezcla de 50% arroz + 48% frijoles rojos + 2% de multimezcla. Se determinaron los niveles de hemoglobina después de las fases de depleción y repleción por el método de la cianometahemoglobina para observar la ganancia de hemoglobina. La biodisponibilidad del hierro fue semejante, independiente de las fuentes estudiadas (sulfato ferroso, arroz + frijoles rojos + multimezcla o multimezcla). Se observó un aumento de la hemoglobina proporcional a la adición de hierro en la dieta, pero sin diferencia en las medias de las tres dietas estudiadas ($p > 0,05$). La ganancia de peso no fue afectada por el nivel de hierro en el grupo de animales que recibieron dieta con sulfato ferroso con la mezcla arroz + frijoles rojos + multimezcla. Sin embargo, en la dieta compuesta de multimezcla se observó una disminución en ese parámetro al aumentar la proporción de hierro, siendo distinta del estándar en el nivel que contenía 24mg de hierro/kg de dieta. El aumento de la cantidad de multimezcla lleva a una disminución de la densidad energética y nutricional de la dieta, lo cual puede haber contribuido para la ganancia de peso menor de los animales.

Palabras clave: Hierro. Biodisponibilidad. Arroz. Frijoles. Multimezcla.

RESUMO

Multimisturas têm sido usadas como fonte alternativa de ferro na alimentação. Objetivou-se avaliar a biodisponibilidade de ferro em uma multimistura contendo 33% de farinha de trigo, 33% de fubá, 32% de farelo de trigo, 1% de folha de mandioca e 1% de casca de ovo. Foram utilizados 8 ratos recém-desmamados por grupo, mantidos em dieta sem adição de ferro por 14 dias (depleção) e a seguir distribuídos em suas dietas experimentais (repleção) por mais 14 dias. As dietas experimentais forneceram 6, 12 e 24mg Fe/kg de dieta e continham como fonte exclusiva deste mineral sulfato ferroso, multimistura ou uma mistura de 50% arroz + 48% feijão + 2% multimistura. Foram determinados os níveis de hemoglobina após as fases de depleção e repleção pelo método da cianometahemoglobina para verificação do ganho de hemoglobina. A biodisponibilidade do ferro foi similar independente das fontes estudadas (sulfato ferroso, arroz+feijão+multimistura, multimistura). Observou-se incremento no ganho de hemoglobina proporcional à adição de ferro na dieta, ressaltando-se que as médias entre as três dietas estudadas não diferiram ($p > 0,05$). O ganho de peso não foi influenciado pelo teor de ferro nos animais que receberam dieta com sulfato ferroso e com a mistura arroz+feijão+multimistura. Na dieta contendo multimistura, entretanto, verificou-se um decréscimo nesse parâmetro ao aumentar sua proporção na dieta, sendo diferente do padrão no nível com 24mg de ferro/kg de dieta. O aumento do teor de multimistura levou a uma menor densidade energética e nutricional da dieta, o que pode ter contribuído para o menor ganho de peso dos animais.

Palavras-chave: Ferro. Biodisponibilidade. Multimistura. Arroz. Feijão.

INTRODUÇÃO

Estima-se que aproximadamente 50% da população sofre de anemia, em países menos desenvolvidos da África e da Ásia, comparados a 25% na América Latina e cerca de 10% nos países industrializados da Europa (SOUZA; BATISTA FILHO, 2003).

A maior causa da anemia nos países em desenvolvimento é decorrente da baixa ingestão e da baixa biodisponibilidade de ferro dietético (CONRAD, 2002; HURRELL, 1997). O ferro não-heme é o ferro inorgânico Fe^{+3} e encontra-se presente em hortaliças, cereais e leguminosas, sendo pobremente absorvido, em torno de 5 a 20% (BENITO; MULER, 1998; BIANCHI; SILVA; OLIVEIRA, 1992; CLAUD; FREITAS, 1994; TORRES; LARYSSE, 1991).

A biodisponibilidade do ferro pode variar consideravelmente em virtude dos efeitos favorecedores ou inibidores de outros componentes da dieta sobre a absorção do ferro, especialmente do ferro não-heme, influenciando as características físicas do composto de ferro em questão (BAYNES; STIPANUK, 2000; BEARD; DAWSON; PIÑERO, 1996; HURRELL, 1984).

Os mais importantes inibidores da absorção de ferro têm sido considerados os fitatos, assim como os compostos fenólicos, incluindo os flavonóides, ácidos fenólicos e taninos. Os compostos fenólicos provavelmente interferem na absorção do ferro pela formação do complexo ferro fenólico no lúmen do trato gastrointestinal, tornando o ferro menos biodisponível para absorção (ANGELIS; CTENAS, 1993; BAYNES; STIPANUK, 2000; BENITO; MÜLER, 1998; HALBERG; HULTEN, 2000; ZIJP; KORVER; TIJBURG, 2000). Reddy, Hurrell e Cook (2000), ao avaliar a absorção do ferro não-heme em 25 refeições, verificaram que somente os tecidos animais, o ácido fítico e o ácido ascórbico influenciaram a estimativa da absorção do mineral.

A população de baixa renda consome maior proporção de alimentos de origem vegetal do que a população de maior poder aquisitivo, por serem alimentos de menor preço, obtendo conseqüentemente ferro de menor biodisponibilidade. Assim, fontes alternativas de ferro, como as multimisturas, têm sido difundidas, embora pouco se saiba sobre sua influência na biodisponibilidade do mineral (BEAUSSET, 1992). Sant'Ana et al. (2000), estudando alguns alimentos que compõem essas multimisturas, verificaram que os farelos de trigo e de arroz, o pó das folhas de mandioca e as sementes de gergelim têm alto conteúdo de fatores antinutricionais como oxalato e fitato, que são complexantes potentes de cátions mono e bivalentes. Verificaram, ainda, que esses alimentos são ricos em fibras alimentares, principalmente as insolúveis, que podem interferir na absorção de nutrientes essenciais no intestino, reduzindo sua biodisponibilidade (BAYNES; STIPANUK, 2000).

No Brasil, a principal fonte protéica da alimentação de famílias de baixo poder aquisitivo é derivada da ingestão de arroz e feijão. O consumo elevado de arroz tem sido relacionado à alta prevalência de deficiência de ferro em algumas regiões. O seu teor de

ferro é cerca de 1,3mg/100g, mas a quantidade absorvida depende de alguns fatores, como o tipo de arroz (conteúdos diversos de fitato), tipo de moagem e de polimento e composição da refeição. No arroz polido, a concentração de fitato varia de 11,5 a 66mg/100g (ANGELIS; CTENAS, 1993), não tendo assim somente baixo teor de ferro, mas também a presença de fatores antinutricionais.

Estudos comprovam a baixa absorção de ferro de feijões-pretos e lentilhas (LYNCH; BEARD; DASSENKO, 1984). Considerando as leguminosas em geral, a biodisponibilidade desse mineral é baixa, devido ao alto conteúdo de fitato (HURRELL, 1997; LYNCH; BEARD; DASSENKO, 1984). O feijão é uma das fontes mais abundantes de ferro, variando entre 5 e 6,5mg/100g; entretanto, sua importância qualitativa é menor, com uma absorção de apenas 10% (ANGELIS; CTENAS, 1993; SCHLEMMER; MÜLLER; JANY, 1995), pequena quando comparada com fontes de origem animal.

Devido à ampla utilização de multimisturas pela população brasileira, cuja base da alimentação é constituída de arroz e feijão, objetivou-se, neste estudo, avaliar a biodisponibilidade do ferro, em ratos alimentados com dietas contendo uma multimistura isoladamente e no contexto de uma mistura de arroz e feijão.

MATERIAL E MÉTODOS

PREPARO E ANÁLISE DOS INGREDIENTES

Multimistura

A multimistura em estudo era composta de 33% de farinha de trigo, 33% de fubá de milho, 32% de farelo de trigo, 1% de pó de folha de mandioca e 1% de pó de casca de ovo. Em estudo prévio, Sant'Ana et al. (2000), ao pesquisar a relação molar de fatores antinutricionais e de micronutrientes em 2 multimisturas diferentes, avaliaram que esta receita, difundida em Belo Horizonte – MG, se apresentou com menos fatores prejudiciais da biodisponibilidade.

A farinha de trigo e o fubá de milho, adquiridos no comércio local, foram acrescentados crus à mistura. O farelo de trigo, também adquirido no comércio local, foi torrado previamente à sua incorporação à multimistura. As folhas de mandioca foram adquiridas já desidratadas e foram processadas em multiprocessador doméstico, para obtenção do pó. As cascas de ovo de galinha foram obtidas em uma panificadora local e processadas de acordo com o manual da alimentação alternativa (BRANDÃO; BRANDÃO, 1996). Assim, as cascas foram lavadas em água corrente e fervidas por 20 minutos. O processo de secagem ao sol foi substituído pelo uso de estufa com ar circulante a 60°C/6horas. As cascas foram, posteriormente, processadas em liquidificador para obtenção do pó. Depois de preparados os ingredientes, estes foram misturados nas proporções supracitadas para, então, constituírem a multimistura avaliada nesta pesquisa.

Arroz e feijão

O arroz polido e o feijão-vermelho foram adquiridos no comércio local. O arroz foi cozido em água por 30 minutos e o feijão, sob pressão, por 40 minutos (sem remolho). Após o cozimento, esses ingredientes foram secados em estufa com ar circulante por 60°C/12 horas e moídos.

Determinação do teor de ferro

A concentração de ferro foi determinada utilizando-se uma mistura digestora nitroperclórica na proporção de 3:1. A digestão procedeu-se a quente, em bloco digestor com controle de temperatura, entre 100 e 150°C, por aproximadamente 6 horas até a obtenção de uma solução límpida. Nas soluções minerais foram, então, analisados os teores de ferro por espectrometria de absorção atômica, em aparelho modelo GBC 908 AA. As vidrarias e utensílios utilizados tanto na determinação do teor de minerais quanto nos ensaios biológicos foram desmineralizados, utilizando-se uma solução de HCl 20%, na qual permaneceram por 24 horas, sendo, posteriormente, enxaguados com água deionizada.

BIODISPONIBILIDADE DE FERRO

Modelo experimental

Foram utilizados ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade albinus, classe Rodentia), da linhagem Wistar, recém-desmamados, com peso inicial entre 60 e 75g.

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em condições de temperatura e luminosidade controladas, a 25±2°C e fotoperíodo de 12 horas. Durante o experimento, eles receberam água deionizada *ad libitum*, e a ingestão de dieta foi controlada, variando entre 15 e 20g por dia. O ganho de peso dos animais foi registrado semanalmente e o consumo alimentar, diariamente.

O experimento constituiu-se de duas fases: depleção e repleção de hemoglobina, segundo metodologia da Association of Official Analytical Chemists (1984), com modificações. Na fase de depleção, os ratos receberam, durante 14 dias, dieta-controle adaptada da AIN-93G (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), deficiente em ferro, com o objetivo de induzir anemia ferropriva (Tabela 1). No primeiro dia dessa fase foi medido o nível basal de hemoglobina de oito animais. Após o período de depleção, coletou-se o sangue, por meio de secção da porção terminal da cauda de todos os animais, determinando o nível de hemoglobina. Foram considerados anêmicos os animais que apresentaram nível de hemoglobina inferior a 8g/dL de sangue, conforme preconizado na metodologia da Association of Official Analytical Chemists (1984).

Oitenta animais anêmicos foram distribuídos entre dez grupos experimentais de acordo com o peso e a concentração de hemoglobina, de maneira que as médias dos grupos nesses parâmetros fossem as mais próximas possíveis. Nessa fase, os animais foram mantidos em dietas com diferentes níveis de concentração de ferro (0, 6, 12 e 24mg de ferro/kg de dieta) e

diferentes fontes do mineral (sulfato ferroso, multimistura isoladamente ou arroz + feijão + multimistura) (Tabela 1). Um grupo foi mantido com a dieta de depleção, deficiente em ferro. Para o cálculo dos ingredientes das dietas, foram considerados os teores de ferro (analisados segundo a metodologia supracitada) da multimistura (5,27mg de Fe/100g), bem como do arroz (0,87mg de Fe/100g) e do feijão (6,91mg de Fe/100g) após cozidos e secados.

A fase de repleção teve duração de 14 dias, sendo ao final desse período realizadas novas dosagens de hemoglobina para verificar a variação da concentração da hemoglobina obtida pelos animais experimentais.

Composição e preparo das dietas experimentais

A dieta-padrão teve como fonte de ferro o sal sulfato ferroso hepta-hidratado (marca VETEC), e os grupos-teste consumiram multimistura isoladamente ou adicionada a uma dieta de arroz e feijão, como fonte de ferro dietético. A mistura contendo arroz, feijão e multimistura (arroz+feijão+multimistura) foi composta por 50% de arroz, 48% de feijão e 2% de multimistura. O teor de multimistura foi definido com base na quantidade habitualmente consumida pela população, que corresponde a cerca de 20g diários (baseado na sugestão de consumo de 2 colheres de sopa/dia) (Tabela 1).

Os ingredientes das dietas foram misturados em batedeira semi-industrial (marca LIEME), com baixa rotação, por 20 minutos. As dietas prontas foram acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas em refrigerador comercial.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE HEMOGLOBINA

As concentrações de hemoglobina sanguínea foram determinadas pelo método da cianometahemoglobina. Nesse método, 20µL de sangue foram coletados com micropipetas após a secção na extremidade da cauda dos animais e gotejamento em vidro de relógio. O sangue foi, então, misturado a 5,0mL de uma solução de cianeto e ferrocianeto de potássio (solução de Drabkin), a qual oxida o ferro da hemoglobina, transformando-a em metahemoglobina e, posteriormente, em cianometahemoglobina de coloração avermelhada, cuja absorbância foi medida em espectrofotômetro a 540nm (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984).

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A biodisponibilidade de ferro foi avaliada pela mensuração do ganho de hemoglobina, do primeiro ao décimo quarto dia da fase de repleção. Foram analisados 10 tratamentos, utilizando-se um esquema fatorial 3x3 (níveis versus fontes de ferro) e um controle (testemunha) no delineamento em blocos casualizados (DBC), com 8 repetições (animais). Os dados referentes a ganho de peso e ganho de hemoglobina, durante a fase de repleção, foram interpretados pela decomposição da interação entre a fonte de ferro e o ganho de

peso ou a variação da hemoglobina. Utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação de médias entre as dietas num mesmo nível de ferro, bem como a análise de regressão a 5% de probabilidade da mesma dieta em seus diferentes níveis. Procedeu-se a um teste de Dunnet, comparando os resultados do ganho de hemoglobina da testemunha com os dos demais tratamentos (VIEIRA; HOFFMANN, 1989). Para essas análises foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 5.0, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (SISTEMA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS, 1993).

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de ferro (g/100g)

| Ingredientes | Depleção e Grupo Controle | P1 | P2 | P3 | A1 | A2 | A3 | B1 | B2 | B3 |
|-----------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Caseína | 20,0 | 20,0 | 20,0 | 20,0 | 18,63 | 17,26 | 14,52 | 17,9 | 15,88 | 13,81 |
| Amido dextrinizado | 13,2 | 13,2 | 13,2 | 13,2 | 13,2 | 13,2 | 13,2 | 13,2 | 13,2 | 8,24 |
| Sacarose | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 5,04 |
| Óleo de soja | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 5,73 | 4,46 | 1,92 | 6,86 | 6,71 | 6,57 |
| Fibra | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 2,92 | 0,83 | – | 3,65 | 2,31 | 0,97 |
| Minerais* | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| Vitaminas | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| L-cistina | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Bitartarato de colina | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| Amido de milho | 39,75 | 39,75 | 39,75 | 39,75 | 33,09 | 26,43 | 9,77 | 28,22 | 16,68 | – |
| FeSO ₄ | – | 0,003 | 0,006 | 0,012 | – | – | – | – | – | – |
| Multimistura | – | – | – | – | 11,39 | 22,77 | 45,54 | 0,30 | 0,60 | 1,21 |
| Arroz | – | – | – | – | – | – | – | 7,24 | 14,47 | 28,95 |
| Feijão | – | – | – | – | – | – | – | 7,54 | 15,08 | 30,16 |

* Adaptada de Reeves et al. (1993); isenta de ferro.

P1 = dieta sulfato ferroso, contendo 6mg/kg de Fe.

P2 = dieta sulfato ferroso, contendo 12mg/kg de Fe.

P3 = dieta sulfato ferroso, contendo 24mg/kg de Fe.

A1 = dieta contendo multimistura, com 6mg/kg de Fe.

A2 = dieta contendo multimistura, com 12mg/kg de Fe.

A3 = dieta contendo multimistura, com 24mg/kg de Fe.

B1 = dieta contendo multimistura, arroz e feijão com 6mg/kg de Fe.

B2 = dieta contendo multimistura, arroz e feijão com 12mg/kg de Fe.

B3 = dieta contendo multimistura, arroz e feijão com 24mg/kg de Fe.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ENSAIO DE BIODISPONIBILIDADE DE FERRO

O consumo de dieta pelos animais durante o experimento foi controlado, em que todos receberam entre 15 e 18g diários. Pode-se observar que as dietas experimentais

diferiram entre si quanto à quantidade e tipo de ingredientes utilizados, visando ao fornecimento dos teores e fontes de ferro pré-determinados (Tabela 1). As dietas experimentais contendo sulfato ferroso (P1, P2 e P3) tiveram como fonte exclusiva de proteínas a caseína, considerada proteína de elevado valor biológico, padrão para avaliação de qualidade protéica (DUTRA DE OLIVEIRA; MARCHINI, 2001) (Tabela 1). Já nas dietas experimentais, foi necessário substituir ingredientes fonte de proteína (caseína), carboidratos (amido de milho e dextrinizado) e lipídios (óleo de soja) para que a quantidade de ferro determinada para o estudo viesse exclusivamente do alimento teste. Essa substituição alterou tanto o valor biológico quanto calórico das dietas experimentais oferecidas.

Observou-se que o ganho de peso dos animais não diferiu estatisticamente entre os grupos quando foram utilizados 6 e 12mg de ferro/kg de dieta; no entanto, com 24mg de ferro, a dieta contendo multimistura apresentou média de ganho de peso estatisticamente inferior às demais ($p < 0,05$) (Tabela 2). O grupo-controle sem adição de ferro (testemunha) apresentou média de ganho de peso inferior à dos animais dos demais grupos (56,25g, $p < 0,05$).

Tabela 2 - Média dos ganhos de peso dos ratos alimentados com três dietas contendo sulfato ferroso (padrão), multimistura ou arroz + feijão adicionada de multimistura com 6, 12 e 24mg de ferro/kg de dieta

| Dietas | Ganho de Peso (g) | | |
|---------------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|
| | Nível de Ferro (mg/kg de dieta) | | |
| | 6 | 12 | 24 |
| Sulfato ferroso | 61,00 ^a | 64,75 ^a | 68,62 ^a |
| Multimistura | 67,00 ^a | 60,75 ^a | 56,25 ^b |
| Arroz+feijão+multimistura | 64,75 ^a | 70,12 ^a | 71,75 ^a |

^{a,b} – Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A figura 1 ilustra o incremento no ganho de peso nos animais de cada dieta estudada. Observou-se que, nas dietas com sulfato ferroso (padrão) e com a mistura arroz + feijão + multimistura, o ganho de peso não foi influenciado pelo nível de ferro, uma vez que o incremento das retas não foi significativo ($p > 0,05$). Já na dieta de multimistura verificou-se que, à medida que aumentava o teor de ferro e, conseqüentemente, a quantidade de multimistura, havia menor ganho de peso.

A multimistura utilizada é uma fonte rica de fibras alimentares apresentando 18,31g/100g, dos quais 17,51g são fibras insolúveis (SANT'ANA et al., 2000). As fibras insolúveis aumentam o bolo fecal, estimulando o peristaltismo e a frequência das defecações (FEDERMAN, 1989), podendo levar a uma menor absorção de nutrientes;

além de contribuir para uma redução na densidade calórica da dieta que a continha. No nível de 24mg de ferro, foram acrescentados 45,54g de multimistura para cada 100g de dieta. Este acréscimo alterou, de forma importante, a constituição da dieta experimental reduzindo o fornecimento de caseína, amido dextrinizado, óleo de soja e amido de milho; ingredientes fontes de proteína e calorias, o que pode ter afetado o crescimento animal. Esse fato pode ter contribuído para o menor ganho de peso dos animais que receberam essa dieta, uma vez que o valor calórico era menor e a quantidade de proteína da caseína, de alto valor biológico, também estava reduzida. As demais dietas experimentais contendo multimistura e, ou, arroz+feijão+multimistura também apresentaram diferenças quando comparadas com as dietas-padrão. Entretanto, essas diferenças na composição e na densidade calórica da dieta não resultaram em uma alteração significativa no ganho de peso dos animais ($p>0,05$).

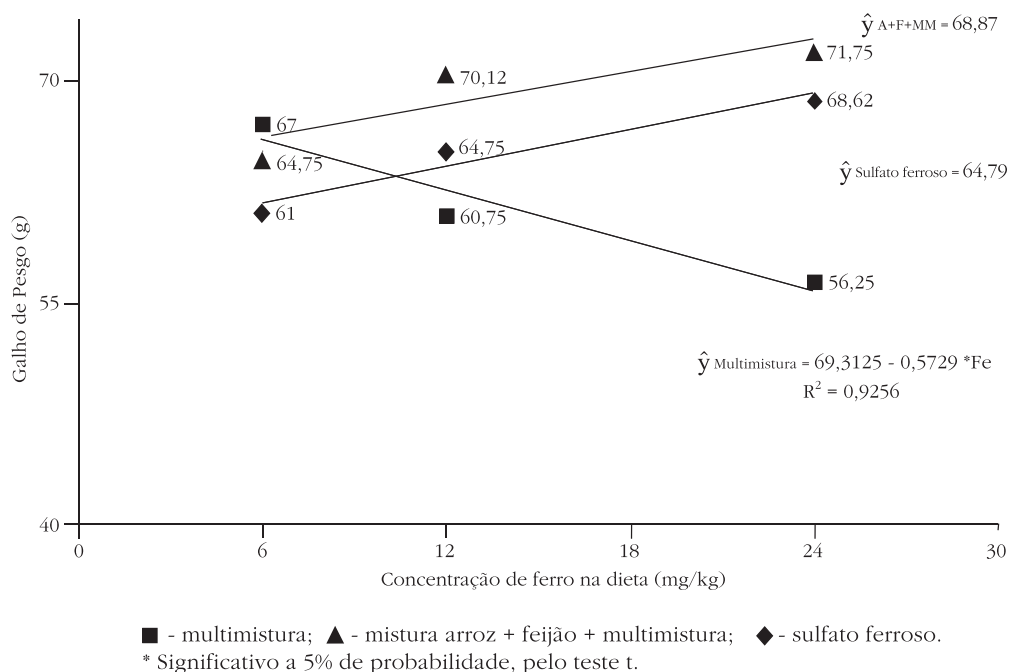


Figura 1 - Estimativas dos ganhos de peso (g) dos animais em relação ao nível de ferro na dieta (mg/kg)

A multimistura em estudo apresenta, ainda, altos conteúdos de oxalato e fitato (SANT'ANA et al., 2000), que são inibidores da absorção de cátions bivalentes, como ferro, cálcio e zinco (SCHLEMMER; MÜLLER; JANY, 1995). Pallarés et al. (1996), estudando o efeito da deficiência de ferro no metabolismo de micronutrientes, relataram que a deficiência de ferro reduziu a eficiência alimentar da dieta, pois os animais do grupo deficiente em

ferro tiveram menor ganho ponderal, uma vez que o consumo entre os animais deficientes e os animais-controle foi o mesmo. Assim, o menor ganho de peso ($p < 0,05$) observado nos animais da dieta de multimistura com 24mg de Fe/100g pode também ter sido reflexo, em parte, de uma reduzida biodisponibilidade do ferro fornecido, uma vez que o consumo foi controlado durante o experimento.

Estabelecendo uma comparação entre os valores médios do ganho de hemoglobina dos animais durante a fase de repleção nas dietas com mesmo teor de ferro, verificou-se que não houve diferença ($p > 0,05$) entre as dietas estudadas, sendo o ganho de hemoglobina igual nas três dietas com mesmo nível de ferro. Com relação ao grupo-controle (testemunha, com média de variação de hemoglobina de $-0,6025\text{g/dL}$), observou-se que a variação de hemoglobina dos animais dos demais tratamentos foi superior (teste de Dunnet, $p < 0,05$), uma vez que a dieta consumida por esses animais não apresentou acréscimo de ferro (Tabela 3).

Tabela 3 - Média dos ganhos de hemoglobina dos ratos alimentados com dietas contendo sulfato ferroso (padrão), multimistura ou arroz + feijão adicionada de multimistura com 6, 12 e 24mg de ferro/kg de dieta

| Dietas | Ganho de Hemoglobina (g/dL) | | |
|---------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------|
| | Nível de Ferro (mg/kg de dieta) | | |
| | 6 | 12 | 24 |
| Sulfato ferroso | 1,8175 ^a | 3,4462 ^a | 4,3362 ^a |
| Multimistura | 1,6938 ^a | 2,8438 ^a | 3,3313 ^a |
| Arroz+feijão+multimistura | 2,1862 ^a | 2,5250 ^a | 4,4525 ^a |

^a – Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Na figura 2, observa-se o incremento no ganho de hemoglobina pelos animais da mesma dieta com níveis diferentes de ferro. Verificou-se que houve incremento no ganho de hemoglobina com o aumento no teor de ferro das três dietas estudadas, uma vez que a inclinação das retas foi significativa pelo teste t ($p < 0,05$). Entretanto, não houve diferença estatística ($p > 0,05$) no ganho de hemoglobina entre as três dietas experimentais.

Oliveira (1997), ao estudar a biodisponibilidade de ferro em uma mistura de arroz e feijão (na proporção de 30% de arroz: 70% de feijão, constituindo 30% da base protéica da dieta), observou que essa mistura fornece ferro de baixa biodisponibilidade. Observou, ainda, que, mesmo ingerindo 100% das recomendações de ferro, a mistura arroz + feijão diminuía significativamente a absorção de ferro.

Alguns pontos importantes devem ser levantados quando se utilizam modelos animais, em que se pode superestimar a biodisponibilidade em relação a humanos.

No caso específico da absorção de ferro, deve-se levar em consideração que o rato apresenta algumas peculiaridades, como produção de vitamina C, a qual interfere positivamente na biodisponibilidade do ferro, além de possuir fitase, enzima capaz de desfazer quelatos do tipo fitato-minerais, aumentando a biodisponibilidade do mineral para absorção intestinal (POINTILLART; GUÉGUEN, 1992; ZHOU; ERDMAN-JR., 1995). Assim, os resultados de biodisponibilidade de minerais podem sofrer interferências pela presença desses fatores. No estudo em questão, as dietas compostas de multimistura isoladamente ou arroz+feijão+multimistura tinham presentes em sua composição fatores antinutricionais, como fitato, oxalato e as próprias fibras alimentares, que podem causar redução na absorção de ferro dietético. Entretanto, não foram observados resultados que refletissem tal fato, o que pode estar associado aos fatores promotores intrínsecos ao próprio modelo animal (vitamina C e fitase), bem como a concentração de inibidores, que poderia ser insuficiente para causar maior deficiência.

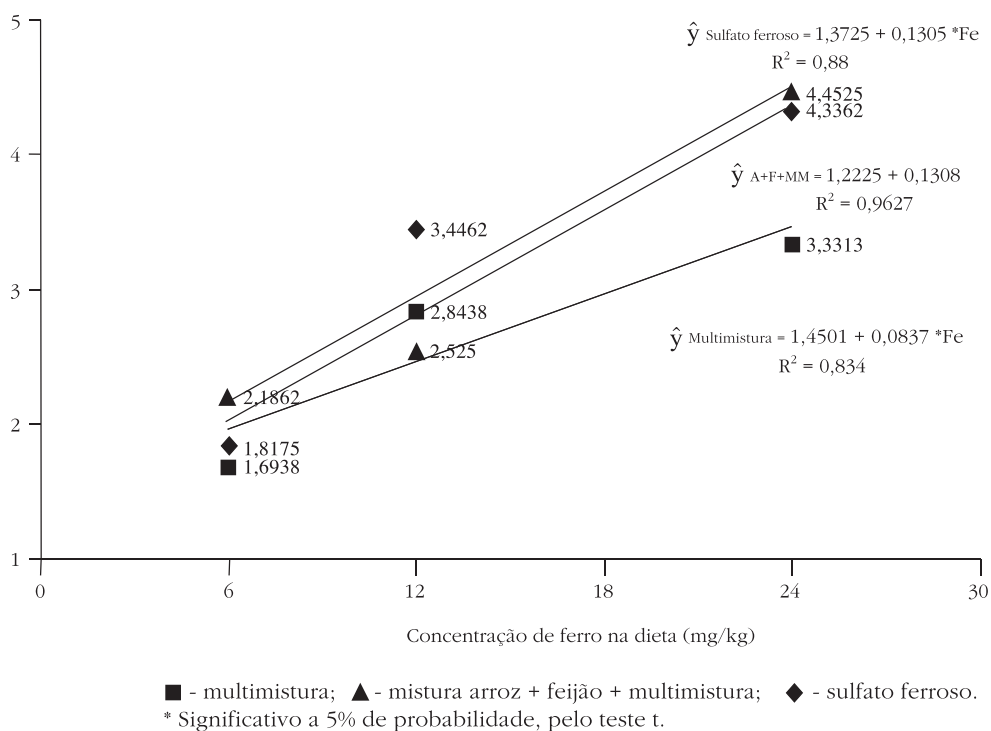


Figura 2 - Estimativas dos ganhos de hemoglobina (g/dL) em relação ao nível de ferro na dieta

Apesar da reconhecida importância do modelo animal utilizado nos estudos sobre biodisponibilidade de ferro, Baynes e Stipanuk (2000) comentaram que o rato é insuficiente como preditor da absorção de ferro em humanos, o que limita as conclusões do presente

estudo. Segundo Reddy e Cook (1991), outro aspecto que diferencia o processo de absorção de ferro em ratos e humanos é que os primeiros, ao contrário dos humanos, absorvem íons férrico e ferroso de maneira similar. Gómez-Ayala et al. (1997) encontraram evidências de que existem dois mecanismos distintos de absorção de ferro não-heme em ratos: um que absorve sais de ferro inorgânico e outro que absorve complexos de ferro não-heme. Um processo passivo, provavelmente envolvendo uma difusão simples, é responsável pela absorção de ferro ionizado. O ativo, mecanismo mediado por receptor, representa 21% do total de ferro absorvido. Esse processo implica utilização da transferrina e, mais recentemente, sugeriu-se uma cascata de eventos, levando em conta proteínas como a mucina, a integrina, a mobilferrina, a ferritina e a própria transferrina. Portanto, é provável que no modelo animal estudado a biodisponibilidade de ferro, nas dietas de multimistura e arroz+feijão+multimistura, tenha sido superestimada.

CONCLUSÕES

A biodisponibilidade do ferro, estudada pelo método de depleção e repleção em ratos, foi similar nas três fontes estudadas (sulfato ferroso, arroz+feijão+multimistura, multimistura). Observou-se incremento no ganho de hemoglobina proporcional à adição de ferro na dieta, ressaltando-se que as médias entre as três dietas estudadas não diferiram ($p>0,05$). O ganho de peso não foi influenciado pelo teor de ferro nos animais que receberam dieta com sulfato ferroso e com a mistura arroz+feijão+multimistura. Na dieta contendo multimistura, entretanto, verificou-se um decréscimo nesse parâmetro ao aumentar sua proporção na dieta, sendo diferente do padrão no nível com 24mg de ferro/kg de dieta. A menor densidade energética e de nutrientes da dieta de multimistura pode ter contribuído para o menor ganho de peso dos animais.

A presença de fatores antinutricionais na multimistura e no feijão, principalmente, pode afetar a absorção e utilização de ferro em humanos de forma distinta da observada no presente estudo. Ademais, a dieta de multimistura, quando consumida em maior proporção, proporcionou menor ganho de peso nos animais, o que pode ter sérias implicações negativas quando consumida por crianças desnutridas em fase de crescimento.

Assim, as dietas contendo multimistura, isoladamente ou num contexto de uma mistura de arroz e feijão, forneceram ferro de biodisponibilidade semelhante à observada no sulfato ferroso. As três são fontes de ferro não-hemínico, estando sujeitas a interações dietéticas com fatores promotores ou inibidores de sua absorção. É, portanto, necessário cautela na utilização das mesmas como fontes alimentares para recuperação de anemia. O sulfato ferroso, por si, é dado usualmente como medicamento, em doses muito acima das necessidades diárias do paciente em questão e por um período suficiente para promover a recuperação dos níveis de hemoglobina. Já a multimistura seria utilizada como suplemento em doses diárias pequenas (2 colheres de sopa/dia), o que, por sua composição, forneceria cerca de 5% das recomendações de ferro para crianças em idade pré-escolar. Ainda, a mistura arroz e feijão, base alimentar da dieta, tem um ferro de biodisponibilidade também

dependente de fatores dietéticos, o que implica maiores cuidados quando se fazem associações com outras fontes alimentares que possam fornecer inibidores como os oxalatos e fitatos fornecidos pela multimistura em estudo.

REFERÊNCIAS/REFERENCES

- ANGELIS, R. C.; CTENAS, M. L. B. *Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil*. São Paulo: Serviço de Informação Científica Nestlé, 1993. 53 p. (Temas de Pediatria, 52).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14. ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141 p.
- BAYNES, D.; STIPANUK, M. H. Iron. In: STIPANUK, M. H. *Biochemical and physiological aspects of human nutrition*. Philadelphia: Saunders, 2000. p. 711-740.
- BEARD, J. L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D. J. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr. Rev.*, v. 54, n. 10, p. 295-317, 1996.
- BEAUSSET, I. *Estudios de las bases científicas para el uso de alimentos alternativos en la nutrición humana*. [S.l.]: INAM/UNICEF, 1992. 56 p. Apostila.
- BENITO, P.; MÜLER, D. Iron absorption and bioavailability an updated review. *Nutr. Res.*, v. 18, n. 1, p. 581-603, 1998.
- BIANCHI, M. L. P.; SILVA, H. C.; OLIVEIRA, J. E. D. Considerações sobre a biodisponibilidade de ferro dos alimentos. *Arch. Latinoam. Nutr.*, v. 42, n. 2, p. 94-100, 1992.
- BRANDÃO, C. T.; BRANDÃO, R. F. *Alimentação alternativa*. Brasília: Centro de Pastoral Popular, 1996. 69 p.
- CLAUD, M. V.; FREITAS, O. Compostos alternativos para o tratamento e/ou prevenção da anemia ferropriva. *Cad. Nutr.*, v. 8, p. 1-9, 1994.
- CONRAD, M. E. Anemia. *eMedical J.*, v. 3, n. 2, 2002. Disponível em: <www.emedicine.com>. Acesso em: 15 fev. 2002.
- DUTRA DE OLIVEIRA, J. E.; MARCHINI, J. S. *Ciências nutricionais*. São Paulo: Sarvier, 2001.
- FEDERMAN, S. Prevenção das principais causas de morbidade e mortalidade. *Rev. Bras. Clin. Ter.*, v. 18, n. 7, p. 273-288, 1989.
- GÓMEZ-AYALA, A. E.; CAMPOS, M. S.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; PALLARÉS, I.; HARTITI, S.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M. J. M.; RODRÍGUEZ-MATAS, M. C.; LISBONA, F. Effect of source of iron duodenal absorption of iron, calcium, phosphorus, magnesium, copper and zinc in rats with ferropenic anaemia. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, v. 67, n. 2, p. 106-114, 1997.
- HALBERG, L.; HULTHEN, L. Prediction of dietary iron absorption: na algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71, n. 5, p. 1147-1160, 2000.
- HURRELL, R. F. Biodisponibilidad de las diferentes sales de hierro empleadas para enriquecer las fórmulas infantiles y los cereales: problemas tecnológicos. In: EL HIERRO en la alimentación del lactente y del niño. [S.l.]: Nestlé Nutrition, 1984. p. 44-48.
- HURRELL, R. F. Preventing iron deficiency through food fortification. *Nutr. Rev.*, v. 55, n. 6, p. 210-222, 1997.
- LYNCH, S. R.; BEARD, J. L.; DASSENKO, S. A.; COOK, J. D. Iron absorption from legumes in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 40, n. 1, p. 42-47, 1984.

OLIVEIRA, L. F. A. *Efeito da ingestão da mistura de arroz e feijão na biodisponibilidade de ferro e cálcio*. 1997. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1997.

PALLARÉS, I.; LÓPES-ALIAGA, I.; LISBONA, F.; MORATALLA, A.; GÓMEZ-AYALA, A. E.; BARRIONUEVO, M.; HARTITI, S.; ALFÉREZ, M. M. J.; CAMPOS, M. S. Effects of iron replenishment on iron, calcium, phosphorus and magnesium metabolism in iron-deficient rats. *Intern. J. Vit. Nutr. Res.*, v. 66, n. 2, p. 158-165, 1996.

POINTILLART, A.; GUÉGUEN, L. Influence des fibres alimentaires sur la biodisponibilité des minéraux. *Les Cahiers de l'ENS.BANA*, n. 8, p. 157-182, 1992.

REDDY, M. B.; COOK, J. D. Assessment of dietary determinants of nonheme – iron absorption in humans and rats. *Am. Agric. Food Chem.*, v. 40, n. 1, p. 32-42, 1991.

REDDY, M. D.; HURRELL, R. F.; COOK, J. D. Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71, n. 4, p. 937-943, 2000.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR., G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diet. *J. Nutr.*, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, 1993.

SANT'ANA, L. F. R.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, M. G. A.; GOMES, M. R. A. Valor nutritivo e fatores antinutricionais de multimisturas utilizadas como alternativa alimentar. *Br. J. Food Technol.*, v. 3, p. 129-135, 2000.

SCHLEMMER, U.; MÜLLER, H.; JANY, K. D. The degradation of phytic acid in legumes prepared by different methods. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v. 49, n. 3S, p. S207-S210, 1995.

SISTEMA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS E GENÉTICAS. *SAEG: versão 5.0*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1993. *Software* desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes.

SOUZA, A. I.; BATISTA FILHO, M. Diagnóstico e tratamento das anemias carenciais na gestação: consensos e controvérsias. *Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.*, v. 3, n. 4, p. 473-479, out./dez., 2003.

TORRES, C. M.; LAYRISSE, M. Anemias nutricionais. In: MARCONDES, E.; CARRAZZA, F. R. *Nutrição clínica em pediatria*. São Paulo: Sarvier, 1991, p. 223-237.

VIEIRA, S.; HOFFMANN, R. *Estatística experimental*. São Paulo: Atlas, 1989. 127 p.

ZHOU, J. R.; ERDMAN-JR., J. W. Phytic acid in health and disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 35, n. 6, p. 495-508, 1995.

ZIJP, I. M.; KORVER, O.; TIJBURG, L. B. M. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 40, n. 5, p. 371-398, 2000.

Recebido para publicação em 12/05/05.

Aprovado em 03/08/06.