

# Métodos de determinação da biodisponibilidade do ferro: ênfase na utilização de radionuclídeo <sup>59</sup>Fe

## *Methods for determining the bioavailability of iron: emphasis on the use of <sup>59</sup>Fe radionuclide*

### ABSTRACT

BRIGIDE, P.; ATAÍDE, T. R.; BAPTISTA, A. S.; ABDALLA, A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SILVA, T. S.; CASTILHO, L. A.; PEÇANHA, M. R. S. R.; SANT'ANA, A. E. G. Methods for determining the bioavailability of iron: emphasis on the use of <sup>59</sup>Fe radionuclide. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP, v. 36, n. 3, p. 93-107, dez. 2011.

*Iron deficiency can be caused by imbalance between the available amount of the mineral and the body requirement. Thus, the study of iron bioavailability has been of growing interest from the nutritional point of view, due to its recognized role in the physiological and biochemical regulation, besides the contribution to the establishment of recommendations for intake of this element depending on the individuals' requirements and disease prevention. In the assessment of bioavailability, one should use methodologies depicting the chemical forms, allowing for a thorough analysis of the results and repeating the physiological conditions as much as possible. Therefore, radioisotopes are ideal tracers due to the specificity of their identification and quantification. This procedure is usually characterized by good precision, due to the greater analytical sensitivity and the ability for detection "in vivo". This work aims to elucidate the use of radioisotopes in various methodologies for studies of iron bioavailability in animals.*

**Keywords: Biological Availability.  
Iron. Radioisotopes.**

PRISCILA BRIGIDE<sup>3\*</sup>;  
TEREZINHA DA ROCHA  
ATAÍDE<sup>2</sup>; ANTÔNIO  
SAMPAIO BAPTISTA<sup>3</sup>;  
ADIBE LUIZ ABDALLA<sup>4</sup>;  
SOLANGE GUIDOLIN  
CANNIATTI-BRAZACA<sup>3</sup>;  
TANIMARA SOARES DA  
SILVA<sup>4</sup>; LÉCIO APARECIDO  
CASTILHO<sup>4</sup>; MARIA  
REGINA SANTOS RODEIO  
PEÇANHA<sup>4</sup>; ANTÔNIO  
EUZÉBIO GOULART  
SANT'ANA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas.

<sup>2</sup>Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas.

<sup>3</sup>Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo.

<sup>4</sup>Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA/USP, Piracicaba/SP.

**Endereço para correspondência:**

Priscila Brigide  
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"  
Avenida Pádua Dias, 11 -  
Piracicaba/SP  
CEP 13418-900  
E-mail:  
pbrigide@yahoo.com.br

\*Parte integrante da tese de doutorado defendida no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, UFAL, intitulada: Biodisponibilidade de ferro em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) usando o <sup>59</sup>Fe marcado intrinsecamente.

## RESUMEN

*La anemia por deficiencia de hierro puede ser causada por desequilibrio en la cantidad biodisponible y su necesidad orgánica. Debido a eso, la biodisponibilidad de hierro ha sido objeto de creciente interés desde el punto de vista nutricional por el reconocido papel en la regulación fisiológica y bioquímica, además de contribuir a la fijación de la ingestión recomendada de este elemento en función de las necesidades de los individuos y para prevenir enfermedades. En la evaluación de la biodisponibilidad deberán ser utilizadas metodologías que procuren dilucidar las formas químicas, que permitan un análisis cuidadoso de los resultados y que reproduzcan lo más fielmente posible las condiciones fisiológicas. Por eso, los radioisótopos trazadores son ideales, por la especificidad con que son identificados y cuantificados. Este trabajo tuvo por objetivo dilucidar la utilización de radioisótopos en diversas metodologías para estudios de biodisponibilidad de hierro en animales.*

**Palabras clave: Biodisponibilidad biológica. Hierro. Radioisótopos.**

## RESUMO

*A anemia ferropriva pode ser causada pelo desequilíbrio na quantidade biodisponível e a sua necessidade orgânica. Assim, o estudo de biodisponibilidade do ferro tem sido alvo de crescente interesse do ponto de vista nutricional, pelo reconhecido papel na regulação fisiológica e bioquímica, além de contribuir no estabelecimento das recomendações de ingestão deste elemento em função das necessidades dos indivíduos e para prevenir doenças. Na avaliação da biodisponibilidade, deverão ser utilizadas metodologias que procurem elucidar as formas químicas, que permitam uma análise criteriosa dos resultados e que reproduzam o mais possível as condições fisiológicas. Assim, os radioisótopos são traçadores ideais pela especificidade com que são identificados e quantificados. Esse procedimento é normalmente caracterizado por boa precisão, devido à maior sensibilidade analítica e à capacidade de detecção in vivo. O presente trabalho objetiva elucidar a utilização dos radioisótopos em diversas metodologias para estudos de biodisponibilidade de ferro em animais.*

**Palavras-chave: Disponibilidade biológica. Ferro. Radioisótopos.**

## INTRODUÇÃO

No Brasil, a anemia por deficiência de ferro (anemia ferropriva) 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. Contribui, significativamente, para redução da capacidade de trabalho, bem como para o aumento da morbidade e da mortalidade, afetando mais de 2 bilhões de pessoas no mundo (BRASIL, 2002; BRUNKEN; GUIMARÃES; FISBERG, 2002).

Quando o estoque de ferro do organismo é depletado, sendo que essa persistência pode ocorrer a deficiência de ferro e, posteriormente, anemia, o corpo sofre consequências funcionais, tais como a ineficiência do transporte de oxigênio e prejuízo no metabolismo oxidativo, no metabolismo nuclear e na transcrição gênica. As sequelas 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, bem como diminuição de eficiência da função imune (BRASIL, 2002; INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTES DO BRASIL, 2006).

Entre os determinantes da anemia em crianças, encontram-se o baixo nível socioeconômico e escolaridade materna, falta de acesso aos serviços de saúde, abandono precoce do aleitamento materno, parasitismo intestinal, má absorção, aumento das necessidades orgânicas. Em adultos, entre os fatores que conduzem a anemia se encontram a acloridria, a hemorragia por lesão, a necessidade de ferro aumentada para o crescimento do volume sanguíneo, o qual ocorre durante a adolescência, gravidez e lactação (OSÓRIO, 2002; SILVA; GIUGLIANI; AERTS, 2001).

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. No entanto, em áreas onde a prevalência da anemia é expressiva, a causa mais comum é a baixa biodisponibilidade de ferro dietético (MONTEIRO; SZARFARC; MONDINI, 2000).

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

Em decorrência do quadro de anemia no Brasil, estudos que evidenciem a biodisponibilidade do ferro nos sistemas biológicos é de suma importância para compreender melhor o comportamento do mineral no organismo. Esta revisão tem por objetivo elucidar a utilização dos radioisótopos em diversas metodologias para estudos de biodisponibilidade de ferro em animais.

## O MICROMINERAL FERRO

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).

Os homens adultos saudáveis possuem cerca de 3,6g de ferro corpóreo, enquanto que a mulher cerca de 2,4g (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2005). Embora esse mineral esteja presente no corpo humano em quantidades pequenas, suas funções são essenciais à vida.

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. A destruição normal da hemoglobina das hemácias libera, por dia, 90mg 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 (BRIGIDE, 2009).

## FONTES 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.

As principais fontes são as vísceras (fígado, rim, coração), frutos do mar (ostras, mariscos e peixes), carne magra e aves (SHILLS et al., 2003).

A absorção do ferro heme é alta: cerca de 15 a 30% em indivíduo normal e 35 a 50% naqueles com baixa reserva de ferro (BRIGIDE, 2009).

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 (BRIGIDE, 2009). Tanto a composição dietética quanto a forma na qual o ferro está presente no intestino exercem influência na eficiência da absorção dietética do mineral.

## 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 (BRIGIDE, 2009).

Segundo Cozzolino (2005), a definição para o termo biodisponibilidade: refere-se à fração de qualquer nutriente ingerido que tem o potencial para suprir demandas fisiológicas em tecidos alvos.

Adotou-se, a utilização do termo SLAMANGHI, que foi proposto para o estudo de carotenoides 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).

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 (BRIGIDE, 2002).

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 gastrointestinal e, subsequentemente armazenada e incorporada ao heme. 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 gastrointestinal, 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).

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).

## **MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DO FERRO *IN VITRO***

Os métodos *in vitro* baseiam-se em medir o ferro que está disponível para absorção, após digestão simulada do alimento ou dieta, mediante a determinação de ferro dialisável, utilizando membrana de diálise em fluxo contínuo (MINIHANE; FOX; FAIRWEATHER-TAIT, 1993). Estes métodos não levam em consideração os fatores fisiológicos que afetam a eficiência na absorção do ferro, tais como o estado nutricional, transporte ativo, interações com a mucosa e flora intestinal, embora sejam importantes para obtenção de dados nos estudos *in vivo* e permitam melhor controle das variáveis experimentais. Os fatores promotores e inibidores da absorção de ferro têm demonstrado corresponder *in vitro* da mesma maneira que a absorção de ferro *in vivo* (FAIRWEATHER-TAIT et al., 1995).

## **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). A identidade química é a premissa básica para a troca de elementos-isótopo e traçador 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 intrínseca ou extrinsecamente com o acréscimo de marcadores.

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 (COZZOLINO, 2005; VAN CAMPEN; GLAHN, 1999; WIENK; MARX; BEYNEN, 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 apresentou-se tão eficiente quanto a marcação intrínseca para o estudo de biodisponibilidade do ferro (DONANGELO et al., 2003; WEAVER; NELSON; ELLIOTT, 1984).

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 administrado o radioisótopo, podem ser utilizadas 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. Realiza-se a contagem corporal (1 a 5h 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 foram expressos como porcentagem da dieta radioamarcada 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  $\gamma$  (VAN CAMPEN; GLAHN, 1999; WIENK; MARX; BEYNEN, 1999).

Outro método envolve a quantificação da absorção real de minerais com uso de radiotraçadores em estudos de compartimento. Tal estudo permite visualizar dinamicamente o mecanismo metabólico do mineral dentro do organismo. Os princípios do método utilizando radiotraçador foram apresentados inicialmente por Kleiber, Smith e Ralston (1951) e baseiam-se na técnica da diluição isotópica utilizando o isótopo radiativo.

Apesar de ser metodologia utilizada por poucos pesquisadores no Brasil (DORIGAN, 2000; MOREIRA et al., 2003; SALVIANO, 1996), a literatura mundial considera a técnica de diluição isotópica um método muito confiável para estudos de metabolismo mineral nos animais.

O princípio da técnica de diluição isotópica baseia-se no fato de que, após a injeção do radionuclídeo no plasma, este se distribui homogeneamente nos fluidos corporais (plasma, líquidos intersticiais, etc.), sendo sua presença nas fezes indicativo da fração endógena. A fração endógena pode ser estimada através da comparação da atividade do plasma com a das fezes. A atividade específica das fezes é sempre menor que a do plasma, pois nas fezes a fração exógena do elemento é mais elevada causando a diluição isotópica do elemento. Sabendo-se a fração endógena do elemento, pode-se calcular a absorção verdadeira.

O conhecimento da absorção real do mineral nas diversas fontes auxilia na transformação das exigências líquidas dos animais em exigências nutricionais.

A eficiência de absorção de um determinado mineral pode variar com fatores ligados ao animal - características genéticas, fisiologia, taxa de crescimento e outros - e pela capacidade da dieta em disponibilizar o nutriente em questão, relacionada, principalmente, com a forma química e associações estruturais na planta. Outros nutrientes (proteínas, energia e demais minerais) e fatores antinutricionais (glicosídeos, cianogênicos e oxalato), dependendo das quantidades presentes, podem interagir com o mineral e alterar sua eficiência de absorção e sua retenção pelo animal (NICODEMO; LAURA, 2001).

As estimativas de exigências nutricionais para animais podem ser baseadas nas estimativas das quantidades de minerais depositadas nos tecidos ou nas secreções, caracterizando os compartimentos de estudo e produzidos nos vários estágios fisiológicos, acrescidos das perdas endógenas obrigatórias do organismo. Esses fatores somados representam as necessidades fisiológicas nos tecidos, chamadas de exigências líquidas. O valor da exigência líquida dividido pela eficiência de absorção apropriada origina as exigências nutricionais do elemento (SILVA, 2008).

Por meio de ensaios de disponibilidade convencionais, obtém-se a absorção aparente. Como nas fezes encontra-se não apenas a fração não absorvida do alimento, mas também uma fração secretada no trato gastrointestinal TGI e não reabsorvida, chamada fração fecal endógena, os valores de absorção aparente são mais baixos que os de absorção verdadeira (SILVA, 2008).

A fração fecal endógena utilizada no cálculo da absorção verdadeira, pode ser estimada em alguns casos por marcação dos tecidos corporais com o isótopo do elemento em estudo e subsequente medida da extensão de diluição da fração endógena do mineral total das fezes ou urina (SILVA, 2008). Outras formas de se calcular a excreção fecal

endógena envolvem a utilização de dietas livres do elemento ou o uso de equações de regressão da retenção do elemento em relação a diferentes taxas de ingestão, obtidas em ensaios de balanço. Estes dois últimos métodos se apresentam inconvenientes, fornecendo valores de excreção endógena mais baixos que aqueles obtidos pelo método isotópico (PLAYNE, 1976).

A grande vantagem do uso da diluição isotópica é que os experimentos podem ser realizados em animais em condições normais de alimentação e, quando se utiliza a técnica de diluição isotópica, é possível estabelecer analogia entre os conceitos de meia-vida física e meia-vida biológica.

## RADIONUCLÍDEOS EM ESTUDOS DE BIODISPONIBILIDADE

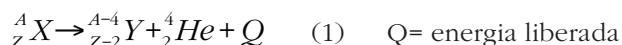
### RADIOATIVIDADE

É a transformação espontânea do núcleo de um átomo instável, resultando frequentemente 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 (QUEIROZ; NASCIMENTO FILHO; SPESSOTO, 2004).

A desintegração é também chamada de decaimento radioativo, na qual o núcleo está diminuindo sua radioatividade a fim de 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.

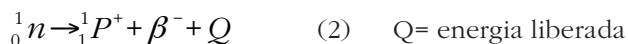
A partícula alfa é emitida por núcleos pesados, de alto número atômico, isto é, de massa atômica superior a 60. Um núcleo instável emite uma partícula com 2 prótons e 2 nêutrons, dando origem a outro elemento de número atômico com 2 unidades a menos que o primeiro (e número de massa 4 unidades a menos). 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:



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:



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:



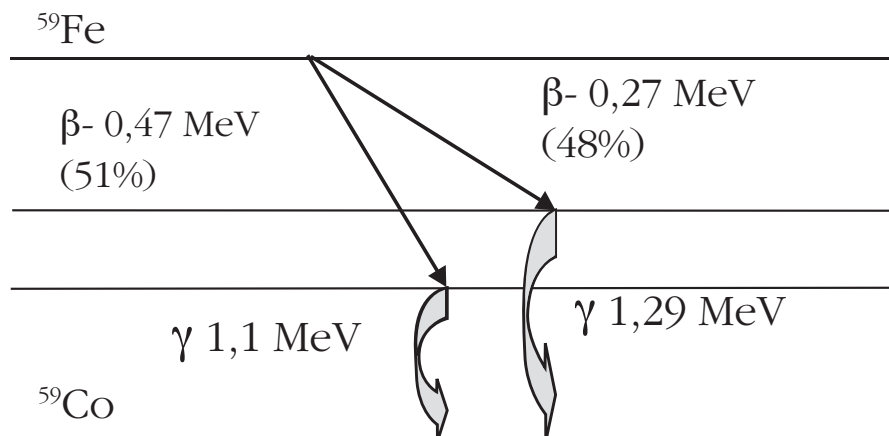
As radiações gama são ondas eletromagnéticas, como os raios X, diferenciando-se deles por serem emitidos pelo núcleo atômico. A desintegração de um núcleo instável tem como objetivo atingir uma condição de maior estabilidade. Neste sentido, os raios gama ocorrem com o retorno do núcleo excitado ao estado 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; NASCIMENTO FILHO; SPESSOTO, 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). Consequentemente, 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 perigosas), 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).

## 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 característica 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 1.



**Figura 1 – Esquema de desintegração do  $^{59}\text{Fe}$ .**

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 ( $T_{1/2}$ ), expressa em unidade de tempo (s, h, d) (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 ( $T_{1/2}$ ) 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 microssegundo 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).

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.

## **MEIA-VIDA EFETIVA E BIOLÓGICA**

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; NASCIMENTO FILHO; SPESSOTO, 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.

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 ( $\text{MBq ng}^{-1}$ ,  $\text{mCi mg}^{-1}$ ,  $\text{Bq mg}^{-1}$ ) (MARINO, 1994).

O número de átomos radioativos presentes em um sistema, num 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 da probabilidade de eliminação biológica. Ou, em termos de meias-vidas, tem-se que a meia-vida efetiva  $T_{ef}$  é dada segundo a Equação 4:

$$\lambda/T_{ef} = 1/T_{fis} + 1/T_{biol} \quad (4)$$

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; NASCIMENTO FILHO; SPESSOTO, 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; NASCIMENTO FILHO; SPESSOTO, 2004).

Pode-se estimar a meia-vida biológica (na forma), segundo a Equação 5:

$$T_{biol} = 0,693 * t / \ln (A_0/a) \quad (5)$$

Onde  $T_{biol}$  = 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 utiliza-se a Equação 6 supracitada. Trabalho recente mostra que a meia-vida biológica do  $^{59}\text{Fe}$  no animal pode ser de 5,14 dias (BRIGIDE, 2009).

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.

Um alto valor de T<sub>biol</sub> significa que o composto permanece mais tempo na corrente sanguínea. O uso de radioisótopos e a hipótese de que o comportamento do elemento radiomarcado é similar quimicamente ao não marcado, permite calcular a meia-vida biológica pela relação acima, e obter uma melhor compreensão do que ocorre com a cinética do composto dentro do organismo animal.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A deficiência de ferro é uma dominante dentro da expectativa global, geralmente devido à ingestão insuficiente de ferro e/ou quantidade biodisponível, assim estudos envolvendo a biodisponibilidade desse mineral passam a ter grande importância.

O uso de radionuclídeos em estudos de biodisponibilidade de ferro pode contribuir largamente para a obtenção de dados mais precisos no tocante ao metabolismo do mineral em animais, levando, desse modo, à determinação mais precisa das necessidades do organismo e o estabelecimento das recomendações de ingestão alimentar em nosso país.

## REFERÊNCIAS/REFERENCES

- 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. *Clin Sci.*, v. 87, n. 1, p. 91-95, Jul 1994.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Área técnica de alimentação e nutrição*. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/sps/areastecnicas/carenciais/index/html>. Acesso em: 03 fev. 2002.
- BRIGIDE, P. *Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (Phaseolus vulgaris L) irradiados*. 2002. 58 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.
- BRIGIDE, P. *Biodisponibilidade de ferro em feijão (Phaseolus Vulgaris L.) usando o <sup>59</sup>Fe marcado intrinsecamente*. 2009. Tese (Doutorado) – Instituto de Química e Biologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2009.
- BRUNKEN, G. S.; GUIMARÃES, L. V.; FISBERG M. Anemia em crianças menores de 3 anos que frequentam creches públicas em período integral. *J. Pediatr.*, v. 78, n. 1, p. 50-56, jan.-fev. 2002.
- CARRAZZA, F. R. Minerais em dietas latinoamericanas. *Arch Latinoamericanas Nutr.*, v. 38, n. 3, p. 599-621, 1988.
- COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de minerais. *Rev Nutr.*, PUCCAMP, v. 10, n. 2, p. 87-98, 1997.
- COZZOLINO, S. M. F. *Biodisponibilidade de nutrientes*. São Paulo: Manole, 2005. v. 1, 878 p.
- DE ANGELIS, R. C. *Fome oculta, impacto para a população do Brasil*. São Paulo: Atheneu, 1999. 236 p.

- 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. *J Agric Food Chem.*, v. 51, n. 17, p. 5137-5141, Aug 2003.
- DORIGAN, C. J. *Metabolismo e perdas endógenas de cálcio em cabritos Saanen*. 2000. 114 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2000.
- FAIRWEATHER-TAIT, S. J.; FOX, T.; WHARF, S. G.; EAGLES, J. The bioavailability of iron in different weaning foods and the enhancing effects of a fruit drink containing ascorbic acid. *Pediatr Res.*, v. 37, n. 4, Pt 1, p. 389-394, Apr 1995.
- INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTES DO BRASIL. *Necessidades nutricionais de crianças e adolescentes*. São Paulo: ILSI Brasil, 2006. (Alimentos fortificados e suplementos). 77 p.
- KLEIBER, M.; SMITH, A. H.; RALSTON, N. P. Radiophosphorus ( $^{32}\text{P}$ ) as tracer for measuring endogenous phosphorus in cow's feces. *J Nutr.*, v. 45, n. 2, p. 253-263, Oct 1951.
- LATUNDE-DADA, G. O.; NEALE, R. J. Review: availability of iron from foods. *J Food Technol.*, v. 21, n. 3, p. 255-268, Jun 1986.
- MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S. Alimentos, nutrição e dietoterapia. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242 p.
- MARINO, D. A. Aplicação de traçadores isotópicos em estudos de biodisponibilidade de minerais. *Cad. Nutr.*, v. 8, p. 19-30, 1994.
- MINIHANE, A. M.; FOX, T. E.; FAIRWEATHER-TAIT, S. J. A continuous flow in vitro method to predict bioavailability of Fe from foods. *Proceedings Biol.*, v. 2, p. 175-179, 1993.
- MONTEIRO, C. A.; SZARFARC, S. C.; MONDINI, L. Tendência secular da anemia na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). *Rev. Saúde Pública*, v. 34, n. 6, p. 62-72, dez. 2000.
- MOREIRA, J. A.; VITTI, D. M. S. S.; TRINDADE, N. M. A.; LOPES, J. B. Phytase enzyme in diets containing defatted rice bran for growing swine. *Sci Agric.*, v. 60, n. 4, p. 631-636, Oct/Dec 2003.
- NASCIMENTO FILHO, V. F. *Características físicas dos principais radioisótopos utilizados em ciências biológicas*. Piracicaba: USP-CENA, 1997. 8 p. (Boletim Técnico, 9).
- NICODEMO, M. L. F.; LAURA, V. A. *Elementos minerais em forrageiras: formas químicas, distribuição e biodisponibilidade*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. (Documentos, 115).
- OSÓRIO, M. M. Fatores determinantes da anemia em crianças. *J Pediatr.*, v. 78, n. 4, p. 269-278. 2002.
- PLAYNE, M. J. Availability of phosphorus in feedstuffs for utilization by ruminants. In: BLAIR, G. J. (Ed.). *Reviews in rural science*. 3. Prospects for improving efficiency of phosphorus utilization. Armidale: University of New England Publishing, 1976. p. 155-164.
- 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 (Org). *Agrotóxicos & ambiente*. Brasília/DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 400 p.
- SALVIANO, L. M. C. *Efeito de diferentes proporções de cálcio e fósforo sobre as perdas endógenas e absorção real de fósforo em ovinos*. 1996. 83 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.
- 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. *Rev Saúde Pública*, v. 35, n. 1, p. 66-73, 2001.

SILVA, T. S. *Utilização de fósforo por ovinos: efeitos de diferentes concentrações na absorção real e perdas fecais*. 2008. Dissertação (Mestrado) - CENA, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

SHILLS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, C. A. *Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença*. v. 1, 9. ed. São Paulo: Manole, 2003.

TURNLUND, J. R. Bioavailability of dietary minerals to humans: the stable isotope approach. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, v. 30, n. 4, p. 387-396, 1991.

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

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

WIENK, K. J. H.; MARX, J. J. M.; BEYNEN, A. C. The concept of iron bioavailability and its assessment. *Eur J Nutr.*, v. 38, n. 2, p. 51-75, Apr 1999.

Recebido para publicação em 01/02/11.

Aprovado em 09/11/11.