

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS, NATURAIS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA E NUTRIÇÃO

ANA LUIZA FRANQUE BONOMO  
EMILLY BASTOS LAEBER  
FELIPE RODRIGUES MOURA PINHEIRO  
GIULIA BARROSO CHIQUIERI  
GIULLIA LORENA DA SILVA BUSCH CRAVO  
ISABELA AMORIM RIBEIRO  
LARA GONÇALVES HUBNER  
LEON BRUNHARA DA SILVA  
LÍVIA GALVANI CÔCO  
LUANA APARECIDA SANTOS  
LUCAS MAURILIO CINDRA VARGAS  
LUÍZA DE OLIVEIRA REGO  
LYVIA DALMASCHIO SOARES  
MARCIO JULIO REALLI DOS SANTOS  
MILENA REGIANI SANTANA  
PEDRO EYKE MITSUYASU TOSHIMITU  
VALBER DOS SANTOS SILVA  
VICTÓRIA BORGES RODRIGUES

## **RELATÓRIO DE NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL**

NEUZA MARIA BRUNORO COSTA

ALEGRE  
ESPÍRITO SANTO  
2022

ANA LUIZA FRANQUE BONOMO  
EMILLY BASTOS LAEBER  
FELIPE RODRIGUES MOURA PINHEIRO  
GIULIA BARROSO CHIQUIERI  
GIULLIA LORENA DA SILVA BUSCH CRAVO  
ISABELA AMORIM RIBEIRO  
LARA GONÇALVES HUBNER  
LEON BRUNHARA DA SILVA  
LIVIA GALVANI CÔCO  
LUANA APARECIDA SANTOS  
LUCAS MAURILIO CINDRA VARGAS  
LUÍZA DE OLIVEIRA REGO  
LYVIA DALMASCHIO SOARES  
MARCIO JULIO REALLI DOS SANTOS  
MILENA REGIANI SANTANA  
PEDRO EYKE MITSUYASU TOSHIMITU  
VALBER DOS SANTOS SILVA  
VICTÓRIA BORGES RODRIGUES

## RELATÓRIO DE NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL

ALEGRE  
ESPÍRITO SANTO  
2022

## RESUMO

A biofortificação consiste em aumentar as concentrações de micronutrientes, biodisponíveis nos tecidos das culturas alimentares básicas. Esse melhoramento genético ajuda a população a ingerir mais nutrientes essenciais ao consumir alimentos básicos e usuais como feijão, batata, arroz, mandioca. A baixa ingestão de ferro pode causar uma condição chamada anemia. A anemia ferropriva é a manifestação mais comum da doença, correspondendo a 90% dos casos. No Brasil, é um problema nutricional recorrente que atinge principalmente crianças, mulheres em idade fértil e gestantes. A leguminosa possui alguns fatores antinutricionais que reduzem sua digestibilidade, como ácido fítico e taninos. O experimento teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade de ferro dos feijões-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) biofortificado Tumucumaque, Aracê, Xique-xique, Pajeú, comparados ao convencional. Foram utilizados 40 ratos Wistar machos, recém desmamados, com 21 dias de idade e peso médio inicial de 80 g. A biodisponibilidade do ferro foi avaliada usando o método de depleção-repleção AOAC (1998) adaptado para 21 dias de depleção e 14 dias de repleção (12 mg Fe/kg). O teor de ferro do feijão foi utilizado para estabelecer a quantidade de farinha de feijão necessária para fornecer 12 mg Fe/kg de dieta. Os demais ingredientes adicionados foram ajustados para obtenção de dietas isoproteicas, isoglicídicas, isolipídicas e isocalóricas. Todos os grupos receberam suas dietas experimentais, respectivamente, com o objetivo de recuperar os níveis de hemoglobina. O ganho de hemoglobina foi calculado pela diferença na concentração de hemoglobina (Hb) nos períodos final e inicial de repleção. A biofortificação de alimentos como o feijão-caupi com ferro e zinco auxilia como ferramenta no combate prevalente às carências nutricionais, como a anemia ferropriva. O estudo com feijão biofortificado não apresentou diferença em relação ao sulfato ferroso (SF) nos parâmetros avaliados.

**Palavras-chave:** Anemia, Biodisponibilidade, Biofortificação, Dieta, Feijão-Caupi.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	5
2 OBJETIVOS .....	7
2.1 Objetivo Geral .....	7
2.2 Objetivo Específico .....	7
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	8
3.1 Tipo de estudo e locais de execução .....	8
3.2 Matéria-Prima .....	8
3.3 Preparação dos feijões .....	8
3.4 Determinação dos teores de ferro .....	8
3.5 Biodisponibilidade de ferro: Estudo em animais .....	9
3.5.1 Aprovação Ética .....	9
3.5.2 Ensaio Animal .....	9
3.5.3 Preparo das dietas .....	10
3.5.4 Períodos de Depleção e Repleção .....	12
3.5.5 Ganho de peso e consumo alimentar .....	13
3.5.6 Determinação de Parâmetros Hematológicos .....	13
3.6 Análises estatísticas .....	14
4 RESULTADOS .....	15
5 DISCUSSÃO .....	17
6 CONCLUSÃO .....	20
7 REFERÊNCIAS .....	21
ANEXOS .....	23

## 1 INTRODUÇÃO

A biofortificação consiste no aumento das concentrações de micronutrientes, biodisponíveis nos tecidos de culturas alimentares de base (através da biofortificação agrônômica, melhoramento vegetal convencional e engenharia genética), como ferro, vitamina A e zinco. Esse melhoramento genético auxilia para que a população consuma alimentos básicos e habituais como feijões, batata, arroz, mandioca, entre outros, e ainda consigam uma melhor qualidade nutricional na refeição (DE STEUR et al., 2017; SANT'ANA et al., 2019).

Estudos têm mostrado que uma alimentação regrada juntamente com nutrientes específicos beneficia a resposta imunológica, tendo os micronutrientes um papel fundamental nesse processo (REIS, MACAGNAN, 2021 apud BIASEBETTI; RODRIGUES; MAZUR, 2018). Segundo o Ministério da Saúde (2013), o ferro é um micronutriente essencial, envolvido principalmente na síntese de glóbulos vermelhos (hemácias) e no transporte de oxigênio no corpo. Existem dois tipos de ferro nos alimentos: ferro heme (de origem animal e altamente absorvível) e ferro não heme (encontrado em vegetais).

O baixo consumo de ferro pode causar uma doença denominada anemia. Segundo a Biblioteca Virtual em Saúde (2016), a anemia é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue está abaixo do normal como resultado da carência de um ou mais nutrientes essenciais. As anemias podem ser causadas por deficiência de vários nutrientes como ferro, zinco, vitamina B12 e proteínas. De acordo com Fran Martins (2022), a anemia ferropriva é a manifestação mais comum da doença, correspondendo a 90% dos casos. No Brasil, é um problema nutricional recorrente que atinge principalmente crianças, mulheres em idade fértil e gestantes. A Pesquisa Nacional de População e Saúde estima a prevalência de anemia na população em geral. Segundo a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS), a doença esteve presente em 20,9% das crianças. No país, foi desenvolvido o Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF) que visa prevenir a anemia por meio da suplementação profilática de ferro em crianças de 6 a 24 meses de idade. (MELO, 2021 apud BRASIL, 2021).

“O feijão, juntamente com outras fabáceas, é um alimento com importante valor nutricional, havendo registros de que integra a dieta humana há mais de

10.000 anos” (EMBRAPA, 2021 apud MUDRYJ et al., 2014). Além disso, o feijão possui baixo custo e é uma importante fonte de proteínas, vitaminas, carboidratos complexos e fibras (EMBRAPA, 2021 apud LETERME; CARMENZA MUÑOZ, 2002). O feijão-caupi veio da cultura de origem africana, e foi inserida no Brasil na segunda metade do século XVI pelos colonizadores portugueses no Estado da Bahia. A espécie do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) juntamente com a do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) apresentam importância social e econômica no Brasil, na qual geram emprego e renda para os agricultores familiares. É um alimento rico em proteína, minerais e fibras e é um dos alimentos básicos da população rural e urbana, principalmente das regiões Norte e Nordeste do país (FREIRE FILHO et al., 2011). No entanto, essa leguminosa apresenta alguns fatores antinutricionais que reduzem a sua digestibilidade, como ácido fítico e taninos, que estão relacionados à capacidade de formar complexos insolúveis com proteínas e elementos, reduzindo sua biodisponibilidade, se dando a importância de métodos que melhorem a qualidade nutricional dos alimentos, como a biofortificação (SANT’ANA et al., 2019).

Sendo assim, é de extrema importância o uso do feijão-caupi biofortificado como alternativa para melhorar a biodisponibilidade de ferro, pois pode trazer benefícios para populações afetadas por deficiências relacionadas à desnutrição. Logo, o presente estudo tem como objetivo avaliar a biodisponibilidade de ferro em diferentes variedades de feijões-caupi biofortificados, utilizando o modelo depleção-repleção em animais.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a biodisponibilidade de ferro dos feijões-caupi (*Vigna unguiculata L. Walp.*) biofortificado Tumucumaque, Aracê, Xiquexique, Pajeú, comparados ao convencional.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a concentração de ferro dos feijões-caupi (*Vigna unguiculata L. Walp.*) biofortificado Tumucumaque, Aracê, Xiquexique, Pajeú, comparado ao convencional;
- Avaliar a biodisponibilidade de ferro em modelo animal, o ganho de peso dos animais, o consumo alimentar dos animais e o ganho dos níveis de hemoglobina dos animais anêmicos.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Tipo de estudo e locais de execução**

Trata-se de um estudo de pesquisa experimental, realizado nos Laboratórios de Nutrição Experimental (LABNEX) e no Multiusuário de Experimentação Animal e Cultivo de Células (LABMEX), localizados no Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde (CCENS) e no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAEE), respectivamente, da Universidade Federal do Espírito Santo – Alegre/ES.

#### **3.2 Matéria-Prima**

Os materiais utilizados para a pesquisa foram os feijões caupi (*Vigna unguiculata* L. Walph) convencional (BRS Pajeu) e biofortificado (BRS Arace), (BRS Xique-xique) e (BRS Tumucumaque) fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Arroz e Feijão, localizada em Santo Antônio de Goiás - GO, Brasil.

#### **3.3 Preparação dos feijões**

Os grãos do feijão caupi, convencional (BRS Pajeu) e biofortificado (BRS Aracê), passarão por uma seleção prévia para retirada de sujidades. Após a limpeza, os grãos serão lavados e cozidos em panela de pressão elétrica doméstica Mondial Pratic Cook (3L), durante 30 minutos, utilizando água ultra-pura na proporção feijão:água de 1:2 (p:v) (SANT'ANA et al., 2019). Os grãos e o conteúdo residual serão congelados em freezer a -80°C (Thermo EXF) por 24 horas, posteriormente, serão secos em liofilizador JJ Científica (Freeze Dryer) a 60°C por 24 horas, em seguida, serão triturados no liquidificador e mantidos a -20°C para posteriores análises.

#### **3.4 Determinação dos teores de ferro**



O teor de ferro presente nos feijões e nas dietas será determinado, em triplicata, com metodologia proposta por acordo com Gomes; Silva; Silva (1996). Inicialmente, todo material utilizado na análise será previamente desmineralizado em solução de ácido nítrico 10%, por 24 horas e lavado em água deionizada (3 vezes). Serão pesados 2 g de cada farinha em papel manteiga, em balança analítica e transferidos para tubos de digestão. Em seguida, 10 mL de ácido nítrico à temperatura ambiente serão adicionados aos tubos e mantidos em bloco digestor, a 150°C, por 16 horas. Após a digestão, os tubos serão esfriados em temperatura ambiente e as amostras transferidas para balões volumétricos de 50 mL, sendo os tubos lavados com água deionizada e agitados em vórtex, por 3 vezes. Para análise, os extratos serão diluídos apropriadamente utilizando água deionizada.

Os minerais serão determinados por espectrometria de absorção atômica e o resultado através da equação:

$$\frac{[(A - B) \times 25]}{1000} + \frac{1}{P}$$

Onde:

A = concentração da amostra em mg/L;

B = concentração do branco;

P = peso da amostra em gramas.

Sendo o resultado final sendo expresso em mg de ferro por Kg de amostra.

### **3.5 Biodisponibilidade de ferro: Estudo em animais**

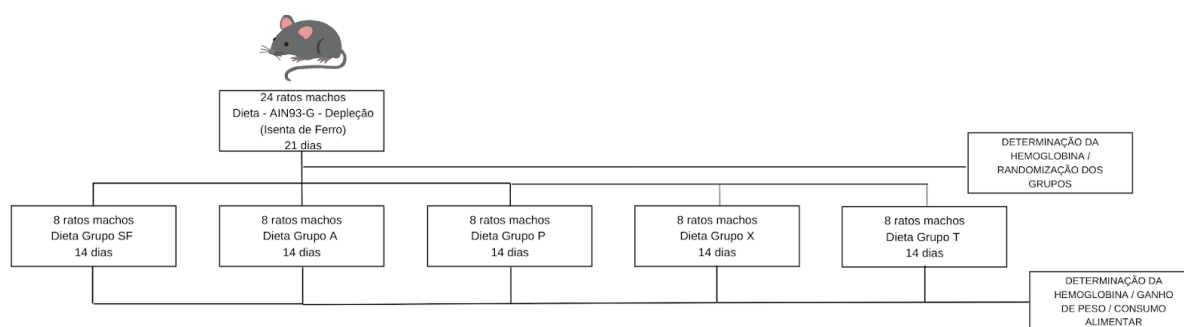
#### **3.5.1 Aprovação Ética**

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre/ ES.

#### **3.5.2 Ensaio Animal**

Neste ensaio foram utilizados 40 ratos da linhagem *Wistar*, machos, recém desmamados, com 21 dias de idade e peso inicial médio de 80 g, obtidos do Biotério Central do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Espírito Santo

(CCS/UFES). Foi realizada a avaliação da biodisponibilidade de ferro pelo método de depleção-repleção da AOAC (1998) com adaptação para 21 dias de depleção e 14 dias de repleção (12 mg Fe/kg). Os animais foram distribuídos em gaiolas individuais de aço inoxidável, com um ciclo claro/escuro de 12h em ambiente sob temperatura controlada a 23 °C. A hemoglobina dos animais foi aferida com kit comercial ao final dos períodos de depleção e repleção. O peso e consumo alimentar dos animais foram monitorados semanalmente. O coeficiente de eficiência alimentar (CEA) foi determinado pela expressão que relaciona o ganho de peso total dos animais (g) ao consumo total de dieta (g) x 100 (Figura 1).



**Figura 1. Desenho experimental do estudo.** Grupo SF: Grupo controle recebendo sulfato ferroso; Grupo A: Grupo teste recebendo feijão biofortificado BRS Aracê; Grupo P: Grupo teste recebendo feijão convencional BRS Pajeú. Grupo X: Grupo teste recebendo feijão convencional BRS Xiquexique. Grupo T: Grupo teste recebendo feijão convencional BRS Tumucumaque.

### 3.5.3 Preparo das dietas

As dietas foram preparadas de acordo com a dieta AIN-93G (REEVES et al., 1993), indicada para animais em fase de crescimento. Foram ajustadas para fornecer 12 mg Fe/kg de dieta, procedentes do sulfato ferroso ( $\text{FeSO}_4$ ), na dieta controle e da farinha de feijão-caupi, nas dietas teste. Para o cálculo das dietas testes, foi utilizado o teor de ferro dos feijões, de modo a estabelecer a quantidade de farinha de feijão necessária para fornecer 12 mg Fe/kg de dieta. Os demais ingredientes adicionados foram ajustados de modo a obter dietas isoproteicas, isoglicídicas, isolipídicas e isocalóricas.

Os ingredientes usados, de acordo com a Tabela 1, foram pesados em balança analítica (Shimadzu®). Inicialmente foram adicionados os ingredientes sólidos de menor quantidade para a maior e em seguida o líquido, sendo misturados manualmente em vasilhames de plástico previamente lavados e enxaguados com água ultra pura, após foram misturados em batedeira semi-industrial (Venâncio®), com baixa rotação, por 20 min e armazenados a 8°C em sacolas plásticas devidamente etiquetadas.

**Tabela 1** – Composição das dietas de depleção e de repleção (g/100g)

Ingredientes (g/100g)	Dieta de Depleção	Dietas de Repleção				
		Sulfato ferroso	Pajeú	Aracê	Tumucumaque	Xique Xique
Albumina	20	20	qsp 20 g proteína	qsp 20 g proteína	qsp 20 g proteína	qsp 20 g proteína
Amido dextrinizado	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2	13,2
Sacarose	10	10	10	10	10	10
Óleo de soja	7	7	qsp 7 g lipídios	qsp 7 g lipídios	qsp 7 g lipídios	qsp 7 g lipídios
Celulose microfina	5	5	qsp 5 g fibras	qsp 5 g fibras	qsp 5 g fibras	qsp 5 g fibras
Mix de Minerais sem ferro	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mix de vitaminas	1	1	1	1	1	1
L-cistina	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

Amido de Milho	39,75	qsp 100 g	qsp 100 g	qsp 100 g	qsp 100 g	qsp 100 g
Feijão caupi	-	-	qsp 12 mg/Fe/kg	qsp 12 mg/Fe/kg	qsp 12 mg/Fe/kg	qsp 12 mg/Fe/kg
Sulfato ferroso	-	qsp 12 mg/Fe/kg	-	-	-	-

---

qsp =  
quantidade  
suficiente  
para

### 3.5.4 Períodos de Depleção e Repleção

Durante o período de depleção (21 dias), todos os animais receberam uma dieta isenta de ferro, adaptada da AIN-93G para roedores e água deionizada *ad libitum*, com o intuito de provocar anemia ferropriva nos animais. Ao final desse período, foi coletado o sangue (20 µL) por punção caudal e a hemoglobina determinada para confirmar a anemia.

Então, para o período de repleção (14 dias), os animais anêmicos foram randomizados em três grupos, com oito animais cada, de modo que a concentração média de hemoglobina (Hb) e o peso fossem similares entre os grupos que consistiram em:

- Grupo SF: Grupo controle recebendo Sulfato Ferroso como fonte de ferro na dieta.
- Grupo A: Grupo recebendo feijão biofortificados aracê como fonte de ferro.
- Grupo P: Grupo recebendo feijão convencional pajeú como fonte de ferro.
- Grupo X: Grupo recebendo feijão biofortificados xiquexique como fonte de ferro.

- Grupo T: Grupo recebendo feijão convencional tumucumaque como fonte de ferro.

Todos os grupos receberam suas dietas experimentais, respectivamente, com o intuito de recuperar os níveis de hemoglobina, tempo em que receberam água deionizada *ad libitum* e dieta controlada de aproximadamente 18 g por dia. As dietas foram preparadas a fim de fornecer 12 mg Fe/kg dieta.

Ao final desta fase, foram realizadas novas dosagens de hemoglobina dos animais, e calculou-se o ganho de hemoglobina pela diferença dos valores obtidos ao final das fases de repleção e depleção.

### **3.5.5 Ganho de peso e consumo alimentar**

O ganho de peso e o consumo alimentar dos animais foram avaliados semanalmente, utilizando balança analítica. O ganho de peso foi obtido pela diferença entre o peso final e inicial do período de repleção. O consumo alimentar foi avaliado pelo consumo total individual dos animais, perfazendo a média do grupo.

### **3.5.6. Determinação de Parâmetros Hematológicos**

Ao fim do período de depleção (21 dias) e repleção (14 dias) foram coletadas amostras de sangue por gotejamento, após incisão da porção terminal da cauda dos animais para a determinação da concentração de hemoglobina (Hb). A dosagem de hemoglobina foi realizada segundo o método do cianetohemoglobina (AOAC, 1998), utilizando-se o Kit comercial de hemoglobina, conforme orientações do fabricante (LabTest®).

O ganho de hemoglobina foi calculado pela diferença da concentração da hemoglobina (Hb) do período final e inicial de repleção. O *pool* de ferro na hemoglobina foi calculado assumindo que o volume total de sangue é de 6,7% do peso corporal e assumindo também o conteúdo de ferro na hemoglobina, sendo de 0,335%, segundo as seguintes fórmulas:

$$\text{Hb-Fe inicial} = [\text{peso inicial (g)} \times \text{Hb inicial (g/dL)} \times 6,7 \times 0,335] / 1000$$

$$\text{Hb-Fe final} = [\text{peso final (g)} \times \text{Hb final (g/dL)} \times 6,7 \times 0,335] / 1000$$

A eficiência de regeneração da hemoglobina (HRE) e o valor biológico relativo (RBV) foram estimados de acordo com Manhoney, Van Orden, Hendricks (1974), segundo as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ HRE} = \text{mg Hb-Fe final} - \text{mg Hb-Fe inicial} / \text{Fe consumido (mg)}$$

$$\text{RBV} = 100 \times (\text{HRE (\%)} \text{ grupo teste} / \text{HRE (\%)} \text{ grupo controle})$$

### 3.6 Análises estatísticas

Os dados foram avaliados em triplicata e a normalidade dos valores testadas pelo método de Kolmogorov-Smirnov. Dados não normais foram passados para base  $\log_{10}$ . Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão e avaliados por ANOVA e *post-hoc* Newman-Keuls, sendo significativo  $p < 0,05$ . Os dados foram analisados no programa Genes.

## 4 RESULTADOS

Os resultados foram obtidos através da análise estatística, conforme tabela 2 a seguir.

**Tabela 2** - Resultados da análise estatística das variáveis respostas dos tratamentos experimentais (média  $\pm$  desvio padrão)

<b>Tratamentos</b>	<b>SF</b>	<b>Aracê</b>	<b>Xique-xique</b>	<b>Tumucu-maque</b>	<b>Pajeú</b>
<b>Peso inicial</b>	100,69 $\pm$	101,99 $\pm$	106,55 $\pm$	99,95 $\pm$	100,88 $\pm$
<b>depleção (g)</b>	17,67 <b>a</b>	20,94 <b>a</b>	15,26 <b>a</b>	15,51 <b>a</b>	12,91 <b>a</b>
<b>Peso inicial</b>	210,99 $\pm$	214,69 $\pm$	219,39 $\pm$	214,90 $\pm$	218,08 $\pm$
<b>repleção (g)</b>	29,11 <b>a</b>	24,81 <b>a</b>	25,81 <b>a</b>	24,86 <b>a</b>	14,27 <b>a</b>
<b>Peso final</b>	264,51 $\pm$	260,84 $\pm$	270,31 $\pm$	261,38 $\pm$	270,53 $\pm$
<b>repleção (g)</b>	28,10 <b>a</b>	20,33 <b>a</b>	23,57 <b>a</b>	22,30 <b>a</b>	16,19 <b>a</b>
<b>Ganho peso (g)</b>	53,52 $\pm$ 7,88 <b>a</b>	46,15 $\pm$ 12,01 <b>a</b>	50,92 $\pm$ 13,44 <b>a</b>	46,48 $\pm$ 10,22 <b>a</b>	52,45 $\pm$ 12,51 <b>a</b>
<b>Consumo de Fe</b>	336,05 $\pm$	334,66 $\pm$	337,08 $\pm$	347,85 $\pm$	335,20 $\pm$
<b>depleção (g)</b>	36,63 <b>a</b>	21,48 <b>a</b>	24,15 <b>a</b>	18,91 <b>a</b>	26,87 <b>a</b>
<b>Consumo de Fe</b>	259,18 $\pm$	242,84 $\pm$	241,80 $\pm$	239,99 $\pm$	241,08 $\pm$
<b>repleção (g)</b>	34,31 <b>a</b>	12,11 <b>a</b>	13,77 <b>a</b>	21,14 <b>a</b>	10,72 <b>a</b>
<b>Hb inicial</b>	7,74 $\pm$	7,58 $\pm$	7,80 $\pm$	7,75 $\pm$	7,61 $\pm$
<b>(g/dL)</b>	0,46 <b>a</b>	0,56 <b>a</b>	0,49 <b>a</b>	0,42 <b>a</b>	0,46 <b>a</b>

<b>Hb final (g/dL)</b>	10,18 ± 0,86a	9,68 ± 0,54a	10,06 ± 1,13a	9,81 ± 0,49a	9,27 ± 0,44a
<b>Ganho Hb (g/dL)</b>	2,44 ± 0,51a	2,10 ± 0,43a	2,27 ± 1,19a	2,06 ± 0,67a	1,66 ± 0,51a
<b>Consumo de Fe (mg)</b>	5,04 ± 0,67a	4,34 ± 0,22bc	4,59 ± 0,26ab	3,42 ± 0,30d	3,95 ± 0,18cd
<b>HRE (%)</b>	25,84 ± 7,66a	23,35 ± 6,64a	24,72 ± 17,80a	14,14 ± 9,84a	24,92 ± 6,90a
<b>RBV (%)</b>	100,00 ± 29,67a	91,39 ± 25,35a	95,98 ± 68,69a	54,73 ± 38,08a	96,44 ± 26,71a

---

SF: sulfato ferroso; Hb: hemoglobina; HRE: eficiência de regeneração da hemoglobina; RBV: valor biológico relativo.

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% ( $p > 0,05$ ).



## 5 DISCUSSÃO

Conforme pode-se observar na Tabela 2, houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos ao nível de 5% de probabilidade ( $p>0,05$ ) apenas para a variável Consumo de Fe, sendo observado o maior valor para a dieta controle (SF=5,04 mg) e o menor valor para a dieta com o feijão Tumucumaque (3,42 mg).

### 5.1 Ganho de Peso, Consumo Alimentar e Consumo de Ferro

**Tabela 3-** Ganho de Peso, Consumo Alimentar e Consumo de Ferro (fase de repleção)

Grupos	Ganho de peso (g)	Consumo alimentar (g/d)	Consumo de ferro da dieta de repleção (mg)
SF	53,52±7,88	16,70±1,27	4,84±0,20
AR	46,15±12,01	16,49±0,84	4,34±0,21
TM	46,48±10,22	16,79±1,03	3,42±0,30
XQ	50,92±13,44	16,51±0,92	4,58±0,25
PJ	52,45±12,51	16,45±0,91	3,94±0,17

SF: sulfato ferroso; AR: aracê; TM: tumucumaque; XQ: xique-xique; PJ: pajeú

De acordo com os dados obtidos, no qual pode-se ser observado na tabela 3, foi avaliado que o ganho de peso do grupo experimental Sulfato ferroso (SF) obteve um ganho de peso semelhante ao grupo Xique-Xique (XQ), dentre o ganho de peso com menor valor o grupo Aracê (AR) e o grupo Tumucumaque (TM) obteve um ganho de peso na média dos valores, dos resultados apresentados o grupo experimental do Pajeú (PJ) obteve o maior valor de ganho de peso.

Analisando o consumo alimentar obtiveram valores quase semelhantes apresentados estatisticamente, pois a oferta da dieta foi realizada de forma semelhante e controlada com mesma quantidade de 18g/dia para grupos.

Em relação ao consumo de ferro na fase de repleção, os grupos de Sulfato Ferroso (SF) e Xique-xique (XQ) apresentaram valores semelhantes no consumo de ferro, também semelhante ao grupo Aracê (AR). Esses grupos foram

estatisticamente diferentes dos demais no consumo do ferro. E os grupos Pajeú (PJ) e Tumucumaque (TM) apresentaram menores valores no consumo do mineral.

## 5.2 Biodisponibilidade de Ferro

**Tabela 4** - Concentração de Hemoglobina inicial, final e ganho de hemoglobina na fase de repleção.

Grupos	Hb Inicial (g/dL)	Hb Final (g/dL)	Ganho Hb (g/dL)
SF	7,74±0,46 <sup>a</sup>	10,18±0,86 <sup>a</sup>	2,44±0,51 <sup>a</sup>
AR	7,58±0,56 <sup>a</sup>	9,68±0,54 <sup>a</sup>	2,10±0,43 <sup>a</sup>
TM	7,75±0,42 <sup>a</sup>	9,81±0,49 <sup>a</sup>	2,06±0,67 <sup>a</sup>
XQ	7,80±0,49 <sup>a</sup>	10,06±1,13 <sup>a</sup>	2,27±1,19 <sup>a</sup>
PJ	7,61±0,46 <sup>a</sup>	9,27±0,44 <sup>a</sup>	1,66±0,51 <sup>a</sup>

A tabela 4 evidencia os resultados de ganho de hemoglobina e a Hb dos grupos no fim das fases de depleção e repleção. Observa-se nos grupos experimentais níveis semelhantes de hemoglobina (Hb), sem diferença estatística. Isto ocorreu, pois os animais foram submetidos ao mesmo tipo de dieta, isenta de ferro para atingir a anemia ferropriva. Ainda ao observar os níveis de hemoglobina ao fim da fase de depleção, confirma-se a eficiência dela em provocar a anemia ferropriva nos animais, onde níveis abaixo de 12g/dL em ratos são valores considerados para anemia (Fiocruz, 2005).

A hemoglobina final nos grupos experimentais apresentaram aumento nos níveis de Hb, pois houve a oferta de dietas contendo o ferro na preparação. Sendo assim, os grupos não alcançaram valores de hemoglobina em que pudessem ser classificados como não anêmicos, podendo ser justificado pelo curto período experimental de apenas 14 dias de oferta de dieta contendo ferro.

Santana, C. T. (2018) ao avaliar o ganho de Hb observou que não houve diferença estatística entre os grupos de sulfato ferroso, feijão caupi biofortificado cozido, feijão caupi convencional cozido, feijão caupi germinado biofortificado e feijão caupi germinado convencional. Já Corrêa (2017) avaliou o ganho de HB, a mesma observou um ganho semelhante para todos os grupos, até o grupo controle tendo uma maior eficiência de regeneração da hemoglobina. Antunes (2019) encontrou resultados semelhantes a Santana (2018) e Corrêa (2017).

Na análise de biodisponibilidade também foram calculados os valores apresentados na tabela 5.

**Tabela 5** - Eficiência de regeneração de hemoglobina e Valor de biodisponibilidade relativa

Grupos	HRE (%)	RBV
SF	25,84±7,66	100±29,67
AR	23,35±6,64	91,39±25,35
TM	14,14±9,84	54,73±38,08
XQ	24,72±17,80	95,98±68,69
PJ	24,92±6,90	96,44±26,71

O SF é considerado o padrão, portanto os grupos experimentais apresentaram valores satisfatórios, pois os valores estão próximos de 100%. O RBV tem reflexo na eficiência do ferro que é utilizado no organismo, assim com relação aos valores de RBV os grupos não apresentaram diferença estatística ( $p>0,05$ ). Assim, os grupos experimentais não apresentaram diferenças estatísticas nos parâmetros de HRE e RBV. Santana (2018) após avaliar a recuperação de Hb entre os grupos observou que HRE e RBV não mostraram diferença estatística, assim como Corrêa (2017) também não observou diferença estatística em HRE.

Pode-se assim concluir que os feijões apresentam biodisponibilidade de ferro alta visto que os mesmos apresentaram valores semelhantes ao do sulfato ferroso (grupo controle). Observando, também, no estudo que houve uma variação de HRE e RBV, onde o Tumucumaque se encontra com maior valor dos parâmetros entre os grupos analisados.

## **6 CONCLUSÃO**

A biofortificação de alimentos como o feijão-caupi com ferro e zinco auxilia como ferramenta no combate prevalente na redução de carências nutricionais, como exemplo a anemia ferropriva que é ocasionada pela privação ou deficiência de ferro no organismo, que gera danos a saúde dos indivíduos. O estudo com os feijões biofortificados não apresentou diferença em relação ao sulfato ferroso (SF) nos parâmetros avaliados, exceto no teor de ferro (Fe) consumido, levando a uma sugestão de que os feijões tem alta biodisponibilidade de ferro.

Assim, mostra-se a importância da biofortificação de alimentos no combate à doenças como a anemia ferropriva, faz-se também necessário mais estudos em relação ao tema para compreender sobre a biofortificação e os possíveis efeitos benéficos à saúde de indivíduos.

## 7 REFERÊNCIAS

ANTUNES, P. T., **Biodisponibilidade de ferro e sua interação com a vitamina A em alimentos biofortificados**. 2018. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo; Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos; Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos; UFES; BR.

APACHE, Forte. **A importância do ferro na sua alimentação**. Jasmine Alimentos. 13 de julho de 2020. Disponível em: <<https://jasminealimentos.com/alimentacao/importancia-do-ferro-na-alimentacao/>> Acesso em: 15 dez. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Biblioteca Virtual em Saúde: Anemia**. [Brasília]: Ministério da Saúde. 2013. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_suplementacao\\_ferro\\_condutas\\_gerais.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_suplementacao_ferro_condutas_gerais.pdf)>. Acesso em: 15 dez. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Suplementação de Ferro: Manual de Condutas Gerais**. [Brasília]: Ministério da Saúde, 01 set. 2016. Disponível em: <<https://bvsms.saude.gov.br/anemia/>>. Acesso em: 15 dez. 2022.

CORRÊA, S. R. **Biodisponibilidade de ferro in vitro e in vivo de misturas de feijões caupi e batata doce biofortificados**. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo; Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFES BR, 2017.

DE STEUR, H.; WESANA, J.; BLANCQUAERT, D.; VAN DER STRAETEN, D.; GELLYNCK, X. Methods matter: a meta-regression on the determinants of willingness-to-pay studies on biofortified foods. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1390, n. 1, p. 34-46, 2017.

EMBRAPA. **Arroz e feijão tradição e segurança alimentar**. p. 148. 2021. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Carlos-Ferreira-10/publication/354587015\\_Arroz\\_e\\_feijao\\_tradicao\\_e\\_seguranca\\_alimentar/links/6141166d578238365b0b1669/Arroz-e-feijao-tradicao-e-seguranca-alimentar.pdf#page=148](https://www.researchgate.net/profile/Carlos-Ferreira-10/publication/354587015_Arroz_e_feijao_tradicao_e_seguranca_alimentar/links/6141166d578238365b0b1669/Arroz-e-feijao-tradicao-e-seguranca-alimentar.pdf#page=148)>. Acesso em: 16 dez. 2022..

FIOCRUZ. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Curso de Manipulação de Animais de Laboratório**. Salvador, 2005.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S. R.; RODRIGUES, E. V. Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. **Embrapa Meio-Norte**, 2011. 84p. 2021.

MARTINS, F. **Anemia ferropriva**: deficiência de ferro é um dos fatores que podem estar associados à mortalidade materna. [Brasília]: Ministério da Saúde, 03 nov. 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/agosto/anemia-ferropriva-deficiencia-de-ferro-e-um-dos-fatores-que-podem-estar-associados-a-mortalidade-materna>>. Acesso em: 15 dez. 2022.

MELO, Samandra A. de. **Anemia ferropriva em crianças—análise da suplementação de ferro na microrregião de Pouso Alegre—MG**. 2021. Disponível em: <<https://repositorio.animaeducacao.com.br/handle/ANIMA/24142>> Acesso em: 15 dez. 2022.

REIS, Frances da Silva. **Micronutrientes**: uma revisão sobre a sua relação com o sistema imunológico, biodisponibilidade e fortificação nos alimentos. 2021. Disponível em: <<https://repositorio.ifsc.edu.br/handle/123456789/2290>> Acesso em: 15 dez. 2022.

SANTANA, C. T. **Características físico-químicas, bioacessibilidade e biodisponibilidade de ferro do feijão-caupi biofortificado germinado**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Espírito Santo, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFES;, BR, 2018.

SANT'ANA, C. T.; ANTUNES, P. T.; REIS, T. C. D.; VAZ-TOSTES, M. D. G.; MEIRA, E. F.; COSTA, N. M. B. Bioaccessibility and bioavailability of iron in biofortified germinated cowpea. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 14, p. 6287-6295, 2019.

## ANEXOS



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **“Biodisponibilidade de Ferro”**, que visa o atendimento das aulas práticas das disciplinas “PCTA 1140 - Biodisponibilidade de Nutrientes - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos” e “DFN 05474 - Nutrição Experimental - Curso de Graduação em Nutrição”, registrada sob o **n.º 013/2022**, sob a responsabilidade de **Neuza Maria Brunoro Costa**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de ensino, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.167 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CAMPUS DE ALEGRE (CEUA-ALEGRE) do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes).

**Vigência da autorização:** 28/09/2022 a 28/08/2027

**Finalidade:** Ensino

**Espécie(s):** Ratos (*Ratus norvegicus*) Wistar

**Peso:** Variável

**Idade:** Recém-desmamados

**Sexo:** Machos

**Número de animais:** 48

**Origem:** Biotério Central do CCS da UFES, Campus de Maruípe, Vitória, ES.

Alegre-ES, 28/09/2022

Mashal Costa Leme - Coordenador da CEUA-ALEGRE

Comissão de Ética no Uso de Animais do Campus de Alegre – CEUA-ALEGRE  
Alto Universitário, s/n – Guararema – Alegre, ES, Brasil – CEP 29500-000 - Telefone: 028 3552 8900 – ceua.alegre@gmail.com – www.alegre.ufes.br

Documento assinado digitalmente conforme descrito no(s) Protocolo(s) de Assinatura constante(s) neste arquivo, de onde é possível verificar a autenticidade do mesmo.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
MARSHAL COSTA LEME - SIAPE 1818683  
Departamento de Medicina Veterinária - DMV/CCAE  
Em 29/09/2022 às 09:21

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/571534?tipoArquivo=O>