

TEOR DE ÁCIDO FÍTICO EM CULTIVARES DE SOJA CULTIVADOS EM DIFERENTES REGIÕES DOS ESTADOS DO PARANÁ E SÃO PAULO

Amanda Aleixo MOREIRA*
José Marcos Gontijo MANDARINO**
Rejane Dias das NEVES-SOUZA***
Rodrigo Santos LEITE****
Marcelo Alvares de OLIVEIRA**

■ **RESUMO:** O ácido fítico (AF) está presente em grãos de soja e apresenta tanto características benéficas como deletérias à saúde humana. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do método de análise para quantificação do ácido fítico em grãos de soja e quantificar o teor de ácido fítico em grãos de seis cultivares de soja cultivadas em quatro locais. Para a extração do ácido fítico foi utilizado ácido clorídrico (HCl) 0,8 M, com eluição por cloreto de sódio (NaCl) 0,7 M em coluna de Resina Dowex 1x2-200. As cultivares estudadas foram BRS 284, CD 215, NK 3363, BRS 317, VMAX convencional e VMAX RR transgênica e os locais foram os municípios de Cândido Mota (SP), Londrina (PR), Ponta Grossa (PR) e São Jorge do Ivaí (PR). Os resultados demonstraram que a eficiência da metodologia de extração e quantificação de ácido fítico foi excelente (92,5 e 88,0% para adição de 1 e 2% de ácido fítico respectivamente), indicando a sua utilização para análises em amostras de soja. Entre as amostras, os resultados variaram de 1,131 a 2,435 g 100 g⁻¹ de ácido fítico. A cultivar BRS 317, cultivada em Cândido Mota apresentou o maior teor de AF (2,435 g 100 g⁻¹), porém em Londrina essa amostra apresentou o menor teor (1,131 g 100 g⁻¹). Todas as cultivares apresentaram variação significativa no teor de ácido fítico em relação ao local de cultivo. A variabilidade genética das cultivares de soja, o local de cultivo, os tratos culturais como a adubação com fosfatos e os fatores climáticos podem influenciar nos teores de ácido fítico nos grãos de soja.

■ **PALAVRAS-CHAVE:** Glycine max; fitatos; alimento funcional.

INTRODUÇÃO

A soja apresenta excelente valor nutritivo e possui compostos bioativos que estão sendo amplamente estudados, visando à redução dos riscos de determinadas patolo-

gias, por isso é importante estimular seu consumo e incentivar o isolamento destes compostos.⁷

Dentre os compostos bioativos presentes nos grãos dessa oleaginosa está o ácido fítico (AF) que possui propriedades benéficas e, também deletérias ao organismo humano. A primeira refere-se à ação antioxidante do ácido fítico e a segunda, ao efeito quelante em relação aos minerais divalentes. Na estrutura química do AF há seis grupos fosfatos aniônicos, nos quais há átomos de oxigênio com elétrons livres, o que facilita a complexação do ácido fítico com cátions divalentes como cobre, zinco, ferro e cálcio. Esta complexação acarreta a diminuição da biodisponibilidade desses minerais no organismo,³ o que representa efeito antinutricional. Entretanto, esse fenômeno em seres humanos indica pouca ou nenhuma alteração nas quantidades de minerais normalmente presentes no organismo em adultos saudáveis.⁵ De acordo com Seibel & Beléia,¹⁴ a biodisponibilidade de zinco não é afetada pela presença do ácido fítico e a absorção dos minerais por humanos depende do seu estado de saúde e das características alimentares e sociais.

Entretanto, o que tem chamando a atenção de pesquisadores da área da saúde são os efeitos benéficos do ácido fítico, que também estão relacionados à suas propriedades quelantes. Como o ácido fítico se liga a íons minerais, há um bloqueio da oxidação de lipídios, agindo assim como um potente antioxidante.¹ Acredita-se que essa função antioxidante seja responsável pelos efeitos anticarcinogênicos e antineoplásicos do ácido fítico no organismo, razão pela qual há grande interesse no estudo da ação do ácido fítico em humanos.^{5,15}

Contudo, é importante conhecer os mecanismos de ação do ácido fítico, para que os seus efeitos benéficos possam sobrepor aos efeitos antinutricionais no organismo. Em relação a isso, Kumar et al.⁴ constataram que a concentração do ácido fítico é a principal responsável pelas diferenças de função. Uma concentração de ácido fítico acima de 10%, considerada alta, faz com que esse composto atue

* Estudante – Universidade Norte do Paraná – UNOPAR – 86041-120 – Londrina – PR – Brasil.

** Pesquisador – Embrapa Soja – 86001-970 – Londrina – PR – Brasil. E-mail: malvares@cnpso.embrapa.br.

*** Docente – UNOPAR – 86041-120 – Londrina – PR – Brasil.

**** Analista – Embrapa Soja – 86001-970 – Londrina – PR – Brasil.

como substância antinutricional. Porém, em concentrações mais baixas a ação funcional é a que prevalece. Outros estudos mostraram que teores iguais a 0,035% foram suficientes para que houvesse ação antioxidante, e consequente proteção contra esteatose hepática.⁹

Assim sendo, é importante conhecer os teores de ácido fítico em soja e seus alimentos derivados, afim de que os consumidores tenham garantias dos benefícios da sua inclusão na dieta. A determinação de teores de ácido fítico que propiciem benefícios à saúde, em alimentos como a soja, aumentará a credibilidade da soja na redução dos riscos de diversas doenças crônicas e degenerativas. Para tal comprovação, as análises dos teores de ácido fítico em cultivares de soja cultivados em localidades distintas são necessárias, pois de acordo com Kumar et al.⁴ existe variação significativa nos teores de ácido fítico presente na soja, a qual depende da cultivar utilizada, do tipo de solo onde foi cultivada, de fatores climáticos e da utilização ou não de fertilizantes contendo fosfatos.

Desse modo, para mostrar a qualidade de medições químicas uma investigação da eficiência do método de quantificação de ácido fítico em soja é necessária, oferecendo informações importantes a respeito do processo analítico e obtendo maior confiabilidade nos resultados apresentados.

O objetivo desse trabalho foi verificar a eficiência do método empregado para determinação do teor de ácido fítico e quantificar o teor de ácido fítico em cultivares de soja cultivados em diferentes regiões dos estados do Paraná e São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os cultivares de soja BRS 284, CD 215, NK 3363, BRS 317, VMAX convencional e VMAX RR transgênica da safra 2008/2009 foram cultivados na região de Londrina (Latossolo Vermelho distroférrico), Ponta Grossa (Latosolo Vermelho-Amarelo), São João do Ivaí (Nitossolo Vermelho eutroférrico), no estado do Paraná e Cândido Mota (Latossolo Vermelho distrófico), no estado de São Paulo. Nestas áreas, com fertilidade do solo construída, a adubação foi realizada em função da análise de solo, aplicando-se, em função da eficiência do fertilizante, as quantidades de nutrientes que atendem o potencial de exportação dos grãos e as exigências nutricionais das culturas.

Os grãos de cada uma das cultivares foram triturados em micro moinho e a farinha obtida foi utilizada para determinação dos teores de ácido fítico. A metodologia utilizada para determinação do teor de ácido fítico consistiu-se na sua extração com ácido clorídrico (HCl) 0,8 M, separação por cromatografia de troca iônica com resina Dowex 1x2-200 e cloreto de sódio (NaCl) 0,7 M como eluente, e quantificação por espectrofotometria a 500 nm, descrita por Latta & Eskin⁶ com modificações de Ellis & Morris.²

Determinação da Eficiência da Metodologia de Extração e Quantificação

A eficiência da metodologia utilizada para a extração e quantificação do ácido fítico nas amostras estudadas foi avaliada com a adição de ácido fítico em farinha de soja da cultivar BRS 257, semeada em Londrina no ano de 2009. O teor de ácido fítico desta farinha foi determinado previamente conforme metodologia descrita por Latta & Eskin⁶ com modificações de Ellis & Morris.² Em alíquotas de 10 g de farinha de soja foram adicionados 0,2225 g e 0,4450 g de uma solução padrão de ácido fítico (inositol hexaphosphoric acid, 45 wt% - Acros) correspondendo a um aumento de 1% e 2% de ácido fítico nas amostras. Para homogeneizar e fixar o ácido fítico na farinha de soja foi realizada uma diluição das amostras em água na proporção de 1:3 (p/v), seguida de agitação constante em agitador magnético durante uma hora. Posteriormente, estas amostras foram congeladas, liofilizadas até a secagem total e utilizadas para extração e determinação do teor de ácido fítico.^{2,6} Foram realizadas três extrações para cada adição de ácido fítico e triplicatas de cada análise.

A eficiência da extração e quantificação do ácido fítico (E) foi calculada conforme a expressão:

$$E(\%) = [(C_1 - C_2)/C_3] * 100 \text{ onde}$$

C₁: concentração final na amostra com adição de ácido fítico;

C₂: concentração final na amostra sem adição de ácido fítico;

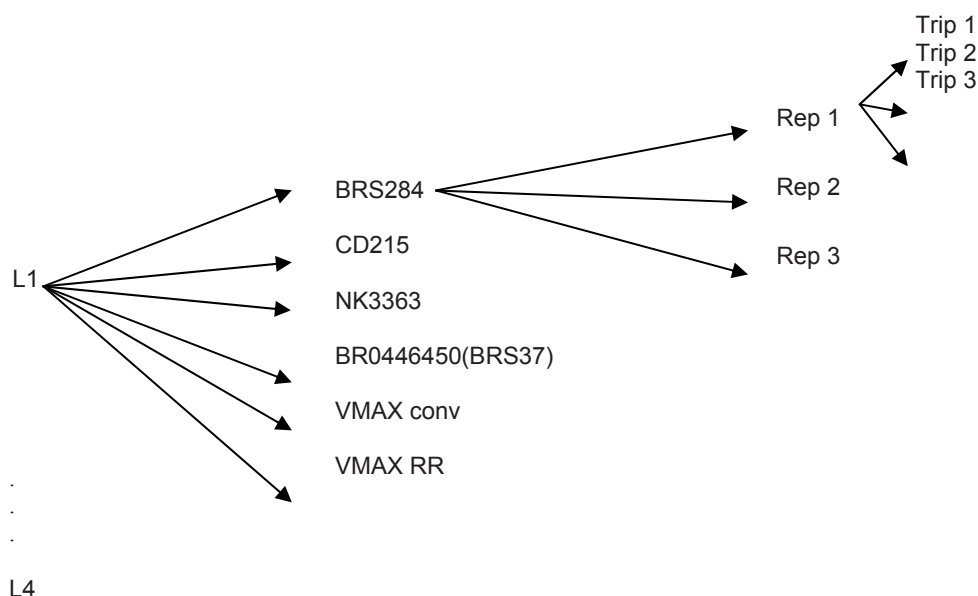
C₃: concentração de ácido fítico adicionada nas amostras.

Planejamento experimental

Para a determinação do teor de ácido fítico nas cultivares de soja foi realizado um delineamento experimental inteiramente casualizado considerando um esquema fatorial 4x6 (quatro locais de cultivo e seis cultivares). Os locais foram identificados de 1 a 4 da seguinte forma: 1= Cândido Mota (SP), 2= Londrina (PR), 3= Ponta Grossa (PR) e 4= São Jorge do Ivaí (PR). Foram utilizadas cinco cultivares convencionais e uma cultivar transgênica codificadas de 1 a 6, da seguinte forma: 1= BRS 284, 2= CD 215, 3= NK 3363, 4= BRS 317, 5= VMAX convencional e 6= VMAX RR transgênica.

Modelo Estatístico

O modelo estatístico empregado foi o de Teoraf = m + Local (L) + Cultivar (C) + LC + e. Este modelo foi o mais adequado, sendo possível casualizar todas as combinações de local e cultivar. O material (m) de cada cultivar (C), de cada local (L) foi dividido em três porções (LC), das quais cada uma originou as (três) triplicatas. O número de parcelas experimentais foi de 72, que corresponde a 4 L*6*3 (Figura 1). Os experimentos foram realizados aleatoriamente.



L4
FIGURA 1 – Fluxograma das análises de teor de ácido fítico considerando local de cultivo(Ln), cultivares (C), repetições (LC) e triplicatas.

Análises Estatísticas

Os dados referentes aos teores de ácido fítico das amostras foram tratados estatisticamente pelos programas SAS-Statistical Analysis System¹³ e Sanest.¹⁷ Foi feita análise de variância (ANOVA) e aplicado o Teste de Tukey. Para a constatação de significância estatística foram utilizadas diferenças mínimas significativas (DMS) distintas para local e cultivar representando variação quando o DMS foi igual ou maior que 0,06931 e 0,07721 respectivamente e coeficiente de variação de 1,571%. Para os resultados de determinação da eficiência do método de extração e quantificação do teor de ácido fítico, o coeficiente de variação foi 0,444% com DMS de 1,90 e 1,60 para a adição de 1% e 2% do padrão de ácido fítico, respectivamente. Considerou-se 5% como nível estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eficiência da Metodologia de Extração e Determinação do Teor de ácido Fítico em Grãos de soja

A eficiência do método de extração e determinação do teor de ácido fítico foi de 92,5% e 88% para a adição 1% e 2% de AF (Tabela 2), demonstrando que a metodologia foi mais eficiente para extração e determinação de quantidades menores de AF (adição de 1%), embora com a adição de 2% ainda houve uma boa eficiência, acima de 86%.

No entanto, concentrações maiores de AF a serem adicionados em farinha de soja implicariam na perda da eficiência, pela possível saturação da resina da coluna de troca iônica, onde ocorre a separação desse composto, ou dificuldade de agregação do AF adicionado à farinha de soja. Assim sendo, a eficiência diminui quando a quantidade de AF aumenta. Contudo, a metodologia testada pode ser aplicada

para determinação do teor de AF em soja, pois os teores de ácido fítico nesse grão variam de 1 a 3%.^{12,16}

O coeficiente de variação encontrado foi de 0,444% indicando que o método foi preciso. Segundo Pimentel-Gomes,¹⁰ quanto menor o coeficiente de variação (CV%) mais preciso é um método ou experimento e considera-se como bom o método ou experimento que possui um CV abaixo de 10%. Portanto, os resultados indicaram que esse procedimento de extração e determinação de ácido fítico utilizado foi adequado e eficiente.

Influência do local de cultivo e da cultivar no teor de ácido fítico nos grãos de soja

Os teores de ácido fítico em grãos de soja das cultivares analisadas variaram de 1,131 a 2,435 g 100 g⁻¹ (Tabela 1), e são semelhantes aos observados por Kumar et al.,⁴ Raboy et al.¹² e Wang¹⁶ observaram em seus estudos que a concentração de ácido fítico pode chegar até a atingir 3 g 100 g⁻¹.

A cultivar BRS 317 apresentou a maior variação no teor de ácido fítico entre as regiões de cultivo e a cultivar NK 3363 a menor. As variações nos teores de AF para uma mesma amostra cultivada em diferentes locais podem ser explicadas pela variação na quantidade de fósforo presente no solo das distintas regiões. Raboy et al.¹¹ afirmaram que quanto maior a quantidade desse elemento no solo, maiores serão os teores de ácido fítico nos grãos de soja. Além disso, segundo Kumar et al.,⁴ há outros fatores que também podem interferir na concentração de ácido fítico nos grãos de soja, como alterações climáticas, aplicação de fertilizantes fosforados e pH do solo no qual a planta está se desenvolvendo. Se o pH do solo nas regiões de cultivo for próximo da neutralidade o teor de ácido fítico nos grãos pode aumentar.

Tabela 1 – Teores de ácido fítico ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) nos grãos de soja de diferentes cultivares cultivadas em quatro regiões de cultivo distintas, na safra de 2008/2009.

Cultivares	Regiões de cultivo			
	Candido Mota (SP)	Londrina (PR)	Ponta Grossa (PR)	São Jorge do Ivaí (PR)
BRS 284	1,820 bD*	1,335 cBC	1,742 bD	2,078 aB
CD 215	2,344 aA	1,443 cB	1,836 bCD	2,327 aA
NK 3363	2,112 aB	1,745 cA	1,856 bC	1,844 bcC
BRS 317	2,435 aA	1,131 dD	1,983 bB	1,626 cD
VMAX	2,097 aB	1,236 cCD	2,070 aAB	1,510 bE
VMAX RR	1,966 bC	1,437 dB	2,170 aA	1,562 cDE

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna não diferem significativamente ($p > 0.05$).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais na linha não diferem significativamente ($p > 0.05$).

CV=1,571%

*Média de 9 determinações.

Tabela 2 – Eficiência da metodologia de extração e determinação do teor de ácido fítico em amostras de soja adicionadas de 1% e 2% de padrão de ácido fítico (AF).

Extração	AF adicionado (%)	Recuperação (%) *	Eficiência (%)
1 ^a	1	0,930	93,0
2 ^a	1	0,925	95,5
3 ^a	1	0,920	92,0
Média de Eficiência			92,5
1 ^a	2	0,888	88,8
2 ^a	2	0,863	86,3
3 ^a	2	0,888	88,8
Média de Eficiência			88,0

* Média de triplicatas para cada extração. CV: 0,444%.

Com base nessas afirmações, supõe-se que haveria uma maior concentração de fósforo no solo e o pH do mesmo estaria mais próximo da neutralidade na região de Cândido Mota, uma vez que das seis cultivares analisadas, quatro delas apresentaram maiores teores de ácido fítico. Entretanto, em Londrina, a quantidade de fósforo do solo seria menor e o pH do solo da região de cultivo estaria distante da neutralidade, pois o teor de ácido fítico encontrado nos grãos de soja das cultivares analisadas foi o mais baixo para todas as cultivares.

Os teores de ácido fítico determinados foram os menores na região de Londrina, independente da cultivar em comparação com os teores encontrados nas demais regiões. Em todas as cultivares de soja analisadas os teores de ácido fítico sofreram variações estatísticas significativas, quando se comparou o local de cultivo.

Outro fator que pode influenciar o conteúdo (teor ou concentração) de ácido fítico nas cultivares de soja é a sua variabilidade genética que existe entre as cultivares. Os resultados encontrados por Raboy et al. ¹¹ demonstraram

essa influência, pois o teor de ácido fítico de 20 genótipos de soja variaram de 1,88 a 2,77 $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ quando cultivados em um mesmo local. Essa característica foi também encontrada nesse trabalho, onde foram encontrados teores de AF diferentes para uma mesma amostra cultivada em locais diferentes e, também, variação nos teores de ácido fítico de cultivares diferentes, demonstrando assim a influência do aspecto genético. Essa variabilidade genética possivelmente é ratificada pelas diferenças na concentração de ácido fítico encontradas nas diferentes cultivares de soja, como também foi demonstrado no estudo realizado por Mandarino et al. ⁸ com 18 cultivares de soja diferentes, cujos resultados variaram de 1,7 a 2,7 $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ entre as cultivares cultivadas na região de Londrina na safra 2002/2003.

Outra correlação importante a ser destacada é a diferença nos teores de ácido fítico encontrados na cultivar geneticamente modificada (VMAX RR) e na VMAX convencional. Com exceção da região de São Jorge do Ivaí, houve diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os teores de ácido fítico da cultivar geneticamente

modificada e da convencional, indicando mais uma vez que fatores como a variabilidade genética influenciam no teor de ácido fítico.

CONCLUSÃO

A extração do ácido fítico com ácido clorídrico, seguida de separação por cromatografia de troca iônica com resina e cloreto de sódio como eluente, e quantificação por espectrofotometria, foi eficiente, indicando a sua utilização para análises do teor de ácido fítico em amostras de soja.

A variabilidade genética das cultivares de soja, o local de cultivo, os tratamentos culturais como a adubação com fosfatos e os fatores climáticos podem influenciar nos teores de ácido fítico nos grãos de soja, sendo que a cultivar BRS 317 apresentou a maior variação no teor de ácido fítico entre as regiões de cultivo e a cultivar NK 3363, a menor.

AGRADECIMENTOS

A Embrapa Soja pela oportunidade de estágio e pela concessão da bolsa de estudos.

MOREIRA, A. A.; MANDARINO, J. M. G.; NEVES-SOUZA, R. D.; LEITE, R. S.; OLIVEIRA, M. A. Phytic acid content in soybean cultivars grown in different locations of Paraná and São Paulo states. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 23, n. 3, p. 393-398, jul./set. 2012.

■**ABSTRACT:** Phytic acid (PA) occurs in soybean seeds and it presents beneficial and deleterious characteristics to the human health. The aim of this study was to evaluate the efficiency of the analysis method for quantification of phytic acid in soybeans and quantify the amount of phytic acid in grains of six soybean cultivars cultivated at four sites. For the extraction of phytic acid was used hydrochloric acid (HCl) 0.8 M eluting with sodium chloride (NaCl) 0.7 M in column Dowex 1x2-200. The cultivars were BRS 284, CD 215, NK 3363, BRS 317, VMAX conventional and VMAX RR genetically modified and local were the counties of Cândido Mota (SP), Londrina (PR), Ponta Grossa (PR) and São Jorge do Ivaí (PR). The results showed that the efficiency of extraction methodology and quantification of phytic acid was excellent (92.5 and 88.0% for adding 1 and 2% of the phytic acid respectively), indicating its use for analysis of samples of soybeans. Among the samples, the results ranged from 1.131 to 2.435 g 100 g⁻¹ of phytic acid. The BRS 317, cultivated in Cândido Mota had the highest content of AF (2.435 g 100 g⁻¹), but in Londrina this sample showed the lowest level (1.131 g 100 g⁻¹). All cultivars showed significant variation in phytic acid content in relation to the growing site. The genetic variability of soybean, the local cultivation, cultivation and fertilization with phosphates and climatic factors can influence the levels of phytic acid in soybeans.

■**KEYWORDS:** Glycine max; phytate; functional compound.

REFERÊNCIAS

1. AHN, H. J. et al. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. *Food Chem.*, London, v. 88, n. 2, p. 173-178, 2004.
2. ELLIS, R.; MORRIS, R. Appropriate resin selection for rapid phytate analysis by ion-exchange chromatography. *Cereal Chem.*, Saint Paul, v. 63, p. 58-59, 1986.
3. HARLAND, B. F.; NARULA, G. Phytate and its hydrolysis products. *Nutr. Res.*, Tarrytown, v. 19, n. 6, p. 947-996, 1999.
4. KUMAR, V. et al. Phytic acid in Indian soybean: genotypic variability and influence on growing location. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 86, n. 9, p. 1523-1526, 2005.
5. LAJOLO, F. M. et al. Beneficial (antiproliferative) effects of different substances. In: MUZQUIZ, M. et al. (Ed.) **Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and oilseeds**. Wageningen: Wageningen Academic, 2004. p. 123-135.
6. LATA, M.; ESKIN, M. A simple and rapid method for phytate determination. *J. Agric. Food Chem.*, Easton, v. 28, p. 313-315, 1980.
7. MANDARINO, J. M. G. Compostos antinutricionais da soja: caracterização e propriedades funcionais. In: COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos**. Rio de Janeiro: Rubio, 2010. p. 177- 192.
8. MANDARINO, J. M. G. et al. Caracterização química de cultivares de soja desenvolvidas pela Embrapa Soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 26., 2004, Ribeirão Preto. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, Fundação Meridional, 2004. p. 47-48. (Embrapa Soja. Documentos, 234).
9. ONOMI, T.; KATAYAMA, Y. O. Effect of dietary level of phytic acid on hepatic and serum lipid status in rats fed a high-sucrose diet. *Biosci., Biotechnol. Biochem.*, Tokyo, v. 68, n.6, p.1379-1381, 2004.
10. PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. São Paulo: Ed. F. Pimentel-Gomes, USP-Escola superior de agricultura Luiz de Queiroz, 2000. p. 477.
11. RABOY, V.; DICKINSON, D. B.; BELOW, F. E. Variation in seed total phosphorus, phytic acid, zinc, calcium, magnesium, and protein among lines of Glycine max and G. soja. *Crop Sci.*, Madison, v. 24, n. 3, p. 431-434, 1984.

12. RABOY, V. et al. Genetics of phytic acid synthesis and accumulation. In: REDDY, N. R.; SATHE, S. K (Ed.) **Food phytates**. Florida: CRC, 2002. p. 63-83.
13. SAS INSTITUTE, **SAS user's guide**: statistics. Cary, 2001. version 8.2.
14. SEIBEL, N. F.; BELÉIA, A. D. P. Características químicas e funcionalidade tecnológica de ingredientes de soja [Glycine Max (L.) Merrill]: carboidratos e proteínas. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 113-122, abr./jun. 2009.
15. SHAMSUDDIN, A. M. Anti-cancer function of phytic acid. **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford: v. 37, p. 769-782, 2002.
16. WANG, C. Y. Effects of processing on quantity and quality of soy phytochemicals. In: CHINA & INTERNACIONAL CONFERENCE & EXHIBITION ON SOYBEAN TECHNOLOGY & DEVELOPMENT COOPERATION (CISCE). 2002, Beijing. **Proceedings...** Beijing: CISCE Technical Committee, 2002. p. 144-145.
17. ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A.; SILVEIRA JÚNIOR, P. **Sistema de análise estatística**. Pelotas: UFPEL, 1982. 63 p.

Recebido em: 19/10/2011

Aprovado em: 05/07/2012