

Caracterização de Linhagens de Milho Quanto à Concentração de Ácido Fítico, Zn e Fe e à Razão Molar Ácido Fítico:Fe e Ácido Fítico:Zn

Valéria A. V. Queiroz¹, Paulo Evaristo O. Guimarães¹, Estefânia O. Guedes², Vanessa D. B. Vasconcelos², Paulo Eduardo A. Ribeiro³, Lauro José Guimarães¹ e Luciano R. Queiroz⁴

¹Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, valeria@cnpms.embrapa.br, evaristo@cnpms.embrapa.br, lauro@cnpms.embrapa.br, ²Bolsistas PBIC/CNPq e FAPEMIG, estefania.guedes@yahoo.com.br, nessadbv@yahoo.com.br, ³Analista, pauloedu@cnpms.embrapa.br, ⁴Bolsista pós-doutorado UFV/CNPq

Palavras-chave: *Zea mays*, melhoramento genético, biodisponibilidade, biofortificação.

O Fe e o Zn possuem diversas funções no organismo humano e as deficiências dos mesmos levam a consequências graves, com grande impacto na saúde e no desenvolvimento econômico dos países (Hunt, 2005). Devido à extensão e à gravidade dos sintomas, as deficiências de Fe e de Zn são consideradas problemas de saúde pública, atingindo cerca de 2 bilhões de pessoas, principalmente nas regiões mais pobres do mundo. Muitas estratégias consideradas de baixo custo e relativamente simples do ponto de vista técnico têm sido propostas e adotadas na tentativa de reduzir a ocorrência das deficiências desses minerais, como, o fornecimento de suplementos medicamentosos, a fortificação de alimentos pós-colheita e a alteração nos hábitos alimentares (Osemдарp et al., 2003, Davidsson e Nestel, 2003). No entanto, para comunidades que não têm acesso a estas medidas, como as que vivem da agricultura de subsistência, ou em regiões sem infra-estrutura de mercado ou de sistema de saúde, tais medidas tornam-se inadequadas e sem sucesso.

O melhoramento genético convencional e a engenharia genética têm sido utilizados no enriquecimento de alimentos, complementando, de forma sustentável e de baixo custo, as intervenções nutricionais já existentes (Welch e Graham, 2005). Cultivares biofortificadas têm potencial de fornecer benefícios contínuos a um custo recorrente inferior ao da suplementação e da fortificação de alimentos pós-colheita, além das sementes obtidas poderem ser adaptadas às condições de crescimento dos diversos ecossistemas. Desta forma, a introdução de produtos agrícolas, por meio de cultivares melhoradas, que apresentem maiores concentrações de minerais e vitaminas poderá auxiliar na redução de deficiências humanas de micronutrientes alcançando, principalmente, as populações com limitado acesso aos sistemas formais de mercado e de saúde.

Nesse contexto, a Embrapa Milho e Sorgo vem selecionando linhagens de milho com maiores concentrações de Fe, Zn com o objetivo de obter cultivares biofortificadas para uso na alimentação humana. O milho é utilizado como base da alimentação diária de grande parte da população mais pobre do mundo. No entanto, esse cereal é rico em ácido fítico (AF), substância capaz de formar complexos insolúveis com minerais e proteínas reduzindo, assim, a disponibilidade desses nutrientes para absorção no trato intestinal. A utilização de dietas ricas em AF tem sido considerada uma das principais causas da deficiência de Fe e Zn nessas regiões (Ghandilyan et al., 2006). Sendo assim, além de maiores teores de Fe e Zn, teores reduzidos de AF são desejáveis no melhoramento genético de diversas culturas.

Vários estudos têm demonstrado o efeito negativo de fitatos na absorção de Zn e de Fe, acarretando deficiências nutricionais tanto em animais quanto em humanos (Lönnerdal, 2002). Prasad (1990), citado por Whittaker (1998), observou deficiência de Zn, em crianças de áreas rurais do Irã e Egito, resultante da reduzida absorção devido à dietas que, apesar de conterem concentrações aceitáveis de Zn, tinham quantidades elevadas de fibra e fitato. Por outro lado, resultados de estudos piloto no Colorado e em comunidades consumidoras de milho da Guatemala mostraram que grãos geneticamente selecionados com baixo teor de AF possuem potencial para serem usados como estratégia primária ou complementar na prevenção da deficiência humana de Zn (Hambidge et al., 2003).

O ácido fítico (AF) é a principal forma de armazenamento de fósforo inorgânico nas sementes dos cereais e das leguminosas. Em sementes maduras constitui cerca de 65% a 80% do P total. Variações quantitativas significantes de AF têm sido observadas entre genótipos, linhagens e cultivares de várias espécies (Raboy, 2000).

Vários métodos têm sido utilizados para estimar a biodisponibilidade de Fe e de Zn nos alimentos, sendo a razão molar ácido fítico (AF)/mineral um dos mais simples e menos onerosos (Lazzari, 2006).

Visando o desenvolvimento de cultivares de milho biofortificadas com ferro e zinco para utilização em regiões com risco de deficiências nesses nutrientes, esse trabalho tem como objetivo caracterizar linhagens de milho do Programa de melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo, com altos teores de Fe e Zn, em relação à disponibilidade desses minerais *in vitro* por meio das razões molares AF/Fe e AF/Zn.

Foram utilizados grãos provenientes de 22 linhagens de milho com teores mais altos de Fe e de Zn, previamente selecionadas pelo Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo. Os grãos foram moídos em moinho tipo Willey com tela de 20 mesh e a farinha obtida foi utilizada nas análises químicas. Os teores de Fe e Zn foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica e o teor de P segundo metodologia proposta por Silva (1999) com oxidação da matéria orgânica via úmida com solução nitroperclórica (4:1). O ácido fítico foi analisado pelo método de Haug e Lantzsch (1983). Para o cálculo da razão molar foi aplicada a equação: $RM = AF/PMAF/min/PM \text{ min}$. Em que: RM = razão molar AF/mineral, AF = ácido fítico (g), MA = massa amostra (g), PMAF = peso molecular do ácido fítico, min = mineral (g de Fe ou de Zn), PM min = peso molecular do mineral (Fe ou Zn).

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com 3 repetições. Os dados obtidos foram avaliados por ANOVA e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Scott e Knott a 1 % de probabilidade.

Observa-se, na Tabela 1, variabilidade genética significativa entre as linhagens de milho quanto aos teores de AF (0,50 a 1,04%), fósforo (0,23 a 0,39%), zinco (0,0019 a 0,0037%) e ferro (0,0013 a 0,0036%). A variação nos teores de AF corroboram com Raboy (2000) que relata variações significativas do mesmo em diferentes culturas. Liu et al. (2005) verificaram variação de 0,685 a 1,03% de AF em 72 cultivares de arroz coletadas em diferentes áreas da China.

Verifica-se que, apesar do ácido fítico ser a principal forma de armazenamento de P em sementes (Raboy, 2000), existem linhagens com concentrações mais baixas de AF e teores médios de fósforo como é o caso da 560975 e da 560978 proporcionando relação AF/P de 1,96 e 1,86, respectivamente (Tabela 2). A linhagem 560977 apresentou também um dos menores valores de AF (0,67%) e alta concentração de P, com menor relação AF/P (1,73). Desta forma, o

baixo teor de ácido fítico, nessas linhagens, não afetaria a performance das mesmas em relação a parâmetros agronômicos relacionados ao fósforo.

Tabela 1 - Teores de ácido fítico, P, Zn e Fe em linhagens de milho

	Linhagem	Acido fítico %	P %	Zn %	Fe %
1	560965	1.04 a	0.36 b	0.0025 d	0.0025 b
2	560968	1.02 a	0.37 b	0.0026 c	0.0021 c
3	560973	0.75 f	0.29 e	0.0025 d	0.0016 d
4	560974	0.82 d	0.32 d	0.0019 e	0.0023 c
5	560975	0.50 h	0.25 f	0.0020 e	0.0021 c
6	560977	0.67 g	0.39 a	0.0036 b	0.0035 a
7	560978	0.50 h	0.27 f	0.0027 c	0.0019 d
8	560979	0.78 e	0.28 e	0.0019 e	0.0021 c
9	560982	0.72 f	0.26 f	0.0040 a	0.0013 e
10	560984	0.77 e	0.28 e	0.0027 c	0.0023 c
11	560993	0.90 c	0.32 d	0.0033 b	0.0028 b
12	560995	0.66 g	0.23 g	0.0026 d	0.0025 b
13	560996	0.82 d	0.30 d	0.0024 d	0.0023 c
14	560997	0.80 d	0.29 e	0.0026 c	0.0023 c
15	560998	0.92 b	0.30 d	0.0025 d	0.0025 b
16	560999	0.83 d	0.31 d	0.0020 e	0.0025 b
17	561009	0.78 e	0.30 d	0.0025 d	0.0025 b
18	561010	0.87 c	0.34 c	0.0037 a	0.0036 a
19	561011	0.83 d	0.30 d	0.0029 c	0.0034 a
20	561012	0.88 c	0.31 d	0.0026 c	0.0023 c
21	561013	1.01 a	0.36 b	0.0037 a	0.0027 b
22	561015	0.72 f	0.29 e	0.0027 c	0.0022 c
	Média	0.80	0.31	0.0027	0.0024

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott e Knott ($p < 0,01$).

As razões molares AF/Zn e AF/Fe variaram de 18,0 a 43,5 e de 16,3 a 45,5, respectivamente (Tabela 2). As linhagens 560977 e 560978 apresentaram os menores valores tanto para as razões molares AF/Zn e AF/Fe, observou-se Abebe et al. (2007) encontraram teores de AF de 1,44% e razão molar AF:Zn e AF:Fe de 35,4 e 27,8, respectivamente, em milho consumido no sudeste da Etiópia, valores compatíveis aos encontrados no presente trabalho. Lestienne (2005) estudando o efeito do demolho nas concentrações de AF, Fe e Zn em alguns cereais e leguminosas mostraram teores de 0,00197, 0,00193 e 0,908 % para Fe, Zn e AF, respectivamente, e razão molar AF:Zn de 40,6 e AF:Fe de 34,4, em milho não processado.

É interessante notar que as linhagens 560977 e 560978 apresentaram também melhor desempenho no que tange à relação AF/P. Sendo assim, esses materiais podem ser considerados promissores para o desenvolvimento de cultivares de milho com maiores concentrações de P, Zn e Fe e menor concentração de ácido fítico, o que poderá vir a contribuir para a redução das deficiências de Fe e Zn em populações que utilizam o milho como base da alimentação. No entanto, o estudo in vitro, de materiais provenientes dessas linhagens para efeito de comprovação dos resultados será ainda necessário.

Tabela 2 - Relação ácido fítico/P e razões molares ácido fítico (AF)/Zn e ácido fítico (AF)/Fe em linhagens de milho

	Linhagem	Razão molar		Ácido fítico/P
		AF/Zn	AF/Fe	
1	560965	41.9	35.8	2.85
2	560968	38.4	40.9	2.72
3	560973	29.5	38.6	2.57
4	560974	43.5	30.5	2.54
5	560975	24.1	20.0	1.96
6	560977	18.8	16.3	1.73
7	560978	18.5	22.1	1.86
8	560979	40.2	31.5	2.76
9	560982	18.0	45.5	2.78
10	560984	27.7	27.8	2.71
11	560993	26.7	27.1	2.83
12	560995	25.5	22.8	2.87
13	560996	34.1	29.8	2.74
14	560997	30.3	29.1	2.77
15	560998	36.3	31.7	3.03
16	560999	41.3	28.5	2.64
17	561009	31.5	26.3	2.60
18	561010	23.1	20.7	2.59
19	561011	28.6	20.3	2.72
20	561012	33.2	32.7	2.80
21	561013	26.8	31.8	2.81
22	561015	26.4	27.3	2.50
	média	30.2	29.0	2.6

Referências bibliográficas

ABEBE, Y.; BOGALE, A.; HAMBIDGE, K.M.; STOECKER, B.J.; BAILEY, K.; GIBSON, R.S. Phytate, zinc, iron and calcium content of selected raw and prepared foods consumed in rural Sidama, Southern Ethiopia, and implications for bioavailability. **J Food Comp Anal**, v. 20, p. 161-168, 2007.

DAVIDSSON, L.; NESTEL, P. Efficacy and Effectiveness of Interventions to Control Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia. **International Nutritional Anemia Consultative Group**. Acesso em 12 de janeiro de 2008. Disponível em <http://inacg.ilsa.org/publications/pubslst.cfm?publicationid=521>. 2004.

GHANDILYAN, A.; VREUGDENHIL, D.; AARTS, M.G.M. Progress in the genetic understanding of plant iron and zinc nutrition. **Physiologia Plantarum**, v.126, p. 407-417, 2006.

HAMBIDGE, K.M.; KREBS, N.F.; WESTCOTT, J.E.; MILLER, L.V.; LEI, S.; LAVELY, J.; MAZARIEGOS, M.; SOLOMONS, N.W. **Plant Breeding to Improve the Content &**

Bioavailability of Zinc in Cereals. 2003. Disponível em: <http://members.aon.at/namls/Zinc/Hambidge.html>

HAUG, W.; LANTZSCH, H. Sensitive Method for the Rapid Determination of Phytate in Cereals and Cereal Products. **J. Sci. Food Agric.**, v. 34, p. 1423 – 1426, 1983.

HUNT, J.M. The potential impact of reducing global malnutrition on poverty reduction and economic development. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 14 (CD supplement), p. 10-38, 2005.

LAZZARI, E.N. **Análise de ácido fítico e minerais nos processos de maceração e cocção de soja.** Tese (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Londrina – PR, Universidade Estadual de Londrina, 52p., 2006.

LESTIENNE, I.; MOUQUET-RIVIER, C.; ICARD-VERNIÈRE, C.; ROCHETTE, I.; TRÈCHE, S. The effects of soaking of whole, dehulled and ground millet and soybean seeds on phytate degradation and phy/fe and phy/zn molar ratios. **Int J Food Sci Technol**, v. 40, p. 391-399, 2005.

LIU, Z.; CHENG, F.; ZHANG, G. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. **Food Chemistry**, v.89, n.1, p.49-52, 2005.

LÖNNERDAL, B. Phytic acid-trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. **Int J Food Sci Technol**, v. 37, p. 749-758, 2002.

OSENDARP, S.J.M. The Need for Maternal Zinc Supplementation in Developing Countries: An Unresolved Issue. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 3, p. 817S-827S, 2003.

RABOY, V; GERBASI, P.F.; YOUNG, K.A.; STONEBERG, S.D.; PICKETT, S.G.; BAUMAN, A.T.; MURTHY, P.P.N.; SHERIDAN, W.F.; ERTL, D.S. Origin and Seed Phenotype of Maize *low phytic acid 1-1* and *low phytic acid 2-1*. **Plant Physiology**, v. 124, p. 355-368, 2000.

SILVA, F. C. da. **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes.** 1^a ed. Brasília: Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária, 1999. 370p.

WELCH, R.M.; GRAHAM, R.D. Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 18, p. 299–307, 2005.

WHITTAKER, P. Iron and zinc interactions in humans. **Am J Clin Nutr**, v. 68, p. 442S–6S, 1998.