

LUCIANA FERREIRA DA ROCHA SANT'ANA

MULTIMISTURA ALIMENTAR: BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO,
ZINCO E FERRO E SEU EFEITO NO ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO
AO FERRO EM PRÉ-ESCOLARES

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL

2002

LUCIANA FERREIRA DA ROCHA SANT'ANA

MULTIMISTURA ALIMENTAR: BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO,
ZINCO E FERRO E SEU EFEITO NO ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO
AO FERRO EM PRÉ-ESCOLARES

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA EM: 27 de março de 2002.

Prof^a Josefina Bressan Resende Monteiro
(Conselheira)

Prof. Juraci Alves de Oliveira

Prof^a Silvia Maria Franciscato Cozzolino

Prof. José Ivo Ribeiro Júnior

Prof.a Neuza Maria Brunoro Costa
(Orientadora)

A Deus, presença constante.

Ao meu esposo Eustáquio.

Aos meus filhos Laís e Arthur.

“Senhor, dê pão a quem tem fome; e fome de justiça a quem tem pão”.

(Pe. Paulo Vicente Nobre)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao seu Departamento de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Departamento de Nutrição e Saúde, no qual foram realizados os ensaios biológicos da pesquisa, pela disponibilidade de seu laboratório.

Ao Laboratório de Análises Clínicas Santa Rita, em Viçosa, MG, pela realização dos exames bioquímicos, em especial ao bioquímico José Benedito Fernandes, pela coleta e análise sangüíneas.

À enfermeira Beth, pelo auxílio na coleta sangüínea.

À Prefeitura Municipal de Viçosa, em especial à Secretaria de Educação, pelo apoio.

À Professora Neuza Maria Brunoro Costa, pela dedicação e atenção durante o desenvolvimento dos experimentos, pela contribuição na redação final desta tese e pela inestimável amizade.

Aos Professores Juraci Alves de Oliveira, Josefina Bressan Resende Monteiro e Silvia Maria Franciscato Cozzolino, pelas orientações e sugestões para o enriquecimento da redação final desta pesquisa.

Ao Professor José Ivo Ribeiro Júnior, pelas análises estatísticas e pela contribuição na discussão dos resultados.

À minha amiga Eveline Monteiro Cordeiro de Azeredo, por todo o tempo de convívio, pelo aprendizado e pela amizade e inestimável colaboração.

Às minhas queridas “estagiárias”: Ana Cristina, Rosana, Glauce, Cristiane, Márcia, Míriam e Nádia, pela seriedade e companheirismo no trabalho.

Às minhas colegas Márcia Regina da Silva e Tereza Gontijo de Castro, pelo auxílio prestimoso.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição e Saúde, pela atenção e pelo bom relacionamento.

Aos meus colegas de curso e a todos os funcionários da UFV, pela contribuição a este trabalho.

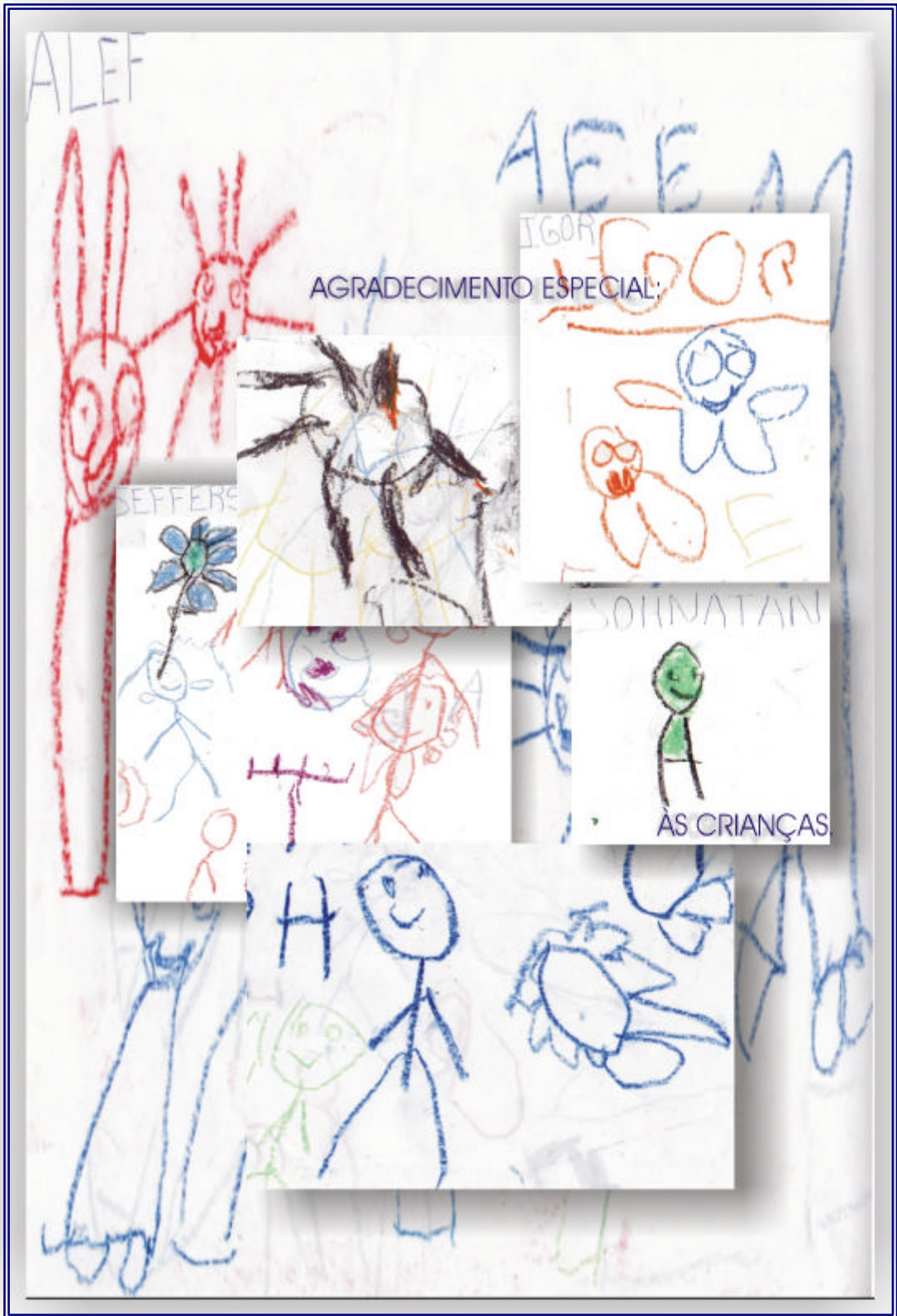
Às professoras, às cantineiras, aos pais e, especialmente, às crianças das creches municipais, pelo apoio, pelo carinho e pela receptividade.

Ao Márlon, pelo auxílio fundamental na apresentação oral e escrita do trabalho final.

À Renata, minha irmã, pela presença constante e pela força e pelas orações.

Aos meus pais, por terem sempre rezado por mim e dado o apoio necessário para chegar ao fim.

A todos que, de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho.



CONTEÚDO

	Página
LISTA DE QUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO 1	9
BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO DE UMA MULTIMISTURA ADICIONADA A UMA DIETA DE ARROZ E FEIJÃO.....	9
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
2.1. Preparo e análise dos ingredientes.....	12
2.1.1. Multimistura	12
2.1.2. Arroz e feijão.....	13
2.1.3. Determinação do teor de cálcio	13
2.1.4. Desmineralização das vidrarias	13
2.2. Biodisponibilidade de cálcio	13

	Página
2.2.1. Modelo experimental.....	12
2.2.1.1. Preparo da solução radioativa.....	14
2.2.2. Composição e preparo das dietas experimentais	14
2.2.3. Análise da radioatividade	15
2.2.4. Delineamento experimental.....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1. Análise do teor de cálcio dos ingredientes	17
3.2. Ensaio de biodisponibilidade de cálcio	17
4. CONCLUSÃO.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO 2	25
BIODISPONIBILIDADE DE ZINCO EM UMA MULTIMISTURA ALIMENTAR.....	25
1. INTRODUÇÃO.....	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.1. Preparo e análise dos ingredientes.....	27
2.1.1. Multimistura	27
2.1.2. Determinação do teor de zinco	28
2.1.3. Desmineralização das vidrarias	28
2.2. Biodisponibilidade de zinco	28
2.2.1. Modelo experimental.....	28
2.2.2. Composição e preparo das dietas experimentais	29
2.2.3. Respostas teciduais analisadas	29
2.2.4. Delineamento experimental.....	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
3.1. Análise do teor de zinco da multimistura	32
3.2. Ensaio de biodisponibilidade de zinco	32
4. CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

	Página
CAPÍTULO 3	43
BIODISPONIBILIDADE DE FERRO DE UMA MULTIMISTURA ISOLADAMENTE E NO CONTEXTO DE UMA DIETA DE ARROZ E FEIJÃO	43
1. INTRODUÇÃO.....	43
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	46
2.1. Preparo e análise dos ingredientes.....	46
2.1.1. Multimistura	46
2.1.2. Arroz e feijão.....	47
2.1.3. Determinação do teor de ferro.....	47
2.1.4. Desmineralização das vidrarias	47
2.2. Biodisponibilidade de ferro	47
2.2.1. Modelo experimental.....	47
2.2.2. Composição e preparo das dietas experimentais	48
2.2.3. Determinação da concentração de hemoglobina	50
2.2.4. Delineamento experimental.....	50
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.1. Análise do teor de ferro dos ingredientes	51
3.2. Ensaio de biodisponibilidade de ferro	51
4. CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
CAPÍTULO 4	62
EFEITO DE UMA MULTIMISTURA ALIMENTAR NO ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO FERRO EM PRÉ-ESCOLARES.....	62
1. INTRODUÇÃO.....	62
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	65
2.1. Multimistura	65
2.2. Efeito da multimistura alimentar no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares	66
2.2.1. Diagnóstico de saúde e nutrição da população em estudo	66

	Página
2.2.2. Período de intervenção nutricional	48
2.2.3. Avaliação da intervenção	69
3.2.4. Análise estatística dos resultados	72
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.1. Caracterização da população em estudo.....	73
3.2. Avaliação do período de intervenção	81
4. CONCLUSÃO.....	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
CONCLUSÃO GERAL	95

LISTA DE QUADROS

	Página
CAPÍTULO 1	
1. Composição das dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de cálcio (g/3 g).....	15
2. Teor de cálcio estimado nas dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de cálcio (mg/3 g).....	15
3. Resumo da análise de variância da absorção fracional de ⁴⁵ Ca nos fêmures direitos dos animais experimentais.....	18
CAPÍTULO 2	
1. Composição das dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de zinco (g/kg de dieta).....	30
2. Resumo da análise de variância dos parâmetros estudados no ensaio de biodisponibilidade de zinco.....	33
3. Média do ganho de peso segundo a fonte e dose de zinco recebidas pelos animais experimentais.....	34
4. Média do teor de zinco no fêmur segundo a fonte e dose de zinco recebidas pelos animais experimentais.....	34

5. Teor médio de zinco no fígado, rim, cérebro e soro (mg/g) e atividade de fosfatase alcalina (U.I./L) nos animais experimentais..... 35

CAPÍTULO 3

1. Composição das dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de ferro (g/100 g)..... 49
2. Média dos ganhos de peso dos ratos alimentados com três dietas contendo sulfato ferroso (padrão), multimistura ou arroz + feijão adicionada de multimistura com 6, 12 e 24 mg de ferro/kg de dieta.... 52
3. Média dos ganhos de hemoglobina dos ratos alimentados com dietas contendo sulfato ferroso (padrão), multimistura ou arroz + feijão adicionada de multimistura com 6, 12 e 24 mg de ferro/kg de dieta.... 54

CAPÍTULO 4

1. Produtos de panificação (bolos e biscoitos) servidos nas creches em estudo, com os respectivos teores de ferro (mg/porção) 70
2. Distribuição percentual dos pré-escolares estudados, segundo a faixa etária e a creche de origem, no período inicial..... 74
3. Estado nutricional dos pré-escolares estudados nas três creches municipais, segundo a classificação do “z-score”, com relação aos índices peso/idade (P/I), peso/estatura (P/E) e estatura/idade (E/I), no período inicial..... 75
4. Consumo diário médio de nutrientes das dietas oferecidas pelas creches municipais e pelos domicílios, no período inicial 76
5. Prevalência de anemia nas três creches municipais participantes do estudo, segundo a faixa etária, no período inicial 77
6. Estado nutricional dos pré-escolares estudados nas três creches municipais, segundo a classificação do “z-score”, para os índices peso/idade (P/I), peso/estatura (P/E) e estatura/idade (E/I), no período final 79
7. Consumo diário médio de nutrientes das dietas oferecidas pelas creches municipais e pelos domicílios, no período final..... 80

	Página
8. Diferença média entre os índices antropométricos peso/estatura, peso/idade e estatura/idade avaliados no início e final do estudo	82
9. Diferença média de ingestão, por nutriente, em cada creche, no período estudado.....	83
10. Parâmetros bioquímicos analisados nas crianças no início e final do estudo.....	84

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
1. Média da absorção fracional de cálcio nos fêmures dos animais que receberam dieta de arroz+feijão+multimistura (A+F+MM) ou arroz+feijão (A+F) ou multimistura (MM) contendo 9 μCi de ^{45}Ca	19
CAPÍTULO 3	
1. Estimativas dos ganhos de peso (g) dos animais em relação ao nível de ferro na dieta (mg/kg).....	53
2. Estimativas dos ganhos de hemoglobina (g/dL) em relação ao nível de ferro na dieta	55
CAPÍTULO 4	
1. Produtos de panificação sem acréscimo de ferro (1), contendo sulfato ferroso (2) ou multimistura (3) servidos nas creches municipais durante o período de intervenção nutricional.....	71

RESUMO

SANT'ANA, Luciana Ferreira da Rocha, D.S. Universidade Federal de Viçosa, março de 2002. **Multimistura alimentar: biodisponibilidade de cálcio, zinco e ferro e seu efeito no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares.** Orientadora: Neuza Maria Brunoro Costa. Conselheiras: Josefina Bressan Resende Monteiro e Maria Goreti de Almeida Oliveira.

A prática da alimentação alternativa vem sendo disseminada no Brasil, principalmente para grupos populacionais vulneráveis do ponto de vista biológico e econômico. Utiliza-se de alimentos não convencionais, ricos em vitaminas e minerais na forma de multimisturas. Com o objetivo de avaliar a biodisponibilidade de minerais fornecidos por uma multimistura, composta por 33% de farinha de trigo, 33% de fubá, 32% de farelo de trigo, 1% de pó de folha de mandioca e 1% de pó de casca de ovo, foram conduzidos três ensaios biológicos para a avaliação da biodisponibilidade de cálcio, zinco e ferro em ratos machos Wistar. A biodisponibilidade de cálcio foi avaliada medindo-se a absorção fracional de ^{45}Ca no fêmur dos animais. Foi observado que a biodisponibilidade do cálcio na mistura arroz+feijão+multimistura (na proporção de 50:48:2) foi superior à encontrada para a multimistura consumida isoladamente, que por sua vez foi similar à oferecida por uma dieta de

arroz+feijão (50:50). A biodisponibilidade de zinco foi avaliada segundo o teor de zinco no fêmur, fígado, rim, soro e cérebro de ratos; bem como sua relação com o ganho de peso e atividade de fosfatase alcalina nos animais experimentais. O zinco fornecido pela multimistura apresentou menor biodisponibilidade quando comparado ao padrão, carbonato de zinco, uma vez que foi observada menor concentração de zinco nos ossos dos animais que receberam multimistura, assim como maior concentração no fígado, menor excreção renal e menor atividade de fosfatase alcalina. A biodisponibilidade de ferro da multimistura foi avaliada isoladamente e no contexto de uma dieta de arroz e feijão. Os resultados mostraram que os animais que receberam multimistura apresentaram menor ganho de peso em relação ao grupo padrão, embora o consumo alimentar entre os dois grupos tenha sido similar; indicando uma menor eficiência alimentar da dieta de multimistura. O ganho de hemoglobina foi estatisticamente igual entre as dietas controle (sulfato ferroso), de multimistura e de arroz+feijão+multimistura (50:48:2). Foi ainda avaliado o efeito da adição desta multimistura no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares, com idades entre 25 e 68 meses, não anêmicas, estudadas por um período de 70 dias. Foram selecionadas três creches que receberam produtos de panificação (bolos e biscoitos) sem adição de ferro (creche placebo, n=9), contendo sulfato ferroso (creche padrão, n=12) ou adicionados de multimistura (creche multimistura, n=15). Os produtos contendo sulfato ferroso tinham o mesmo teor de ferro fornecido por 10g de multimistura, acrescentada às preparações da referida creche. As crianças foram submetidas a análises antropométricas (peso e estatura), dietéticas e bioquímicas (hemoglobina, hematócrito, hemácias, ferritina e ferro sérico), no início e ao final do estudo. O estudo não comprovou efeito de tratamento, fonte de ferro (ferro muito aquém das necessidades orgânicas deste mineral. Os produtos fornecidos cobriam cerca de 10% destas necessidades, não sendo, portanto, suficiente para reverter um quadro de deficiência. O estudo não comprovou efeito de tratamento, fonte de ferro, dado que as creches que receberam suplementação apresentaram redução dos níveis hematológicos avaliados, o que não ocorreu na creche placebo, que não tinham fortificação de ferro nos produtos testados. Em se

tratando de crianças que já tinham um nível de comprometimento no estado nutricional relativo ao ferro, a importância da quantidade de ferro pode ter superado a da fonte, sulfato ferroso ou multimistura, limitando as conclusões quanto à utilização da multimistura em estudo.

ABSTRACT

SANT'ANA, Luciana Ferreira da Rocha, D.S. Universidade Federal de Viçosa, March 2002. **Alimentary multi-mixture: bioavailability of calcium, zinc and iron in pre-school children.** Adviser: Neuza Maria Brunoro Costa. Committee members: Josefina Bressan Resende Monteiro and Maria Goreti de Almeida Oliveira.

The practice of alternative feeding is being disseminated in Brazil, especially for vulnerable groups in the biological and economic aspects. The alternative feeding uses no conventional food, rich in vitamins and minerals in the form of multi-mixtures. With the purpose of evaluating the bioavailability of the minerals supplied by a multi-mixture; three biological tests were conducted for the evaluation of the bio disposability of the Ca, Zn and Fe in the male mice Wistar. The bioavailability of Ca was evaluated by measuring the fractional absorption of ^{45}Ca in the animal's femur. It was observed that the bioavailability of the Ca in the mixture of rice + bean + multi-mixture (in the proportion of 50:48:2), was superior to the found for the separated multi-mixture consumed, and this one was similar to a diet of rice + bean (50:50). The bioavailability of Zn was evaluated according to the content of this element in the femur, liver, kidney, serum and brain of the mice and its relation with the gain of weight an activity of

alkaline phosphatase in the experimental animals. The Zn supplied by the multi-mixture showed a minor bioavailability when compared to the standard, zinc carbonate. It was observed a minor concentration of Zn in the bones of the animals that received the multi-mixture, as well as a greater concentration in the liver, minor renal excretion and minor activity of phosphates alkaline, indicating lower bioavailability of zinc in the diet of multi-mixture. The bioavailability of Fe in the multi-mixture was evaluated separately and in a context of a diet of rice and bean. The results showed that the animals, which received the multi mixture, present lower gain of weight in relation to the pattern group, though the food consume between the two groups had similar results; indicating a lower alimentary efficiency in the multi-mixture diet. The gain of the hemoglobin was the same in the control diets (ferrous sulfate), of multi-mixture and rice + beans + multi-mixture (50:48:2). The effect of the addition in this multi-mixture in the nutritional relative estate of the Fe in pre-school children, around 25 and 68 months, non anemic, studied for a period of 70 days, was also evaluated. Three day nurseries were selected and these ones received panification maintenance (breads and cookies) without the addition of Fe (placebo day nursery, n=9), containing ferrous sulfate (day nursery standard, n=12) or added I the multi-mixture (day nursery with multi-mixture). The products containing ferrous sulfate had the same content of Fe furnished by 10g of multi-mixture, added in the preparation of the day nursery referred. The children were submitted to anthropometrical analysis (weight and height), dietetic and biochemical (hemoglobin, hematocrit, erythrocyte, ferritina and ferrous serum), in the beginning and in the end of the experiment. The products furnished about 10% of these necessities, however, it was not enough to revert the deficiency panel. The study did not prove the effect of the treatment, Fe source, because the day nursery that received supplementation, presented reduction of the hematological levels evaluated, however, this did not occur in the placebo day nursery, which did not have the fortification of Fe in the tested products. Dealing with children who already had a compromising level in the nutritional condition related to the Fe, the importance of the quantity of Fe might have overcome the source, ferrous

sulfate or multi-mixture, limiting the conclusions concerning the utilization of the multi-mixture studied. It can be concluded that the doses of multi-mixtures generally recommended, do not promote improvements in the related nutritional condition of the Fe in the pre-school children.

INTRODUÇÃO GERAL

Na tentativa de combater o grave e crescente problema gerado pela fome – a desnutrição – que atinge enormes segmentos populacionais das áreas menos desenvolvidas do planeta, os estudiosos têm procurado utilizar fontes alternativas de alimentos, isoladas ou em associação, de baixo custo e nutricionalmente adequadas. Inúmeras têm sido as associações alimentares com essa finalidade, dentre elas as elaboradas à base de leguminosas e cereais, como arroz e feijão, produtos amplamente cultivados e de grande consumo, há longo tempo incorporados aos hábitos alimentares das populações (BION et al., 1997).

No Brasil, dentre as diversas formas de intervenção que buscam melhorar o estado nutricional da população, o uso de farinhas múltiplas, ou popularmente conhecidas como multimisturas alimentares, vem se destacando. Constitui alternativa de baixo custo, tendo em vista que se trata da utilização de partes não-convencionais dos alimentos (COSTA et al., 2000). A alimentação alternativa e a sua associação com a recuperação da desnutrição energético-protéica, anemia e hipovitaminoses em crianças, embora tenham sido difundidas em todo o território nacional, vêm sendo debatidas pela comunidade científica e têm gerado controvérsias. Entende-se por alimentação alternativa ou multimisturas os nomes utilizados para designar a proposta de enriquecer alimentos da dieta habitual da população brasileira com a combinação de

alimentos não-convencionais, entre eles: farelo de arroz, farelo de trigo, casca de ovo, sementes de vegetais e cascas de frutas e verduras (BITTENCOURT, 1998). Assim, um dos pontos-chaves da alimentação alternativa é a utilização de multimisturas, que consiste na mistura de pós de farelos, folhas, cascas e sementes de diversos subprodutos a serem acrescentados à dieta, visando ao aumento de seu valor nutricional (SANTOS et al., 2001).

Os alimentos difundidos pela alimentação alternativa são pobres em calorias, portanto, à luz dos conhecimentos atuais, não seriam as multimisturas alimentos oferecidos para o combate à deficiência de energia ou proteína. BOAVENTURA et al. (1998) concluíram que a adição de multimisturas na dieta foi irrelevante na recuperação de ratos desnutridos. SANT'ANA et al. (2000) descreveram o potencial de multimisturas como fontes de micronutrientes, principalmente os minerais, ressaltando a importância de estudos de biodisponibilidade dos mesmos com vistas à investigação do seu real aproveitamento orgânico. Os ingredientes que constituíram as multimisturas estudadas apresentaram teores elevados, dentre outros nutrientes, de cálcio (Ca), zinco (Zn) e ferro (Fe), que são minerais essenciais ao organismo humano.

O cálcio desempenha funções vitais no corpo humano, sendo indispensável para o crescimento e desenvolvimento do esqueleto e dentes (MÉNDEZ e WYATT, 2000). SANT'ANA et al. (2000), estudando o valor nutritivo de alimentos alternativos, constataram que o pó da casca de ovo contém 30,81 g de Ca/100 g de pó, representando uma fonte potencial desse mineral. O pó da casca de ovo geralmente faz parte de farinhas múltiplas e pode desempenhar papel muito importante na prevenção da osteoporose, beneficiando crianças deficientes em lactase ou alérgicas ao leite de vaca, pessoas que têm intolerância à lactose não-persistente após a infância e as que não consomem produtos lácteos. Entretanto, estaria sujeito a interações dietéticas que poderiam diminuir a sua utilização biológica, podendo apresentar uma biodisponibilidade menor em comparação com fontes como o próprio leite (MARTINO, 2001).

O zinco é fundamental para o crescimento, desenvolvimento e diferenciação celulares. Interage com o metabolismo de proteínas, carboidratos e

lipídios, bem como afeta o tato, o olfato, o apetite e o consumo de alimentos. Está envolvido, ainda, em outros processos, como a síntese do hormônio do crescimento, da fosfatase alcalina e do colágeno (BRANDÃO-NETO et al., 1995; CHESTERS, 1997; FEDERICO et al., 2001; SZCZUREK et al., 2001). As fontes de origem vegetal sofrem mais influência dietética que as de origem animal. O fitato (mioinositol hexafosfórico) presente em altas concentrações em alimentos ricos em fibras (cereais, leguminosas e vegetais folhosos) liga-se ao zinco, formando complexos insolúveis e diminuindo sua absorção. Outros inibidores da absorção de zinco presentes nos alimentos são as fibras alimentares, os polifenóis e o cálcio. Este último compartilha características físico-químicas com o zinco e compete com ele pelos sítios de absorção intestinal (DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 1998).

O ferro é também um mineral extremamente afetado pelo padrão dietético. O ferro heme presente em carnes, peixes e aves constitui cerca de 10% ou menos do total ingerido na dieta, e sua absorção não é afetada por fatores dietéticos como ocorre com o ferro não-heme. Este, proveniente de alimentos de origem vegetal, deve ser solubilizado e reduzido para ser absorvido, em que um número de fatores dietéticos atuam estimulando ou inibindo o processo (GÓMES-AYALA et al., 1997; ZIJP et al., 2000). O ferro não-heme é o ferro inorgânico Fe^{+3} e encontra-se em vegetais, cereais e leguminosas, sendo pobremente absorvido, em torno de 5 a 20% (TORRES e LAYRISSE, 1991; BIANCHI et al., 1992; CLAUD e FREITAS, 1994; BENITO e MÜLER, 1998). Embora a porcentagem de absorção do ferro não-heme seja consideravelmente inferior, a quantidade dessa forma de ferro na dieta é, muitas vezes, superior à do ferro heme (CLAUD e FREITAS, 1994; ZIJP et al., 2000), visto que os alimentos de origem vegetal podem contribuir com cerca de 90% do ferro ingerido nos países desenvolvidos e até 100% nos países em desenvolvimento (BIANCHI et al., 1992). CONRAD (2002) apontou a dieta como um dos principais fatores na instalação do quadro de deficiência de ferro. Relatou que, em países onde a ingestão de carne é muito reduzida, a prevalência de anemia chega a ser 6 a 8 vezes maior que nos Estados Unidos, que têm uma adequada

ingestão de alimentos de origem animal. Além da baixa quantidade de ferro heme, o consumo de ferro não-heme, que tem absorção menor em relação ao primeiro, associado com parasitoses intestinais, principalmente por helmintos, que causam perda de sangue no trato gastrointestinal importante, favorece essa situação de deficiência em alguns países. Várias são as tentativas de se fornecer, através da dieta, a quota de ferro necessária. Muitos suplementos têm sido desenvolvidos e testados. Alimentos alternativos, como os farelos de cereais, folhas verde-escuras, sementes e cascas de frutas, têm sido introduzidos na dieta habitual como uma forma de enriquecê-la. Esses alimentos não-convencionais, em sua grande maioria de origem vegetal, são fontes potenciais de minerais como o ferro (SANT'ANA et al., 2000); embora apresentem outros compostos, como as fibras alimentares, os fitatos e oxalatos, que tornam o ferro menos disponível para a absorção intestinal (HENRY e MILLER, 1995; DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 1998).

Existem poucas informações sobre a biodisponibilidade de um nutriente, ao passo que, quando se fala em concentração, as informações são bem mais consistentes. Biodisponibilidade refere-se à quantidade de um nutriente que está disponível para a absorção na forma que é utilizado fisiologicamente (CAMPEN e GLAHN, 1999). A biodisponibilidade deve ser vista como uma avaliação mais relativa que absoluta e pode ser definida como a eficiência de utilização do nutriente no alimento ou na dieta em relação ao padrão apropriado, ou seja, é a quantidade do nutriente que é absorvida na forma em que é metabolicamente ativo (MILLER, 1989). O valor nutritivo de qualquer alimento não pode ser estabelecido unicamente com base na quantidade (dosagem química) de seus nutrientes, uma vez que sua qualidade nutricional é determinada por uma série de fatores, como o equilíbrio entre os diversos compostos da dieta, o estado fisiológico do indivíduo, as condições de processamento e armazenamento e a ocorrência de fatores antinutricionais (COSTA et al., 2000). Os alimentos alternativos são, em sua maioria, de origem vegetal e apresentam grande variedade de substâncias químicas conhecidas por exercerem efeitos deletérios quando ingeridas pelo homem. Constituem exemplos os inibidores de proteases,

oxalatos, fitatos e taninos, além das fibras alimentares, que funcionam como complexantes naturais (LIENER, 1980; SANT'ANA et al., 2000).

Assim, torna-se oportuno estudar o uso de multimisturas, elaboradas à base de subprodutos nacionalmente conhecidos e utilizados como alimentação alternativa, como fonte potencial de minerais essenciais como o cálcio, o zinco e o ferro. Uma vez que tais nutrientes nos alimentos alternativos apresentam elevado teor, torna-se imprescindível investigar a biodisponibilidade dos mesmos. Ainda, é importante analisar essa multimistura no contexto de uma dieta de arroz e feijão, que constitui a base alimentar brasileira.

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade de cálcio, zinco e ferro em uma multimistura alimentar, constituída de farelo de trigo, farinha de trigo, fubá, folha de mandioca e casca de ovo, adicionada a uma dieta de arroz e feijão, bem como o seu efeito sobre o estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENITO, P.; MÜLLER, D. Iron absorption and bioavailability an updated review. **Nutr. Res.**, v. 18, p. 581-603, 1998.

BIANCHI, M.L.P.; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a biodisponibilidade de ferro dos alimentos. **Arch. Latinoam. de Nutr.**, v. 42, n. 2, p.94-100, 1992.

BION, F.M.; PESSOA, D.C.N.P.; LAPA, M.A.G.; CAMPOS, F.A.C.S.; ANTUNES, N.L.M.; LOPES, S.M.L. Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: estudo em ratos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 47, n. 3, p. 242-247, 1997.

BITTENCOURT, S.A. Uma alternativa para a política nacional brasileira. **Cad. Saúde Públ.**, v.14, n. 3, 1998.

BOAVENTURA, G.T.; CHIAPINI, C.C.J.; LUCAS, A.M.M.; MARTUCCI, R.B. Utilização da multimistura e do farelo de trigo na recuperação de ratos desnutridos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO, 15, 1998, Brasília. **Anais...** Brasília: [s. n.], 1998.

BRANDÃO-NETO, J.; STEFAN, V.; MENDONÇA, B.B.; BLOISE, W.; CASTRO, A.V.B. The essential role of zinc in growth. **Nutr. Res.**, v. 15, p. 335-358, 1995.

CAMPEN, D.R. van; GLAHN, R.P. Micronutrient bioavailability techniques: accuracy, problems and limitations. **Field Crops Res.**, v. 60, n.1-2, 1999.

CHESTERS, J.K. Zinc. In: O'DELL, B.L.; SUNDE, R.A. **handbook of nutritionally essential minerals elements**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1997. p. 185-230.

CLAUD, M. V.; FREITAS, O. Compostos alternativos para o tratamento e/ou prevenção da anemia ferropriva. **Cad. Nutr.**, v. 8, p. 1-9, 1994.

CONRAD, M.E. Anemia. **E Medical J.**, v. 3, n. 2, 2002. Disponível: (www.emedicine.com, extraído em 15 de fevereiro de 2002).

COSTA, M.J.C.; SILVA, J.A.N.; FRAZÃO, M.F.; COSTA, F.E.C.; BION, F.M.; MADRUGA, M.S.; SANTOS, H.B. Aspectos histológicos do cólon de ratos "Wistar" suplementados com multimistura. In: —. **A nova nutrição**. João Pessoa: Editora Universitária, 2000. p. 153-182.

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Savier, 1998. 403 p.

FEDERICO, A.; IODICE, P.; FEDERICO, P.; DEL RIO, A.; MELLONE, M.C.; CATALANO, G.; FEDERICO, P. Effects of selenium and zinc supplementation on nutritional status in patients with cancer of digestive tract. **Eurpop. J. Clin. Nutr.**, v. 55, p. 293-297, 2001.

GÓMEZ-AYALA, A.E.; CAMPOS, M.S.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; PALLARÉS, I.; HARTITI, S.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M.J.M.; RODRÍGUEZ-MATAS, M.C.; LISBONA, F. Effect of source of iron duodenal absorption of iron, calcium, phosphorus, magnesium, copper and zinc in rats with ferropenic anaemia. **Internat. J. Vit. Nutr. Res.**, v. 67, 106-114, 1997.

HENY, P.R.; MILLER, E.R. Iron bioavailability. In: AMMERMAN, C.B.; BAKER, D.H.; LEWIS, A.J. **Bioavailability of nutrients for animals – Amino acids, minerals, and vitamins**. California: Academic Press, 1995. p.169- 200.

LIENER, I.E. Miscellaneous toxic factors. In: —. **TOXIC constituents of plant foodstuffs**. 2. ed. New York: Academic, 1980. p. 429-467.

MARTINO, H.S.D. **Fatores antinutricionais e biodisponibilidade de minerais em soja geneticamente modificada**. Viçosa, MG: UFV, DGU, 2001. 99 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MÉNDEZ, R.O.; WYATT, J. Contenido y absorción del calcio proveniente de la dieta del noroeste de México. Una retrospectiva bibliográfica. **Arch. Latin. Nutr.**, v. 50, n. 4, 330-333, 2000.

MILLER, D.D. Calcium in the diet: food sources, recommended intakes, and nutritional bioavailability. **Adv. in Food and Nutr. Res.**, v. 33, p. 103-156, 1989.

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

SANTOS, L.A.S.; LIMA, A.M.P.; PASSOS, I.V.; SOARES, M.D.; SANTOS, S.M.C. Uso e percepções da alimentação alternativa no estado da Bahia: um estudo preliminar. **Rev. Nutr.**, v. 14 (suplemento), p. 35-40, 2001.

SZCZUREK, E.I.; BJORNSSON, C.S.; TAYLOR, C.G. Dietary zinc and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine and liver of rats. **J. Nutr.**, v. 131, p. 2132-2138, 2001.

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

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

CAPÍTULO 1

BIODISPONIBILIDADE DE CÁLCIO DE UMA MULTIMISTURA ADICIONADA A UMA DIETA DE ARROZ E FEIJÃO

1. INTRODUÇÃO

Existem poucas informações sobre a biodisponibilidade de um nutriente. No entanto, quando se fala em concentração, as informações são bem mais consistentes. Biodisponibilidade refere-se à quantidade de um nutriente que está disponível para absorção na forma que é utilizado fisiologicamente (CAMPEN e GLAHN, 1999). Tem-se utilizado muito o balanço de cálcio de um indivíduo para comparar a biodisponibilidade relativa de diferentes fontes de cálcio não-conhecidas, o que pode ser um dos fatores responsáveis pelo elevado número de dados conflitantes na literatura. A biodisponibilidade deve ser vista como avaliação mais relativa que absoluta e pode ser definida como a eficiência da utilização do nutriente no alimento ou na dieta em relação ao padrão apropriado, ou seja, é a quantidade no nutriente que é absorvida na forma em que é metabolicamente ativo (MILLER, 1989).

Existem várias técnicas que fornecem indicadores da biodisponibilidade de um nutriente. Além da técnica do balanço fisiológico, o cálcio pode ser

avaliado segundo sua retenção nos ossos ou através de traçadores isotópicos (radioativos ou estáveis) como marcadores em animais de experimentação. Esta última técnica permite distinguir a rota metabólica de um nutriente fornecido por uma dieta, em um dia específico, ou por um alimento determinado. Em humanos, tem-se analisado a densidade mineral ou o conteúdo mineral do osso, utilizando o DEXA (“Dual Energy x-Ray Absorptiometry”). A dificuldade na interpretação dos resultados desse exame resulta do fato de que a densidade mineral óssea (BMD) é expressa com base no conteúdo mineral da área óssea projetada, assumindo-se, incorretamente, que o conteúdo mineral do osso (BMC) e a área do osso são diretamente proporcionais. Ainda, esse exame é analisado por um “software” pediátrico, que tem como base de referência a espinha lombar de crianças saudáveis, determinando-se uma inadequação na avaliação de uma pessoa adulta (WOSJE e SPECKER, 2000).

O cálcio desempenha funções vitais no corpo humano, sendo indispensável para o crescimento e desenvolvimento do esqueleto e dentes no homem (MÉNDEZ e WYATT, 2000). Estes autores relataram que existem inúmeros trabalhos que trazem resultados conflitantes no que se refere à relação entre a ingestão de cálcio na infância e seu *status* no osso adulto. Entretanto, muitos afirmam que a ingestão de cálcio por crianças é um determinante importante do crescimento e da prevenção ou redução da perda óssea que ocorre na terceira idade (HARRINSON e McNEILL, 1988; EKLOU-KALONJI et al., 1999; MÉNDEZ e WYATT, 2000). Uma intervenção efetiva para prevenir a osteoporose deve começar no início da vida, na época do pico de desenvolvimento da massa óssea. No passado, as medidas de prevenção focalizavam, primeiramente, uma redução na taxa de perda de massa óssea que inevitavelmente ocorria com a idade. Hoje, as estratégias de prevenção são derivadas da aceitação teórica de que indivíduos podem reduzir seus riscos futuros de desenvolver osteoporose pela construção de uma densa massa óssea durante a sua fase de crescimento. Uma adequada ingestão de cálcio durante as 2 ou 3 primeiras décadas de vida seria um fator crítico para atingir o pico da mineralização do osso (WOSJE e SPECKER, 2000).

Diante dos problemas de saúde e alimentação da população brasileira, muitos foram os esforços na tentativa de promover melhores condições de vida e nutrição. A alimentação alternativa, utilizando alimentos não-convencionais ricos em vitaminas e minerais, visa devolver à alimentação convencional nutrientes perdidos durante o processamento dos alimentos. Preconiza o uso de alimentos de baixo custo para se obter uma dieta mais equilibrada sem mudar o sabor ou tipo de preparação (PASSOS e ALCÂNTARA, 1996). Dentre os alimentos utilizados, citam-se os farelos de trigo e de arroz; as folhas verde-escuras, como as de mandioca; sementes de gergelim, abóbora, girassol e outras; casca de frutas; e o pó de casca de ovo.

SANT'ANA et al. (2000), estudando o valor nutritivo de alimentos alternativos, encontraram que o pó da casca de ovo contém 30,81 g de Ca/100 g de pó, representando uma fonte potencial desse mineral. O pó da casca de ovo, geralmente, faz parte de farinhas múltiplas e pode desempenhar papel muito importante na prevenção da osteoporose, beneficiando crianças deficientes em lactase ou alérgicas ao leite de vaca, pessoas que têm intolerância à lactose não-persistente após a infância e as que não consomem produtos lácteos. Entretanto, estaria sujeito a interações dietéticas que poderiam diminuir a sua utilização biológica, podendo apresentar uma biodisponibilidade menor quando comparada com fontes como o próprio leite (MARTINO, 2001).

Assim, este estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a absorção fracional de cálcio (^{45}Ca) fornecido por uma multimistura alimentar no contexto de uma dieta de arroz e feijão, utilizando-se a técnica de marcação extrínseca com ^{45}Ca em ratos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparo e análise dos ingredientes

2.1.1. Multimistura

A multimistura utilizada nos estudos era composta por 33% de farinha de trigo, 33% de fubá de milho, 32% de farelo de trigo, 1% de pó de folha de mandioca e 1% de pó de casca de ovo. A farinha de trigo e o fubá de milho, adquiridos no comércio local, foram acrescentados crus à mistura. O farelo de trigo, também adquirido no comércio local, foi torrado antes da sua incorporação à multimistura. As folhas de mandioca, adquiridas já desidratadas, foram processadas, em multiprocessador doméstico, para obtenção do pó. As cascas de ovo de galinha foram obtidas em uma panificadora local e processadas de acordo com o manual da alimentação alternativa (BRANDÃO e BRANDÃO, 1996), sendo, assim, lavadas em água corrente e fervidas por 20 minutos. O processo de secagem ao sol foi substituído pelo uso de estufa com ar circulante a 60 °C/6 horas; posteriormente, foram liquidificadas, para obtenção do pó. Depois de preparar os ingredientes, estes foram misturados nas proporções supracitadas para, então, constituírem a multimistura avaliada nesta pesquisa.

2.1.2. Arroz e feijão

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

2.1.3. Determinação do teor de cálcio

A concentração de cálcio foi determinada utilizando-se uma mistura digestora nitroperclórica na proporção de 3:1. A digestão procedeu-se a quente, em blocos com controle de temperatura, entre 100 e 150 °C, por aproximadamente 6 horas até a obtenção de uma solução límpida. Nas soluções minerais foi, então, analisado o teor de cálcio por espectrometria de absorção atômica, em aparelho modelo GBC 908 AA. As amostras para leitura do teor de cálcio foram diluídas em uma solução de $\text{SrCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 1.760 ppm.

2.1.4. Desmineralização das vidrarias

As vidrarias e utensílios utilizados tanto na determinação do teor de cálcio quanto nos ensaios biológicos foram desmineralizados, utilizando-se uma solução de HCl 20%, na qual permaneceram por 24 horas, sendo, posteriormente, enxaguados com água deionizada.

2.2. Biodisponibilidade de cálcio

2.2.1. Modelo experimental

Foram utilizados 32 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe Rodentia), da linhagem Wistar, jovens, com peso médio inicial de $309,5 \pm 22,98$ g.

Os animais foram separados em 4 grupos (n=8) e mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em condições de temperatura e luminosidade controladas, a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, respectivamente, por 10 dias.

Durante o experimento, o ganho de peso e o consumo alimentar dos animais foram registrados. Os ratos receberam dieta AIN-93M (REEVES et al., 1993) e água deionizada *ad libitum*. Durante um período de 5 dias consecutivos, os animais foram adaptados a consumir 3 g de dieta, após um período de jejum de 12 a 16 horas, antes de receberem dieta *ad libitum*. No 9º dia, após 14 horas de jejum, 3 grupos receberam 3 g de dieta experimental contendo 25 mg de cálcio, marcados com 9 µCi de ⁴⁵Ca; e o quarto grupo recebeu dieta AIN-93M, também contendo 25 mg de cálcio, sem marcador, mais uma dose intraperitoneal de 0,3 mL de solução salina 0,9% contendo 9 µCi de ⁴⁵Ca, correspondendo a 100% de absorção da dose de cálcio (Quadro 1).

2.2.1.1. Preparo da solução radioativa

As soluções radioativas contendo 9 µCi de ⁴⁵Ca foram preparadas a partir de uma solução de CaCl₂ com uma atividade de 74 MBq (2 mCi), o que corresponde a uma atividade específica de 0,25 mCi/mL de solução. Para efeito de cálculo, foi considerada a data de produção do radionuclídeo e seu tempo de decaimento, de forma que, no dia da aplicação, cada animal recebesse, via oral, 9 µCi de ⁴⁵Ca/ 0,5 mL ou, por via intraperitoneal, 9 µCi de ⁴⁵Ca/0,3 mL de solução salina.

2.2.2. Composição e preparo das dietas experimentais

As dietas experimentais constituíram três diferentes fontes de cálcio, a saber: a) arroz+feijão+multimistura (A+F+MM) na proporção de 50, 48 e 2%, respectivamente; b) arroz+feijão (A+F) (50:50); e c) multimistura (100%). As dietas foram homogeneizadas em almofariz.

Quadro 1 – Composição das dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de cálcio (g/3 g)

Componentes	Dieta		
	A+F+MM	A+F	MM
Arroz	1,5	1,5	-
Feijão	1,44	1,5	-
Multimistura	0,06	-	3

A partir do valor de cálcio determinado nos alimentos, estimou-se a quantidade contida em cada 3 g de dieta pronta. Para que as dietas apresentassem o mesmo teor de cálcio (25 mg), foram-lhes adicionadas quantidades pertinentes de carbonato de cálcio (Quadro 2).

Quadro 2 – Teor de cálcio estimado nas dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de cálcio (mg/3 g)

Cálcio (mg)	Dieta		
	A+F+MM	A+F	MM
Ca ^a	0,88	0,78	4,97
Ca ^b	24,12	24,22	20,03
Ca total	25	25	25

Ca^a – cálcio proveniente da dieta experimental.

Ca^b – cálcio fornecido na forma de CaCO₃.

2.2.3. Análise da radioatividade

A absorção fracional de cálcio foi calculada a partir dos fêmures direitos retirados dos animais sacrificados após 48 horas da aplicação dos tratamentos

contendo ^{45}Ca , por via oral ou intraperitoneal. Foi assumido que a radioatividade encontrada nos fêmures dos animais do grupo intraperitoneal corresponderia a 100% de absorção da dose. Uma vez tendo retirado todo o tecido muscular, os fêmures foram submetidos à dissolução em 3 mL de ácido nítrico (HNO_3) concentrado por um período de aproximadamente 15 horas. Então, completou-se o volume para 25 mL com água deionizada, e procedeu-se à leitura da radioatividade presente nas amostras, quantificadas em cpm (cintilações por minuto). O percentual de absorção fracional, em cada fêmur, foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ absorção fracional} = \frac{\% \text{ de dose oral de } ^{45}\text{Ca/ fêmur}}{\% \text{ de dose IP de } ^{45}\text{Ca/ fêmur}} \times 100$$

Além dos ossos, a contagem foi também feita nas amostras das dietas experimentais para verificação do nível de atividade fornecido ao animal. A contagem deu-se em aparelho de cintilação BECKMANN LS 6500, onde 500 μL da amostra radioativa foram misturados em 5 mL de coquetel de cintilação (Sigma), sendo as leituras realizadas por 5 minutos, em 2 replicatas.

2.2.4. Delineamento experimental

O experimento foi realizado em delineamento em blocos casualizados (DBC). Foram analisados 3 tratamentos (fontes de cálcio), com 8 repetições (animais). Os dados foram interpretados por análise de variância e as médias de absorção fracional de ^{45}Ca , comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para tanto, foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 5.0, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise do teor de cálcio dos ingredientes

Observou-se um teor médio de cálcio de 167,53 mg/100 g de multimistura, 4,78 mg/100 g de arroz e 47,40 mg/100 g de feijão. O arroz e o feijão foram analisados após cozidos e secados.

3.2. Ensaio de biodisponibilidade de cálcio

O princípio básico para estudos com isótopos é de que o cálcio, adicionado ao alimento, troca ou comporta-se de forma química, bioquímica e biologicamente idêntica à do elemento nativo. Quando um mineral é consumido com um alimento, uma porção do mineral é absorvida e passa para a circulação sanguínea, enquanto a parte não-absorvida é excretada com as fezes. A partir da circulação, uma parte do mineral absorvido vai aos tecidos do corpo, e outra parte pode ser excretada na urina. Uma segunda rota excretória é a partir dos tecidos para o intestino, via secreção biliar ou gastrointestinal, na qual se podem incluir pequenas frações do mineral dietético recentemente absorvido e, em grande parte, dos minerais já existentes no corpo. Entretanto, alguns desses minerais endógenos podem ser reabsorvidos, e outra parte é excretada junto com

as fezes. Um mineral biodisponível é aquele que, a partir de um alimento, foi absorvido e retido no corpo (SANGRONIS e REBOLLEDO, 1993); logo, é detectável.

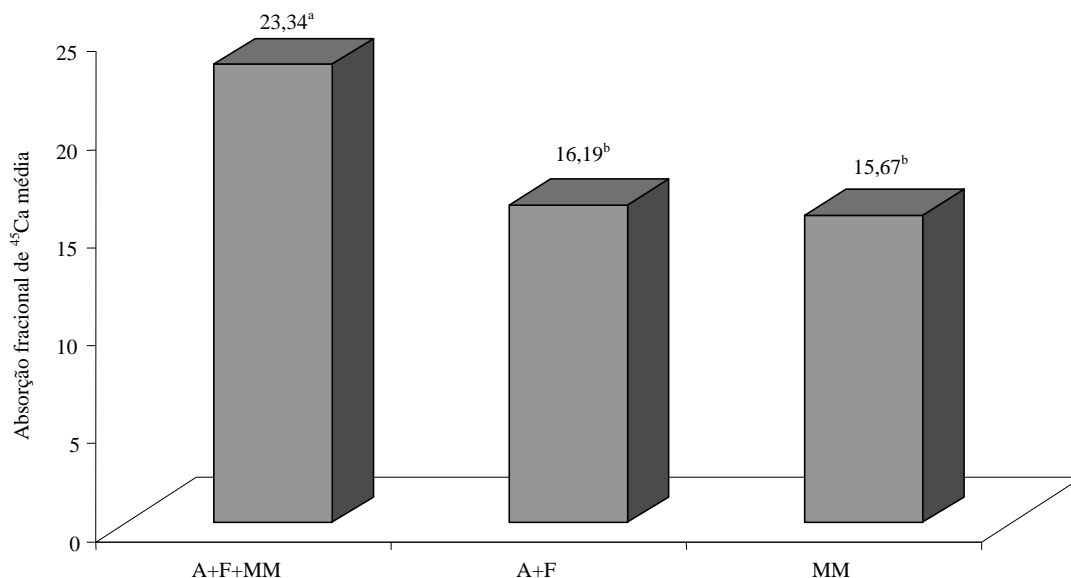
No Quadro 3, apresenta-se o resumo da análise de variância dos resultados obtidos para absorção fracional de ^{45}Ca , indicando que houve efeito significativo quanto à dieta recebida pelos animais em experimentação ($P < 0,05$). Os dados evidenciaram que a média de absorção fracional de cálcio no fêmur dos animais que receberam dieta de arroz+feijão+multimistura - A+F+MM (23,34%) foi superior à dos animais que receberam dieta de arroz+feijão - A+F (16,19%) ou dieta de multimistura - MM (15,67) (Figura 1, $P < 0,05$), sendo a diferença na absorção fracional de cálcio entre as dietas A+F e multimistura não-significativa ($P > 0,05$).

Quadro 3 – Resumo da análise de variância da absorção fracional de ^{45}Ca nos fêmures direitos dos animais experimentais

FV	GL	QM Fêmur
Bloco	7	20,68
Dietas	2	147,22*
Resíduo	14	10,29
CV (%)		17,43

* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

WEAVER et al. (1993) relataram que fontes concentradas de fitato, como extrusados com farelo de trigo e diferentes tipos de feijão, são capazes de afetar a absorção de cálcio. Nesse mesmo trabalho, os autores relataram uma razão molar fitato:Ca de 0,57 em feijões-vermelhos, semelhantes ao utilizado neste experimento; e uma razão molar de 0,73 em feijão-carioquinha. Este último foi tratado com fitase, tendo-se estabelecido uma razão molar fitato:Ca de 0,02.



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

Figura 1 – Média da absorção fracional de cálcio nos fêmures dos animais que receberam dieta de arroz+feijão+multimistura (A+F+MM) ou arroz+feijão (A+F) ou multimistura (MM) contendo 9 μ Ci de ⁴⁵Ca.

Após o tratamento, a média de absorção de cálcio foi elevada de maneira significativa, mas ainda menor do que a do leite, com uma absorção relativa de apenas 48%. Esse resultado indica a existência de outros fatores inibitórios também associados à absorção de cálcio. A maior parte do cálcio do feijão encontra-se na casca, junto com o ácido oxálico, que é o inibidor mais efetivo de sua absorção (WEAVER et al., 1993), tendo esse efeito sido relatado para vários vegetais, como o espinafre (HANES et al., 1999b). Entretanto, nem todo o oxalato do feijão forma complexo com o cálcio, pois cerca de 20% do cálcio do feijão está em compartimento separado do oxalato, melhorando sua biodisponibilidade.

Segundo WEAVER et al. (1993), o feijão-vermelho tem 1,3 g de fitato/100 g e 0,22 g de oxalato/100 g. Utilizando os valores de ácido fítico, ácido oxálico e cálcio observados por SANT'ANA et al. (2000) nos ingredientes que

compõem a multimistura em estudo, pode-se estabelecer uma relação fitato:Ca de aproximadamente 0,18 (1,3 g de fitato); e oxalato:Ca de 0,06 (0,06 g de oxalato) para a multimistura estudada. Nas proporções empregadas para compor as dietas de A+F e multimistura, os ingredientes forneceram diferentes teores de inibidores. Entretanto, ambas as dietas obtiveram médias de absorção fracional semelhantes (Figura 1, $P>0,05$). O cálcio da multimistura era proveniente, basicamente, da casca de ovo (70%); e, na mistura A+F, o feijão era responsável por 90% do cálcio fornecido. Este, por constituição, fica localizado em grande proporção com o oxalato, já quelado e insolúvel; enquanto o restante está sujeito às interações dietéticas que ocorrem no intestino.

PROULX et al. (1993) também verificaram que a absorção de cálcio é função dos teores de fitato e oxalato presentes nos alimentos. Eles verificaram também que, ao estudarem a biodisponibilidade de cálcio (^{45}Ca) em três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*), sua absorção foi cerca de 50% da dieta de caseína quando ratos foram alimentados com feijão cru, que continha maiores concentrações dos inibidores. Sabe-se que a maioria do cálcio dos alimentos está na forma de complexos com outros constituintes dietéticos. Esses complexos devem ser quebrados, e o cálcio tem de ser liberado, em uma forma solúvel e ionizada, antes de ser absorvido. No trato gastrointestinal, os constituintes dos alimentos são liberados, podendo ligar-se ao cálcio solúvel, o que resultará na formação de complexos de diferentes graus de solubilidade (ALLEN, 1982). OLIVEIRA (1997), estudando a biodisponibilidade de cálcio da mistura de arroz e feijão na proporção de 30:70 das proteínas da dieta, correspondendo a 10 ou 30% do suprimento total, concluiu que nas duas misturas houve ligeira redução na retenção de cálcio no fêmur dos animais experimentais, em comparação com um padrão de caseína.

Assim, o reduzido nível de absorção fracional de cálcio (^{45}Ca) observado nas dietas de A+F e multimistura pode ser devido à presença desses inibidores nas misturas, que agiram de maneira semelhante. Se na multimistura a concentração de ácido fítico era maior, na mistura de arroz+feijão a proporção de cálcio do feijão, provavelmente complexada ao ácido oxálico, era também maior.

Quando foi associado arroz+feijão+multimistura, observou-se que a média de absorção fracional de cálcio (^{45}Ca) foi superior (Figura 1, $P<0,05$). As quantidades empregadas de feijão e multimistura, que tanto contribuem com o cálcio quanto com os fatores antinutricionais, foram, respectivamente, de 48 e 2%. O fato de se ter reduzido em apenas 2 g a quantidade de feijão, sendo a mesma substituída por multimistura, não parece ser a razão da melhoria do índice de absorção. Nessa mistura A+F+MM, 81% do cálcio fornecido era proveniente do feijão e 11,4%, da multimistura. Essa proporcionalidade pode ter reduzido o fornecimento de cálcio complexado, ao mesmo tempo em que não elevou, em níveis consideráveis, o teor de ácido fítico na mistura toda, fornecido principalmente pela multimistura, o que pode estabelecer interações mais favoráveis que nas situações anteriores.

Desse modo, esses resultados podem indicar que a multimistura, em um contexto de uma dieta de arroz e feijão, na proporção utilizada (2%), não causou prejuízos à absorção de cálcio. Entretanto, quando utilizada como fonte exclusiva do mineral, obteve-se uma biodisponibilidade menor, assim como a observada na mistura de arroz e feijão. Todos os ingredientes utilizados, na forma das misturas definidas, são de origem vegetal e trazem grande variedade de fatores inibidores da absorção de minerais. Se, por um lado, o feijão tem conteúdo de ácido oxálico capaz de indisponibilizar o cálcio por ele fornecido, por outro a multimistura indicou que os níveis de fitato presente, fornecidos em grande parte pelo farelo de trigo, também foram capazes de indisponibilizar o cálcio por ela fornecido. Assim, o fornecimento de cálcio a partir de alimentos de origem vegetal deveria ser ajustado à presença e concentração de inibidores como os ácidos fítico e oxálico.

4. CONCLUSÃO

Este estudo possibilitou a avaliação da biodisponibilidade de cálcio proveniente de uma multimistura alimentar, sendo também considerada quando ingerida numa dieta básica de arroz e feijão.

Verificou-se que a mistura de arroz+feijão+multimistura obteve absorção fracional do marcador (^{45}Ca) superior ($P < 0,05$) às observadas nas dietas de arroz+feijão e multimistura, que foram semelhantes entre si ($P > 0,05$).

Esses resultados levaram à consideração de que o cálcio de fontes alimentares de origem vegetal sofre acentuada influência de fatores inibidores provenientes dos próprios alimentos. Além da presença, é dependente do tipo de inibidor e de sua concentração.

Os resultados poderiam indicar que a multimistura, em um contexto de uma dieta de arroz e feijão, na proporção utilizada (2%), não causou prejuízos à absorção de cálcio. Entretanto, quando utilizada como fonte exclusiva do mineral, obteve-se uma biodisponibilidade menor, assim como a observada na mistura de arroz e feijão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, L.H. Calcium bioavailability and absorption: a review. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 35, p. 783-808, 1982.

BRANDÃO, C.T.; BRANDÃO, R.F. **Alimentação alternativa**. Brasília: Centro de Pastoral Popular, 1996. 69 p.

CAMPEN, D.R. van; GLAHN, R.P. Micronutrient bioavailability techniques: accuracy, problems and limitations. **Field Crops Res.**, v. 60, n.1-2, 1999.

EKLOU-KALONJI, E.; ZERATH, E.; COLIN, C.; LACROIX, C.; HOLY, X.; DENIS, I.; POINTILLART, A. Calcium-regulating hormones, bone mineral content, breaking load and trabecular remodeling are altered in growing pigs fed calcium-deficient diets. **J. Nutr.**, v. 129, 188-193, 1999.

HANES, D.A.; WEAVER, C.M.; HEANEY, R.P.; WASTNEY, M.E. Absorption of calcium oxalate does not require dissociation in rats. **J. Nutr.**, v. 129, 170-173, 1999a.

HANES, D.A.; WEAVER, C.M.; WASTNEY, M.E. Calcium and oxalic acid kinetics differ in rats. **J. Nutr.**, v. 129, 165-169, 1999b.

HARRINSON, J.E.; McNEIL, K.G. The skeletal system. In: KINNEY, J.M. **Nutrition and metabolism in patient care**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1988. p. 701-725.

LIENER, I.E. Miscellaneous toxic factors. In: —. **TOXIC constituents of plant foodstuffs**. 2. ed. New York: Academic, 1980. p. 429-467.

MARTINO, H.S.D. **Fatores antinutricionais e biodisponibilidade de minerais em soja geneticamente modificada**. Viçosa, MG: UFV, DGU, 2001. 99 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MÉNDEZ, R.O.; WYATT, J. Contenido y absorción del calcio proveniente de la dieta del noroeste de México. Una retrospectiva bibliográfica. **Arch. Latin. Nutr.**, v. 50, n. 4, p. 330-333, 2000.

MILLER, D.D. Calcium in the diet: food sources, recommended intakes, and nutritional bioavailability. **Adv. in Food and Nutr. Res.**, v.33, p. 103-56, 1989.

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

PASSOS, M.N.C.; ANCÂNTARA, L.T.S. **Alimentação alternativa** – Uma proposta preventiva de saúde bucal coletiva. Brasília: UnB, 1996. 50 f. Monografia (Curso de Especialização em Odontologia em Saúde Coletiva) - Universidade de Brasília, Brasília.

PROULX, W.R.; WEAVER, C.M.; BOCK, M.A. Tripsin inhibitor activity and tannin content do not affect calcium bioavailability of three commonly consumed legumes. **J. Food Sci.**, v. 58, n. 2, p. 382-384, 1993.

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

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 5.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1993. (Software).

SANGRONIS, E.; REBOLLEDO, M.A. Fibra dietética soluble, insoluble y total en cereales, productos derivados de su procesamiento y en productos comerciales a base de cereales. **Arch. Latin, de Nutr.**, v. 43, n. 3, p. 258-263, 1993.

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

WEAVER, C.M.; HEANEY, R.P.; PROULX, W.R.; HINDERS, S.M.; PACKARD, P.T. Absorbability of calcium from common beans. **J. Food Sci.**, v. 58, n. 6, 1401-1403, 1993.

WOSJE, K.S.; SPECKER, B.L. Role of calcium in bone health during childhood. **Nutr. Rev.**, v. 58, n. 9, p. 253-268, 2000.

CAPÍTULO 2

BIODISPONIBILIDADE DE ZINCO EM UMA MULTIMISTURA ALIMENTAR

1. INTRODUÇÃO

O zinco é fundamental para o crescimento, desenvolvimento e diferenciação celulares. Interage com o metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios, bem como afeta o tato, o olfato, o apetite e o consumo de alimentos. Está envolvido, ainda, em outros processos, como a síntese do hormônio do crescimento, da fosfatase alcalina e do colágeno (BRANDÃO-NETO et al., 1995; CHESTERS, 1997; FLEET, 2000; FEDERICO et al., 2001; SZCZUREK et al., 2001).

O corpo humano contém cerca de 2 a 2,5 g de zinco, dos quais 55% estão localizados nos músculos e 30%, nos ossos. O restante está distribuído em outros tecidos, como o hepático, o nervoso e o sangüíneo. Grande parte do zinco dos ossos está, provavelmente, associada com a porção mineral inicialmente incorporada durante a ossificação (BAKER e AMMERMAN, 1995; CHESTERS, 1997). As principais fontes alimentares de Zn são as carnes bovinas, de frango e peixe, ostras, fígado, soja, ovos e leite. Os cereais integrais

também têm um bom teor de zinco. A interação do Zn com outros nutrientes da alimentação pode aumentar ou diminuir sua absorção. As fontes de origem vegetal sofrem mais influência dietética que as de origem animal. O fitato (mioinositol hexafosfórico), presente em altas concentrações em alimentos ricos em fibras (cereais, leguminosas e vegetais folhosos), liga-se ao zinco, formando complexos insolúveis e diminuindo sua absorção. Outros inibidores da absorção de zinco presentes nos alimentos são as fibras alimentares, os polifenóis e o cálcio. Este último compartilha características físico-químicas com o zinco e compete com ele pelos sítios de absorção intestinal (DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 1998).

O uso de multimisturas alimentares, compostas por alimentos não-convencionais ricos em vitaminas e minerais, tem o objetivo, segundo PASSOS e ALCÂNTARA (1996), de devolver à dieta normal dos brasileiros os nutrientes perdidos durante os processos de beneficiamento e industrialização de alimentos. SANT'ANA et al. (2000), estudando alimentos não-convencionais, demonstraram que eles são fontes potenciais de minerais, entre eles o zinco; e que os farelos de arroz e trigo, a semente de gergelim e a folha de mandioca desidratada têm importante teor de ácidos fítico e oxálico, sendo o primeiro forte inibidor da absorção de zinco.

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a biodisponibilidade de zinco proveniente de uma multimistura alimentar, uma vez que, ao mesmo tempo em que contém consideráveis teores de zinco, também contém antagonistas de sua absorção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparo e análise dos ingredientes

2.1.1. Multimistura

A multimistura utilizada nos estudos era composta por 33% de farinha de trigo, 33% de fubá de milho, 32% de farelo de trigo, 1% de pó de folha de mandioca e 1% de pó de casca de ovo. A farinha de trigo e o fubá de milho, adquiridos no comércio local, foram acrescentados crus à mistura. O farelo de trigo, também adquirido no comércio local, foi torrado previamente à sua incorporação à multimistura. As folhas de mandioca, adquiridas já desidratadas, foram processadas, em multiprocessador doméstico, para obtenção do pó. As cascas de ovo de galinha foram obtidas em uma panificadora local e processadas de acordo com o manual da alimentação alternativa (BRANDÃO e BRANDÃO, 1996), sendo, assim, lavadas em água corrente e fervidas por 20 minutos. O processo de secagem ao sol foi substituído pelo uso de estufa com ar circulante a 60 °C/6 horas; posteriormente, foram liquidificadas, para obtenção do pó. Depois de preparados os ingredientes, estes foram misturados nas proporções supracitadas para, então, constituírem a multimistura avaliada nesta pesquisa.

2.1.2. Determinação do teor de zinco

A concentração de zinco foi determinada, utilizando-se uma mistura digestora nitroperclórica na proporção de 3:1. A digestão procedeu-se a quente, em blocos com controle de temperatura, entre 100 e 150 °C, por aproximadamente 6 horas até a obtenção de uma solução límpida. Nas soluções minerais foi, então, analisado o teor de zinco por espectrometria de absorção atômica, em aparelho modelo GBC 908 AA, após a diluição em água deionizada.

2.1.3. Desmineralização das vidrarias

As vidrarias e utensílios utilizados tanto na determinação do teor de minerais quanto nos ensaios biológicos foram desmineralizados, utilizando-se uma solução de HCl 20%, na qual permaneceram por 24 horas, sendo, posteriormente, enxaguados com água deionizada.

2.2. Biodisponibilidade de zinco

2.2.1. Modelo experimental

Foram utilizados 32 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe Rodentia), da linhagem Wistar, jovens, com peso inicial de $110,81 \pm 8,44$ g.

Os animais foram separados em 4 grupos (n=8) e mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em condições de temperatura e luminosidade controladas, a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, respectivamente, por 42 dias.

Durante o experimento, o ganho de peso dos animais foi registrado semanalmente. Os ratos receberam água deionizada *ad libitum* e as respectivas dietas experimentais em quantidade controlada, de maneira que todos os animais obtivessem o mesmo consumo, variando entre 17 e 20 g diários.

2.2.2. Composição e preparo das dietas experimentais

As dietas experimentais foram confeccionadas de acordo com as recomendações para roedores em crescimento AIN-93G, segundo REEVES et al. (1993). As dietas foram adaptadas de modo a fornecer, como fonte de zinco, o sal carbonato de zinco ($ZnCO_3$, padrão) ou a multimistura (teste), com 50 ou 100% das recomendações de zinco para o rato, ou seja, 15 ou 30 mg de zinco/kg de dieta, respectivamente (Quadro 1).

A partir do teor de zinco determinado nos alimentos utilizados para confecção da multimistura, estabeleceu-se a quantidade desta que seria necessária para fornecer a concentração de zinco planejada. Assim, quando a concentração era maior (100% das recomendações), a quantidade de multimistura também o era.

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

2.2.3. Respostas teciduais analisadas

No 42^o dia de experimento, os animais foram sacrificados em atmosfera de CO_2 . O sangue foi retirado por punção cardíaca com seringas descartáveis com capacidade para 10 mL, sendo separado o soro, em que foi determinada a atividade de fosfatase alcalina. Esta foi feita de acordo com o protocolo de utilização do "Kit" de análise da Doles Reagentes Ltda. Por esse método, em tubos de ensaio, 80 μ L de solução p-nitrofenilfosfato (substrato da fosfatase alcalina) com quantidades crescentes da amostra de soro (de 0 a 30 μ L) foram incubados, em solução-tampão de pH 10,3, a 37 °C, durante 10 minutos, após o que foi acrescentado 1 mL de NaOH 0,1 M para interromper a reação. A reação forma um composto de cor amarela, cuja absorbância foi medida em espectrofotômetro (DU-70 BECKMANN) a 410 nm.

Quadro 1 – Composição das dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de zinco (g/kg de dieta)

Ingredientes (g)	Dietas Experimentais			
	P 50	P 100	MM 50	MM 100
Amido de milho	397,5	397,5	291,80	186,10
Caseína	200	200	172	144
Amido dextrinizado	132	132	132	132
Sacarose	100	100	100	100
Óleo de soja	70	70	44,05	18,09
Celulose microfina	50	50	7,42	- ^a
Mistura mineral*	35	35	35	35
Mistura vitamínica	10	10	10	10
L-cistina	3	3	3	3
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5	2,5
Multimistura	-	-	232,56	465,12
ZnCO ₃ (mg)	0,02877	0,05457	-	-

* Adaptada de REEVES et al. (1993); isenta de zinco.

^a Não foi acrescentado celulose microfina, porque a multimistura tanto forneceu quanto excedeu a recomendação de fibra para o rato.

P50 = dieta-padrão com 15 mg de zinco/kg de dieta (50% das recomendações de Zn para o rato).

P100 = dieta-padrão com 30 mg de zinco/kg de dieta (100% das recomendações de Zn para o rato).

MM50 = dieta contendo multimistura com 15 mg de zinco/kg de dieta (50% das recomendações de Zn para o rato).

MM100 = dieta contendo multimistura com 30 mg de zinco/kg de dieta (100% das recomendações de Zn para o rato).

Foram, ainda, retirados o fígado, os rins, o cérebro e o fêmur direito para posteriores análises. Utilizou-se a espectrometria de absorção atômica, em aparelho GBC 908AA, para determinação do teor de zinco no soro, após a diluição em água deionizada; no fígado, rim e cérebro, após o preparo de homogenatos das amostras submetidas à digestão nítrica (HNO₃ concentrado) e diluições em água deionizada; e, no fêmur direito, após a digestão em ácido nítrico concentrado e diluição em água deionizada.

2.2.4. Delineamento experimental

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente, utilizando-se o delineamento em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 2x2 (fonte *versus* dose), com 8 repetições (animais). Os resultados foram interpretados por meio de análise de variância a 5% de probabilidade. Para essas análises, foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 5.0, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise do teor de zinco da multimistura

Foi observado um teor de 6,45 mg de zinco/100 g de multimistura. Este valor foi utilizado nos cálculos das dietas experimentais.

3.2. Ensaio de biodisponibilidade de zinco

No Quadro 2, mostra-se o resumo da análise de variância dos parâmetros estudados no ensaio de biodisponibilidade de zinco. Observa-se, nesse quadro, que apenas os teores de zinco no cérebro e no soro não diferiram segundo a fonte de zinco recebida pelos animais. O teor de zinco no fêmur, fígado e rim, sua relação com o ganho de peso e a atividade de fosfatase alcalina apresentaram diferença ($P < 0,05$) quanto à fonte de zinco fornecida. Pôde-se, também, observar que as respostas biológicas não foram dependentes da dose de zinco administrada, uma vez que não se obteve resultado significativo ($P > 0,05$) nos parâmetros avaliados. Houve interação entre a fonte e a dose recebida ($P < 0,05$), quanto aos parâmetros peso e fêmur.

Quadro 2 – Resumo da análise de variância dos parâmetros estudados no ensaio de biodisponibilidade de zinco

FV	GL	Quadrado Médio						
		Peso	Fêmur	Fígado	Rim	Cérebro	Soro	FA ^a
Bloco	7	133,91	293,74	10,80	40,66	8,03	0,67	185,18
Fonte (F)	1	1830,13*	42311,63*	45,83*	329,57*	2,27	0,016	9114,81*
Dose (D)	1	112,50	206,05	19,35	6,80	0,63	0,50	2729,56
Interação FXD	1	1984,50*	814,10*	0,61	14,00	1,77	1,07	799,11
Resíduo	21	98,68	61,30	5,61	34,89	9,01	0,59	912,86
CV (%)		5,13	6,11	10,44	25,39	20,78	21,08	32,36

* As médias diferem significativamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

^a FA = atividade de fosfatase alcalina.

No Quadro 2, mostra-se que a interação entre a fonte e a dose de zinco recebidas pelos animais experimentais foi significativa para o ganho de peso ($P < 0,05$). Nos animais da dieta-padrão, foi possível observar que o ganho de peso foi proporcional ao aumento da dose de zinco fornecida (Quadro 3, $P < 0,05$). Já no grupo multimistura se observou que, quando foi aumentado o teor de zinco na dieta e, conseqüentemente, a quantidade de multimistura também aumentou, houve redução no ganho de peso (Quadro 3, $P < 0,05$).

No Quadro 4, mostra-se que a retenção de zinco no fêmur não foi função da dose recebida pelos animais do grupo-padrão, em que se observou que ambos os grupos tinham teores de zinco semelhantes ($P > 0,05$). No grupo da multimistura foi verificado que, ao aumentar o teor de zinco e de multimistura, houve menor retenção de zinco no fêmur dos animais ($P < 0,05$). Tanto na dose 50 quanto na dose 100, os animais que receberam dieta-padrão tiveram maior retenção de Zn no fêmur que os que receberam multimistura ($P < 0,05$).

Quadro 3 – Média do ganho de peso segundo a fonte e dose de zinco recebidas pelos animais experimentais

Fonte	Ganho de Peso (g)	
	50% recomendação	100% recomendação
Padrão	195,25 ^{a B}	207,25 ^{a A}
Multimistura	195,87 ^{a A}	176,38 ^{b B}

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Quadro 4 – Média do teor de zinco no fêmur segundo a fonte e dose de zinco recebida pelos animais experimentais

Fonte	Teor de Zn no Fêmur (mg)	
	50% recomendação	100% recomendação
Padrão	161,85 ^{a A}	166,86 ^{a A}
Multimistura	99,21 ^{b A}	84,05 ^{b B}

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste F a 5% de probabilidade.

ELLIS et al. (1987) estudaram as razões milimolares fitato:zinco e fitatox cálcio:zinco como preditores da biodisponibilidade de zinco dietético. Para ratos, a razão fitato:zinco foi um bom indicador, mas, para humanos, a relação fitatox cálcio:zinco deu uma informação melhor da disponibilidade biológica do zinco dietético. SANT'ANA et al. (2000) determinaram essa razão milimolar fitatox cálcio:zinco na multimistura aqui utilizada, a qual correspondeu a 40,32. Segundo FORDYCE et al. (1987) e SANGHA et al. (1998), uma razão milimolar fitatox cálcio:zinco maior que 3,5 indica uma pobre disponibilidade de zinco, enquanto uma acima de 50/100 g de matéria seca do alimento pode ser de grande preocupação para humanos com um nível de zinco já comprometido ou ingerindo

uma dieta pobre em zinco ou com grande quantidade de fitatos. SAHA et al. (1994) também confirmaram o efeito inibitório do fitato na absorção de zinco. Os menores níveis desse elemento nos fêmures dos animais que receberam multimistura (MM50 e MM100) podem ser o resultado de uma menor disponibilidade intestinal de zinco para absorção, uma vez que o Zn poderia estar complexado ao ácido fítico e ao cálcio.

Os demais parâmetros estudados não mostraram interação entre a fonte e a dose de zinco administradas (Quadro 2), sendo avaliada a média geral de cada fonte (Quadro 5). No fígado, observou-se que a média de retenção de zinco foi maior no grupo da multimistura que no grupo-padrão ($P < 0,05$). O teor de zinco no rim e a atividade de fosfatase alcalina foram maiores no grupo-padrão ($P < 0,05$) que no grupo da multimistura. Já o teor de zinco no cérebro e no soro não apresentou diferença estatística ($P > 0,05$) entre as duas fontes estudadas.

Quadro 5 – Teor médio de zinco no fígado, rim, cérebro e soro (mg/g) e atividade de fosfatase alcalina (U.I./L) nos animais experimentais

Órgão/ Parâmetro	Fonte	Dose 50	Dose 100	Média
Fígado	Padrão	20,59	22,42	21,50 ^b
	Multimistura	23,26	24,54	23,90 ^a
Rim	Padrão	27,60	25,35	26,47 ^a
	Multimistura	19,86	20,26	20,06 ^b
Cérebro	Padrão	15,09	14,34	14,72 ^a
	Multimistura	14,09	14,28	14,18 ^a
Soro	Padrão	3,97	3,36	3,67 ^a
	Multimistura	3,56	3,68	3,62 ^a
Fosfatase alcalina	Padrão	124,49	96,03	110,27 ^a
	Multimistura	80,74	72,27	76,50 ^b

^{a,b} – Médias seguidas de uma mesma letra na coluna para um mesmo parâmetro não diferem entre si, pelo teste F a 5% de probabilidade.

Os primeiros sintomas da deficiência de zinco na maioria das espécies são um menor crescimento e uma depressão na ingestão de alimentos, por causar supressão do olfato e paladar (KUDO et al., 2000). Em um rato jovem, o crescimento cessa a partir do 5º dia de introdução de uma dieta extremamente deficiente em zinco, e a ingestão diminui em aproximadamente 60% do normal, iniciando um ciclo-padrão de ingestão diária, que acompanha picos de elevação seguidos de uma brusca queda (CHESTERS, 1997). Os animais do grupo de multimistura apresentaram menor crescimento (Quadro 3, $P < 0,05$) quando comparados com os do grupo-padrão. De acordo com os dados do Quadro 1, que traz a composição das dietas experimentais, pode-se dizer que a dieta de multimistura, tanto na dose 50 como na dose 100, apresentou diferenças em relação à dieta-padrão. Em termos quantitativos, a dieta MM50 continha todos os nutrientes que a dieta P50, diferindo apenas na fonte de Zn; em relação à P100, diferia em quantidade e fonte de Zn. Já a dieta MM100 diferiu das dietas P50 e P100 em outros aspectos e também da dieta MM50. Para alcançar 100% das recomendações de Zn para o rato (30 mg), na dieta MM100 foi necessário o acréscimo de 465,12 g de multimistura para cada 1.000 g de dieta. Diante desse fato, proporcional ao acréscimo de multimistura, foram substituídos na dieta original os macronutrientes por ela fornecidos como carboidratos, óleo e fibras. Entretanto, este último nutriente ficou excedente em relação ao recomendado, conferindo, assim, à dieta MM100 um valor calórico menor que o das demais dietas. Como a ingestão de dieta foi controlada, pode-se dizer que a de multimistura na dose 100 (MM100) teve eficiência alimentar menor que as demais dietas. Outro fator importante é que a proteína das dietas-padrão P50 e P100 era fornecida pela caseína, uma proteína de alto valor biológico, enquanto a proteína das dietas de multimistura era fornecida em parte pela própria multimistura e por uma porção de caseína. Assim, a qualidade nutricional entre as dietas não era equivalente, o que pode ter afetado o padrão de crescimento dos animais.

Vários fatores agrupados, como estresse, diminuem a concentração plasmática de zinco no animal, assim como ocorre em uma deficiência extrema deste mineral, dificultando o diagnóstico de um suprimento inadequado de zinco.

Tais fatores incluem infecção, endotoxinas bacterianas, cirurgias, queimaduras e gravidez. A resposta ao estresse é, no início, mediada por um fator inicialmente chamado de mediador endógeno de leucócitos e, agora, conhecido como interleucina-1 (IL-1). Isso está associado com aumento da captação de zinco principalmente pelo fígado, mas também pelo timo e pela medula óssea. No fígado, o zinco extra é ligado à metalotioneína, que pode ter sua síntese induzida por glicocorticóides em resposta ao estresse ou também pelo próprio aumento na concentração de zinco no tecido hepático (BAKER e AMMERMAN, 1995; CHESTERS, 1997). Neste estudo, foi observado que a média geral do teor de zinco no fígado dos animais que receberam multimistura foi superior à encontrada no grupo-padrão (Quadro 5, $P < 0,05$). O maior teor de zinco no fígado foi independente da dose, indicando que, mesmo em menor concentração na dieta, a multimistura levou a uma maior retenção ou captação desse mineral no fígado.

A fosfatase alcalina é uma enzima produzida principalmente por osteoblastos, cuja principal função é promover a deposição de cálcio na diáfise óssea. Desde que o zinco está relacionado à síntese de RNA e, conseqüentemente, à síntese de proteínas, a privação de zinco em animais experimentais apresenta um decréscimo nos níveis ósseo e sérico de fosfatase alcalina, com retorno da atividade normal após um suprimento adequado de zinco. Em adição ao seu papel na síntese de fosfatase alcalina, o zinco ainda é um componente estrutural de sua molécula, a qual possui 4 átomos, dos quais 2 são essenciais para sua atividade e menos firmemente ligados à molécula (BRANDÃO-NETO et al., 1995; DIMAI et al., 1998). Foi observado que a atividade de fosfatase alcalina no grupo da multimistura alcançou média inferior à observada no grupo-padrão (Quadro 5, $P < 0,05$), indicando que os animais que receberam multimistura poderiam estar sofrendo uma menor deposição de cálcio nos ossos, em comparação com os animais da dieta-padrão. Considerando que a fosfatase alcalina é dependente de zinco, tanto estrutural quanto funcionalmente, essa menor atividade poderia ser um indicativo da deficiência orgânica desse mineral.

O controle homeostático do zinco envolve grande número de mecanismos, mas o mais importante é sua regulação em nível intestinal. A deficiência de zinco resulta numa significativa redução em sua excreção urinária e secreção endógena no intestino (CHESTERS, 1997). No Quadro 5, mostra-se que os animais da dieta de multimistura apresentaram menor teor de zinco nos rins em relação aos animais do grupo-padrão independentemente da dose recebida ($P < 0,05$), indicando controle homeostático do zinco, uma vez que a absorção do mesmo pode estar diminuída nesse grupo.

O padrão cíclico de ingestão de alimento, observado numa situação de deficiência de zinco, é acompanhado por uma flutuação inversa em sua concentração plasmática. Aqui uma queda nos níveis plasmáticos de zinco provoca demanda de maior ingestão de alimentos, havendo aumento do apetite e conseqüente aumento sistêmico na disponibilidade de zinco. Foi verificado, neste estudo, que os níveis de zinco no plasma dos animais que receberam dieta de multimistura não diferiram dos níveis do grupo-padrão (Quadro 5, $P > 0,05$), indicando que a provável deficiência desse elemento nos animais não era severa a ponto de provocar-lhe depleção sérica desse mineral. Nesse caso havia, ainda, um controle homeostático do zinco regulando seus níveis plasmáticos. A quantidade de zinco no cérebro como um todo é bastante pequena, estando mais concentrado em determinadas áreas, como a região do hipocampo. No rato, o conteúdo de zinco no cérebro aumenta significativamente durante as 3 primeiras semanas de vida, durante o período de amamentação, ficando depois essencialmente estabilizado (CHESTERS, 1997).

Neste estudo, foi verificado que a concentração de zinco no cérebro dos animais nos dois grupos estudados não diferiu entre si ($P > 0,05$), nas duas doses estudadas. Tal fato confirma a informação de que ocorre estabilização do conteúdo de zinco no cérebro de ratos antes da introdução de uma dieta de desmame, pois mesmo em níveis abaixo da recomendação de zinco para ratos, tanto na dieta-padrão quanto na dieta de multimistura, não foram observadas alterações em seu conteúdo quando se avaliou o cérebro como um todo.

4. CONCLUSÃO

Ao se testar a biodisponibilidade de zinco a partir da multimistura, em relação ao padrão ZnCO_3 , foi observado que alguns parâmetros avaliados indicam que o zinco fornecido por essa dieta tem menor biodisponibilidade. As fontes foram testadas em duas doses, equivalentes a 50 ou 100% das recomendações de Zn para o rato (15 ou 30 mg de Zn/kg de dieta, respectivamente). O ganho de peso observado nos animais que receberam multimistura foi menor quando comparado com o padrão ($P < 0,05$). Entretanto, quando se forneceu multimistura como fonte de zinco, o valor nutricional da dieta foi alterado, o que pode ter também contribuído para o menor ganho de peso dos animais.

Observou-se que o teor de zinco nos fêmures direitos, fígado e rins dos animais experimentais, bem como sua relação com a atividade de fosfatase alcalina, teve diferença quanto à fonte de zinco fornecida. Foi verificado menor teor de zinco nos fêmures dos animais que receberam multimistura ($P < 0,05$). Esse parâmetro apresentou, ainda, uma média menor quando foi aumentado o teor de multimistura na dieta, o que pode ter elevado, também, o fornecimento de fatores inibidores da absorção de zinco como os fitatos presentes na multimistura. Os outros parâmetros alterados também indicaram menor biodisponibilidade de zinco da multimistura, uma vez que foram observados

maior teor no fígado, menor atividade de fosfatase alcalina e menor teor nos rins dos animais que a consumiram. Esses três parâmetros envolvem o controle homeostático do organismo em relação ao estado nutricional de zinco, indicando uma possível deficiência deste elemento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, D.H.; AMMERMAN, C.B. Zinc bioavailability. In: AMMERMAN, C.B.; BAKER, D.H.; AUSTIN, J.L. **BIOAVAILABILITY of nutrients for animals**. Amino acids, minerals, and vitamins. New York: Academic Press, 1995. p. 367-398.

BRANDÃO, C.T.; BRANDÃO, R.F. **Alimentação alternativa**. Brasília: Centro de Pastoral Popular, 1996. 69 p.

BRANDÃO-NETO, J.; STEFAN, V.; MENDONÇA, B.; BLOISE, W.; CASTRO, A.V. B. The essential role of zinc in growth. **Nutr. Res.**, v. 15, n.3, p. 335-358, 1995.

CHESTERS, J.K. Zinc. In: O'DELL, B.L.; SUNDE, R.A. **Handbook of nutritionally essential minerals elements**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1997. p. 185-230.

DIMAI, H.P.; HALL, S.L.; STILT-COFFING, B.; FARLEY, J.R. Skeletal response to dietary zinc in adult female mice. **Calcif. Tissue Int.**, v. 62, n. 4, p. 309-315, 1998.

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: Savier, 1998. 403 p.

ELLIS, R.; KELSAY, J.L.; REYNOLDS, R.D.; MORRIS, E.R.; MOSER, P.B.; FRAZIER, W. Phytate:zinc and phytate x calcium:zinc millimolar ratios in self-selected diets of Americans, Asian Indians, and Nepalese. **J. Amer. Diet. Assoc.**, v. 87, n. 8, 1043-1047, 1987.

FLEET, J.C. Zinc, copper and manganese. In: STIPANUK, M.H. **Biochemical and physiological aspects of human nutrition**. Philadelphia: Saunders Company, 2000. p. 732-760.

FORDYCE, E.J.; FORBES, R.M.; ROBBINS, K.R.; ERDMAN-JR., J.W. Phytate x calcium/zinc molar ratios: are they predictive of zinc bioavailability? **J. Food Sci.**, v. 52, n. 2, p. 440-444, 1987.

FEDERICO, A.; IODICE, P.; FEDERICO, P.; DEL RIO, A.; MELLONE, M.C.; CATALANO, G.; FEDERICO, P. Effects of selenium and zinc supplementation on nutritional status in patients with cancer of digestive tract. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 55, p. 293-297, 2001.

KUDO, H.; DOI, Y.; NISHINO, T.; NARA, S.; HAMASAKI, K.; FUJIMOTO, S. Dietary zinc deficiency decreases glutathione S-transferase expression in the rat olfactory epithelium. **J. Nutr.**, v. 130, n. 1, p. 38-44, 2000.

PASSOS, M.N.C.; ANCÂNTARA, L.T.S. **Alimentação alternativa** – Uma proposta preventiva de saúde bucal coletiva. Brasília: UnB, 1996. 50 f. Monografia (Curso de Especialização em Odontologia em Saúde Coletiva) - Universidade de Brasília, Brasília.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; LINDLAUF, J. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final reports of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J. Nutr.**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 5.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1993. (Software).

SAHA, P.R.; WEAVER, C.M.; MASON, A.C. Mineral bioavailability in rats from intrinsically labeled whole wheat flour of various phytate levels. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, p. 2531-2535, 1994.

SANGHA, J.K.; PARMAR, A.K.; SACHDEVA, R. Mineral content of wheat cultivars with reference to their molar ratios. **J. Food Sci. Technol.**, v. 35, n. 2, p. 151-153, 1998.

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

SZCZUREK, E.I.; BJORNSSON, C.S.; TAYLOR, C.G. Dietary zinc deficiency and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine. **J. Nutr.**, v. 131, p. 2132-2138, 2001.

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

CAPÍTULO 3

BIODISPONIBILIDADE DE FERRO DE UMA MULTIMISTURA ISOLADAMENTE E NO CONTEXTO DE UMA DIETA DE ARROZ E FEIJÃO

1. INTRODUÇÃO

Aproximadamente 50% da população sofre de anemia, em países menos desenvolvidos como a África e Ásia, comparados a 25% na América Latina e cerca de 10% nos países industrializados da Europa.

A maior causa da anemia nos países em desenvolvimento é decorrente do baixo consumo e da baixa biodisponibilidade de ferro (HURRELL, 1997; CONRAD, 2002). O ferro não-heme é o ferro inorgânico Fe^{+3} e encontra-se presente em vegetais, cereais e leguminosas, sendo pobremente absorvido, em torno de 5 a 20% (TORRES e LAYRISSE, 1991; BIANCHI et al., 1992; CLAUD e FREITAS, 1994; BENITO e MÜLER, 1998). Embora a porcentagem de absorção do ferro não-heme seja consideravelmente inferior, a quantidade dessa forma de ferro na dieta é, muitas vezes, superior à do ferro heme (CLAUD e FREITAS, 1994; ZIJP et al., 2000), visto que os alimentos de origem vegetal

podem contribuir com cerca de 90% do ferro ingerido nos países desenvolvidos e até 100% nos países em desenvolvimento (BIANCHI et al., 1992).

A biodisponibilidade do ferro pode variar consideravelmente em virtude dos efeitos favorecedores ou inibidores de outros componentes da dieta sobre a absorção do ferro e, especialmente, no que se refere às fontes menos acessíveis, influenciando as características físicas do composto de ferro em questão (HURRELL, 1984; BEARD et al., 1996; BAYNES e STIPANUK, 2000).

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

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

No Brasil, a principal fonte protéica da alimentação de famílias de baixo poder aquisitivo é derivada da ingestão de arroz e feijão. O consumo elevado de

arroz tem sido relacionado à alta incidência de deficiência de ferro em algumas regiões. O seu teor de ferro é cerca de 1,3 mg/100 g, mas a quantidade absorvida depende de alguns fatores, como o tipo de arroz (conteúdos diversos de fitato), tipo de moagem e polimento. No arroz polido, a concentração de fitato varia de 11,5 a 66 mg/100 g (ANGELIS e CTENAS, 1993).

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

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

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparo e análise dos ingredientes

2.1.1. Multimistura

A multimistura em estudo era composta de 33% de farinha de trigo, 33% de fubá de milho, 32% de farelo de trigo, 1% de pó de folha de mandioca e 1% de pó de casca de ovo. A farinha de trigo e o fubá de milho, adquiridos no comércio local, foram acrescentados crus à mistura. O farelo de trigo, também adquirido no comércio local, foi torrado previamente à sua incorporação à multimistura. As folhas de mandioca foram adquiridas já desidratadas e foram processadas, em multiprocessador doméstico, para obtenção do pó. As cascas de ovo de galinha foram obtidas em uma panificadora local e processadas de acordo com o manual da alimentação alternativa (BRANDÃO e BRANDÃO, 1996). Assim, as cascas foram lavadas em água corrente e fervidas por 20 minutos. O processo de secagem ao sol foi substituído pelo uso de estufa com ar circulante a 60 °C/6 horas, sendo, posteriormente, as cascas liquidificadas para obtenção do pó. Depois de preparar os ingredientes, estes foram misturados nas proporções supracitadas para, então, constituírem a multimistura avaliada nesta pesquisa.

2.1.2. Arroz e feijão

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

2.1.3. Determinação do teor de ferro

A concentração de ferro foi determinada utilizando-se uma mistura digestora nitroperclórica na proporção de 3:1. A digestão procedeu-se a quente, em blocos com controle de temperatura, entre 100 e 150 °C, por aproximadamente 6 horas até a obtenção de uma solução límpida. Nas soluções minerais foram, então, analisados os teores de ferro por espectrometria de absorção atômica, em aparelho modelo GBC 908 AA.

2.1.4. Desmineralização das vidrarias

As vidrarias e utensílios utilizados tanto na determinação do teor de minerais quanto nos ensaios biológicos foram desmineralizados, utilizando-se uma solução de HCl 20%, na qual permaneceram por 24 horas, sendo, posteriormente, enxaguados com água deionizada.

2.2. Biodisponibilidade de ferro

2.2.1. Modelo experimental

Foram utilizados 80 ratos machos (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe Rodentia), da linhagem Wistar, recém-desmamados, com peso inicial entre 60 e 75 g.

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

O experimento constituiu-se de duas fases: depleção e repleção de hemoglobina. Na fase de depleção, os ratos receberam, durante 14 dias, dieta-controlada adaptada da AIN-93G (REEVES et al., 1993), deficiente em ferro, com o objetivo de induzir anemia ferropriva (Quadro 1). Após o período de depleção, coletou-se o sangue, por meio de secção da porção terminal da cauda dos animais, determinando o nível de hemoglobina. Foram considerados anêmicos os animais que apresentaram nível de hemoglobina inferior a 8 g/dL de sangue. No primeiro dia dessa fase foi medido o nível basal de hemoglobina de oito animais.

Os animais anêmicos foram separados de acordo com o peso e a concentração de hemoglobina, de maneira que as médias dos grupos nesses parâmetros fossem as mais próximas possíveis. Nessa fase, os animais foram mantidos em dietas com diferentes níveis (0, 6, 12 e 24 mg de ferro/kg) e fontes de ferro (sulfato ferroso, multimistura isoladamente ou arroz+feijão+multimistura) (Quadro 1).

A fase de repleção teve duração de 14 dias, sendo ao final desse período realizadas novas dosagens de hemoglobina.

2.2.2. Composição e preparo das dietas experimentais

A dieta-padrão teve como fonte de ferro o sal sulfato ferroso, e os grupos-teste consumiram multimistura isoladamente ou adicionada a uma dieta de arroz e feijão, como fonte de ferro dietético. Os ingredientes da mistura arroz+feijão+multimistura foram usados na proporção de 50, 48 e 2%, respectivamente. O teor de multimistura foi definido com base na quantidade habitualmente consumida pela população, que corresponde a cerca de 20 g diários.

Quadro 1 – Composição das dietas experimentais do ensaio de biodisponibilidade de ferro (g/100 g)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.2.3. Determinação da concentração de hemoglobina

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

2.2.4. Delineamento experimental

A biodisponibilidade de ferro foi avaliada pela mensuração do ganho de hemoglobina, do primeiro ao décimo quarto dia da fase de repleção. Foram analisados 10 tratamentos, utilizando-se um esquema fatorial 3x3 (níveis *versus* fontes de ferro) e um controle (testemunha) no delineamento em blocos casualizados (DBC), com 8 repetições (animais). Os dados referentes a ganho de peso e ganho de hemoglobina, durante a fase de repleção, foram interpretados pela decomposição da interação. Utilizou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação de médias entre as dietas num mesmo nível de ferro, bem como a análise de regressão a 5% de probabilidade da mesma dieta em seus diferentes níveis. Procedeu-se a um teste de Dunnet, comparando os resultados do ganho de hemoglobina da testemunha com os dos demais tratamentos (VIEIRA e HOFFMANN, 1989). Para essas análises foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, versão 5.0, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análise do teor de ferro dos ingredientes

Observou-se um teor de 5,27 mg de Fe/100 g na multimistura, 0,87 mg de Fe/100 g no arroz e 6,91 mg de Fe/100 g no feijão, após cozidos e secados.

3.2. Ensaio de biodisponibilidade de ferro

O consumo de dieta pelos animais durante o experimento foi controlado, em que todos receberam entre 15 e 18 g diários.

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

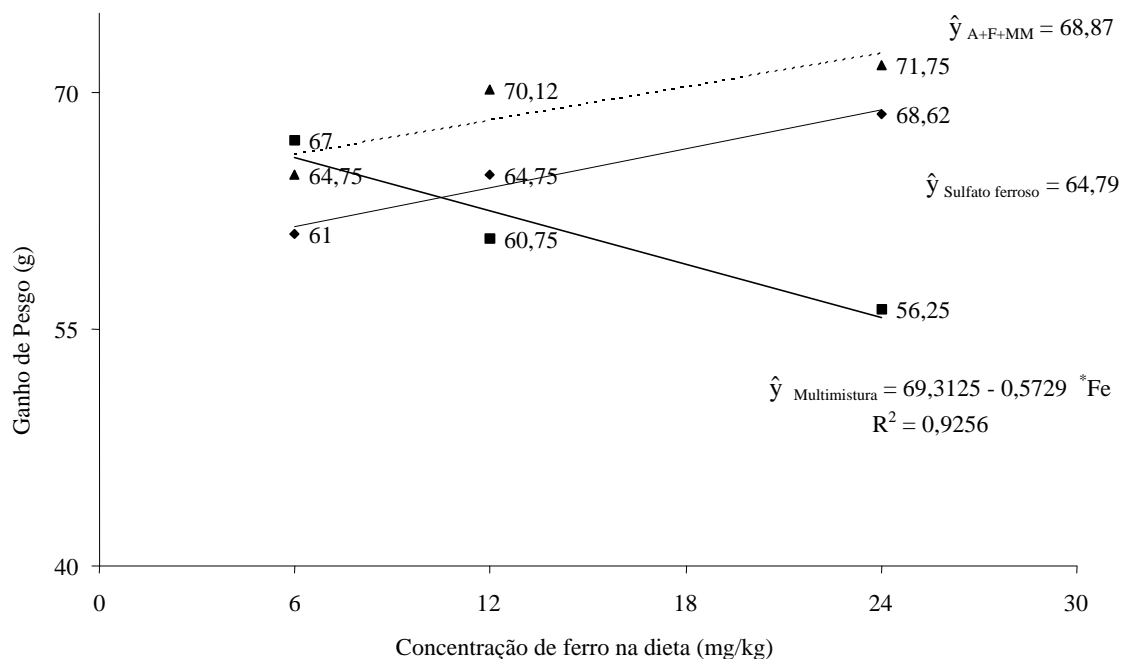
Quadro 2 – Média dos ganhos de peso dos ratos alimentados com três dietas contendo sulfato ferroso (padrão), multimistura ou arroz + feijão adicionada de multimistura com 6, 12 e 24 mg de ferro/kg de dieta

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

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

A Figura 1 ilustra o incremento no ganho de peso de cada dieta estudada. Observou-se que nas dietas com sulfato ferroso (controle) e com a mistura arroz + feijão + multimistura o ganho de peso não foi influenciado pelo nível de ferro, uma vez que o incremento das retas não foi significativo ($P > 0,05$). Já na dieta de multimistura verificou-se que, à medida que aumentava o teor de ferro, havia menor ganho de peso. A multimistura utilizada é uma fonte rica de fibras alimentares apresentando 18,31 g/100 g, dos quais 17,51 g são fibras insolúveis (SANT'ANA et al., 2000). As fibras insolúveis aumentam o bolo fecal, estimulando o peristaltismo e a frequência das defecações (FEDERMAN, 1989), podendo levar a uma menor absorção de nutrientes.

Neste experimento foi, ainda, observado que a dieta de multimistura com 24 mg de Fe tinha, por composição, maior quantidade de multimistura, o que levou à redução no fornecimento de ingredientes como caseína e óleo de soja e ao aumento do teor de fibras, extrapolando-se as necessidades dos animais (Quadro 2). Esse fato pode ter contribuído para o menor ganho de peso dos animais que receberam essa dieta, uma vez que o valor calórico era menor e a quantidade de proteína da caseína, de alto valor biológico, também estava reduzida. As demais dietas experimentais contendo multimistura e, ou,



* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t

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

arroz+feijão+multimistura também apresentaram diferenças quando comparadas com as dietas-padrão. Entretanto, essas diferenças não alteraram a composição de forma significativa, quanto ao fornecimento dos ingredientes calóricos.

A multimistura em estudo apresenta, ainda, altos conteúdos de oxalato e fitato (SANT'ANA et al., 2000), que são inibidores da absorção de cátions divalentes, como ferro, cálcio e zinco (SCHLEMMER et al., 1995). PALLARÉS et al. (1996), estudando o efeito da deficiência de ferro no metabolismo de micronutrientes, relataram que a deficiência de ferro reduziu a eficiência alimentar da dieta, pois os animais do grupo deficiente em ferro tiveram menor ganho ponderal, uma vez que o consumo entre os animais deficientes e os animais-controle era o mesmo. Assim, o menor ganho de peso ($P < 0,05$) observado nos animais da dieta de multimistura com 24 mg de Fe/100 g pode ter sido devido, em parte, à deficiência de ferro, uma vez que o consumo foi controlado durante o experimento.

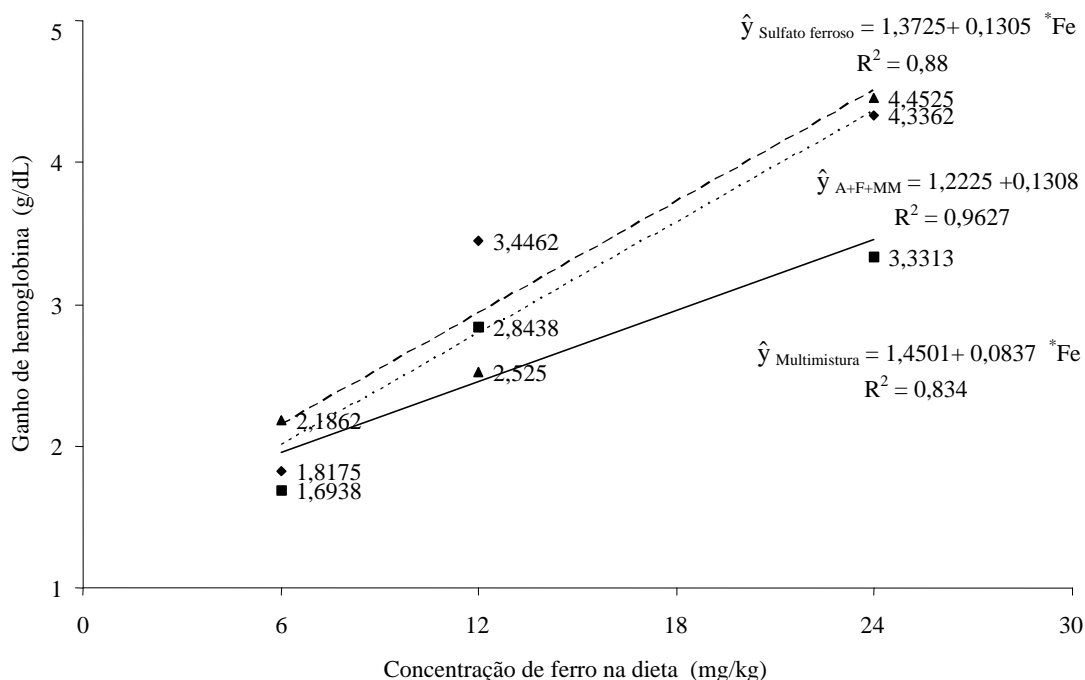
No Quadro 3, observam-se os valores médios do ganho de hemoglobina dos animais durante a fase de repleção. Estabelecendo uma comparação entre as dietas com mesmo teor de ferro, verificou-se que não houve diferença ($P>0,05$) entre as dietas estudadas, sendo o ganho de hemoglobina igual nas três dietas com mesmo nível de ferro. Com relação ao grupo-controle (testemunha, com média de ganho de hemoglobina de $-0,6025$ g/dL), observou-se que o ganho de hemoglobina dos animais dos demais tratamentos foi superior (teste de Dunnet, $P<0,05$), uma vez que a dieta consumida por esses animais não sofreu acréscimo de ferro.

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

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

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

Na Figura 2, observa-se o incremento no ganho de hemoglobina pelos animais da mesma dieta com níveis diferentes de ferro. Verificou-se que houve incremento no ganho de hemoglobina com o aumento no teor de ferro das três dietas estudadas, uma vez que a inclinação das retas foi significativa pelo teste t ($P<0,05$). Entretanto, não houve diferença estatística ($P>0,05$) no ganho de hemoglobina entre as três dietas experimentais. OLIVEIRA (1997), estudando a biodisponibilidade de ferro em uma mistura de arroz e feijão (na proporção de



* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t

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

30% de arroz: 70% de feijão, constituindo 30% da base protéica da dieta), observou que essa mistura fornece ferro de baixa biodisponibilidade. Neste estudo, foi observado que, mesmo ingerindo 100% das recomendações de ferro, a mistura arroz + feijão diminuía significativamente a absorção de ferro.

Alguns pontos importantes devem ser levantados quando se utilizam modelos animais, em que se pode superestimar a biodisponibilidade em relação a humanos. No caso específico da absorção de ferro, deve-se levar em consideração que o rato apresenta algumas peculiaridades, como produção de vitamina C, a qual interfere positivamente na biodisponibilidade do ferro, além de possuir fitase, enzima capaz de desfazer quelatos do tipo fitato-minerais, aumentando a biodisponibilidade do mineral para absorção intestinal (POINTILLART e GUÉGUEN, 1992; ZHOU e ERDMAN-JR., 1995). Assim, os resultados de biodisponibilidade de minerais podem sofrer interferências pela

presença desses fatores. No estudo em questão, as dietas compostas de multimistura isoladamente ou arroz+feijão+multimistura tinham presentes em sua composição fatores antinutricionais, como fitato, oxalato e as próprias fibras alimentares, que podem causar redução na absorção de ferro dietético. Entretanto, não foram observados resultados que refletissem tal fato, o que pode estar associado aos fatores promotores intrínsecos ao próprio modelo animal (vitamina C e fitase), bem como à concentração de inibidores, que poderia ser insuficiente para causar maior deficiência.

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

A presença de fatores antinutricionais na multimistura e no feijão, principalmente, poderia afetar a absorção e utilização de ferro em humanos de forma distinta da observada no presente estudo. Ademais, a dieta de multimistura, quando consumida em maior proporção, proporcionou menor ganho de peso nos animais, o que pode ter sérias implicações negativas quando consumida por crianças desnutridas em fase de crescimento. Ainda, BAYNES e STIPANUK (2000) comentaram que o modelo animal utilizando ratos é insuficiente como preditor da absorção de ferro em humanos, o que limita as conclusões do presente estudo. Assim, as dietas contendo multimistura,

isoladamente ou num contexto de uma mistura de arroz e feijão, forneceram ferro de biodisponibilidade semelhante à observada no sulfato ferroso. As três são fontes de ferro não-hemínico, estando sujeitas a interações dietéticas com fatores promotores ou inibidores de sua absorção. É, portanto, necessário cautela na utilização das mesmas como fontes de recuperação de anemia. O sulfato ferroso, por si, é dado como medicamento, em doses muito acima das necessidades e por um período suficiente para promover a recuperação dos níveis de hemoglobina. Já a multimistura seria utilizada como suplemento em doses diárias pequenas (2 colheres de sopa/dia), o que, por sua composição, forneceria cerca de 5% das recomendações de ferro para crianças em idade pré-escolar. Ainda, a mistura arroz e feijão, base alimentar da dieta, tem um ferro de biodisponibilidade também dependente de fatores dietéticos, o que implica maiores cuidados quando se fazem associações com outras fontes alimentares que possam fornecer inibidores como os oxalatos e fitatos fornecidos pela multimistura em estudo.

4. CONCLUSÃO

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELIS, R.C.; CTENAS, M.L.B. Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil. *Temas de Pediatria. Serviço de Informação Científica. Nestlé*, n, 52, p. 53, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 14. ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141 p.

BAYNES, D.; STIPANUK, M.H. Iron. In: STIPANUK, M.H. **Biochemical end physiological aspects of human nutrition**. Philadelphia: Saunders Company, 2000. p. 711- 740.

BEARD, J.L.; DAWSON, H.; PIÑERO, D.J. Iron metabolism: a comprehensive review. **Nutr. Rev.**, v.54, n.10, p.295-317, 1996.

BEAUSSET, I. **Estudios de las bases científicas para el uso de alimentos alternativos en la nutrición humana**. [S.l.]: INAM/ UNICEF, 1992. 56 p. (Apostila).

BENITO, P.; MÜLER, D. Iron absorption and bioavailability na updated review. **Nutr. Res.**, v. 18, n. 1, p. 581-603, 1998.

BIANCHI, M.L.P.; SILVA, H.C.; OLIVEIRA, J.E.D. Considerações sobre a biodisponibilidade de ferro dos alimentos. **Arch. Latinoam. de Nutr.**, v.42, n.2, p.94-100, 1992.

BRANDÃO, C.T.; BRANDÃO, R.F. **Alimentação alternativa**. Brasília: Centro de Pastoral Popular, 1996. 69 p.

CLAUD, M. V.; FREITAS, O. Compostos alternativos para o tratamento e/ou prevenção da anemia ferropriva. **Cad. Nutr.**, v. 8, p. 1-9, 1994.

CONRAD, M.E. Anemia. **eMedical J.**, v. 3, n. 2, 2002. Disponível em: www.emedicine.com. (Extraído em 15 de fevereiro de 2002).

FEDERMAN, S. Prevenção das principais causas de morbidade e mortalidade. **R. Bras. Clín. Ter.**, v. 18, n. 7, p. 273- 288, 1989.

GÓMEZ-AYALA, A.E.; CAMPOS, M.S.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; PALLARÉS, I.; HARTITI, S.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M.J.M.; RODRÍGUEZ-MATAS, M.C.; LISBONA, F. Effect of source of iron duodenal absorption of iron, calcium, phosphorus, magnesium, copper and zinc in rats with ferropenic anaemia. **Internat. J. Vit. Nutr. Res.**, v. 67, 106-114, p. 1997.

HALBERG, L.; HULTHEN, L. Prediction of dietary iron absorption: na algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, n.5, p. 1147-60, 2000.

HURRELL, R. F. Biodisponibilidad de las diferentes sales de hierro empleadas para enriquecer las fórmulas infantiles y los cereales: problemas tecnológicos. In: **EL HIERRO en la alimentacion del lactente y del niño**. [S.l.]: Nestlé Nutrition, 1984. p. 44-48.

HURRELL, R.F. Preventing iron deficiency through food fortification. **Nutr. Rev.**, v.55, n.6, p.210-22, 1997.

LYNCH, S.R.; BEARD, J.L.; DASSENKO, S.A.; COOK, J.D. Iron absorption from legumes in humans. **The Am. J. of Clin. Nutr.**, v.40, p.42-7, 1984.

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

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

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

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

REDDY, M.D.; HURRELL, R.F.; COOK, J.D. Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition, **Am. J. of Clin. Nutr.**, v.71, n.4, p.937-43, 2000.

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

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 5.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1993. (Software).

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

SCHLEMMER, U.; MÜLLER, H.; JANY, K.D. The degradation of phytic acid in legumes prepared by different methods. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 49, n. 3S, p.S 207-S210, 1995.

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

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

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

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

CAPÍTULO 4

EFEITO DE UMA MULTIMISTURA ALIMENTAR NO ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO FERRO EM PRÉ-ESCOLARES

1. INTRODUÇÃO

Uma estimativa feita pela Organização Panamericana de Saúde, com base em estudos locais e, ou, estaduais, aponta o Peru como o país com maior prevalência de anemia em toda a América Latina e Caribe (57%), seguido do Brasil, onde 35% das crianças de 1 a 4 anos estão anêmicas. Assim, com base neste estudo, seriam quase 5 milhões de crianças com anemia no Brasil, apenas na faixa etária indicada (MORA e MORA, 1997; NEUMANN et al., 2000).

A deficiência de ferro é considerada a carência nutricional mais prevalente em todo o mundo, afetando, principalmente, lactentes, pré-escolares, adolescentes e gestantes. A anemia, por diminuição anormal na concentração de hemoglobina no sangue, é considerada a principal consequência da deficiência de ferro. Em sua fase mais avançada, está associada a sintomas clínicos, como fraqueza, diminuição da capacidade respiratória e tontura. Mesmo na ausência de anemia, a deficiência de ferro pode acarretar distúrbios neurológicos (PAIVA et

al., 2000; DAVIDSSON et al., 2000), às vezes com conseqüências irreversíveis (CONRAD, 2002b).

O metabolismo de ferro no organismo pode ser simplificado, dividindo-se sua atuação em três compartimentos: ferro funcional, ferro em transporte e ferro estocado. O ser humano não apresenta mecanismo de excreção de ferro e todo o balanço desse metal é controlado através de mecanismos de absorção. O ferro funcional constitui cerca de 75% de todo o ferro corporal e encontra-se basicamente sob a forma de hemoglobina, mas também como mioglobina e em constituintes de enzimas. O ferro em transporte responde por menos de 1% do total e está, primariamente, na forma de transferrina. O ferro estocado encontra-se no organismo como ferritina e hemossiderina, representando cerca de 24% do total, ressaltando-se que os recém-nascidos a termo esgotam seus estoques por volta do 4^o mês de vida. Sabe-se, atualmente, que os déficits de desenvolvimento observados em crianças com anemia por deficiência de ferro geralmente não são encontrados naquelas em que ocorre deficiência de ferro sem anemia, o que torna ainda mais importante o diagnóstico para que se faça o tratamento. A anemia por deficiência de ferro é um processo evolutivo que se inicia com a depleção dos estoques de ferro, passa pela queda no ferro em transporte e termina na redução do ferro ligado à hemoglobina, resultando na anemia clínica (ALMEIDA, 2000; CONRAD, 2002a).

CONRAD (2002b) apontou a dieta como um dos principais fatores na instalação do quadro de deficiência. Relatou que, em países onde a ingestão de carne é muito reduzida, a prevalência de anemia chega a ser de 6 a 8 vezes maior que nos Estados Unidos, cuja população tem adequada ingestão de alimentos de origem animal. Além da baixa quantidade de ferro heme, o consumo de ferro não-heme, que tem absorção menor em relação ao primeiro, associado com parasitoses intestinais, principalmente por helmintos, que causam perda de sangue do trato gastrointestinal importante, favorece essa situação de deficiência em alguns países.

O ferro heme presente em carnes, peixes e aves constitui cerca de 10%, ou menos, do total de ferro ingerido na dieta. Sua absorção não é afetada por

fatores dietéticos, como ocorre com o ferro não-heme. Este, proveniente de alimentos de origem vegetal, deve ser solubilizado e reduzido para ser absorvido, em que vários fatores dietéticos atuam estimulando ou inibindo o processo (GÓMES-AYALA et al., 1997; ZIJP et al., 2000). No Brasil, o sulfato ferroso é a fonte de ferro mais utilizada para a suplementação; entretanto, por ser um ferro inorgânico, não hematínico, sua absorção também está comprometida quando na presença de fatores que inibem sua absorção, além de apresentar efeitos colaterais (SIMÕES et al., 1999; CONRAD, 2002). Várias são as tentativas de se fornecer, através da dieta, a quota de ferro necessária. Muitos suplementos têm sido desenvolvidos e testados. Alimentos alternativos, como farelos de cereais, folhas verde-escuras, sementes e cascas de frutas, têm sido introduzidos na dieta habitual como uma forma de enriquecê-la. Esses alimentos não-convencionais, em sua grande maioria de origem vegetal, formam as multimisturas, que são oferecidas aos animais em pequenas quantidades ao dia, com o intuito de fornecer os minerais e vitaminas que são perdidos durante o processamento ou beneficiamento de alimentos.

SANT'ANA et al. (2000), estudando o valor nutritivo de alguns desses alimentos, verificaram que são fontes potenciais de minerais, como o ferro, cálcio e zinco, entretanto pouco, ou quase nada, se sabe sobre sua biodisponibilidade, que pode estar comprometida pela presença de fitatos, oxalatos e inibidor de tripsina. No Brasil, a alimentação alternativa visa, entre outras coisas, recuperar o estado nutricional de ferro em crianças, fornecendo-lhes multimisturas.

Considerando que as multimisturas são alimentos não-convencionais de origem vegetal, que trazem grande quantidade de antinutrientes, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de uma multimistura alimentar no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares da rede municipal de ensino do município de Viçosa, MG.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Multimistura

A multimistura utilizada nos estudos era composta por 33% de farinha de trigo, 33% de fubá de milho, 32% de farelo de trigo, 1% de pó de folha de mandioca e 1% de pó de casca de ovo. A farinha de trigo e o fubá de milho, adquiridos no comércio local, foram acrescentados crus à mistura. O farelo de trigo, também adquirido no comércio local, foi torrado previamente à sua incorporação à multimistura. As folhas de mandioca, adquiridas já desidratadas, foram processadas, em multiprocessador doméstico, para obtenção do pó. As cascas de ovo de galinha foram obtidas em uma panificadora local e processadas de acordo com o manual da alimentação alternativa (BRANDÃO e BRANDÃO, 1996). Assim, as cascas foram lavadas em água corrente e fervidas por 20 minutos, sendo o processo de secagem ao sol substituído pelo uso de estufa com ar circulante a 60 °C/6 horas, em que essas cascas foram, posteriormente, liquidificadas para obtenção do pó. Depois de preparar os ingredientes, estes foram misturados nas proporções supracitadas para, então, constituírem a multimistura avaliada nesta pesquisa.

2.2. Efeito da multimistura alimentar no estado nutricional relativo ao ferro em pré-escolares

2.2.1. Diagnóstico de saúde e nutrição da população em estudo

Foram realizados contatos iniciais com a Secretaria de Educação do Município de Viçosa, MG, onde foram esclarecidos os objetivos do trabalho e apresentado o protocolo previamente aprovado pelo Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa.

As creches selecionadas foram, então, visitadas, seguido de reuniões com professores, monitores e pais ou responsáveis. Nessas reuniões foram passadas informações e esclarecimentos sobre os objetivos e a forma de execução dos trabalhos. Aos pais e responsáveis pelas crianças foi solicitada uma autorização escrita de um termo de consentimento.

Na etapa inicial foram recrutadas 53 crianças, de 25 a 68 meses de idade, distribuídas em três creches da rede municipal de ensino de Viçosa, MG. Essas creches funcionavam em regime de 8 horas, fornecendo, nesse período, três refeições: lanche da manhã, almoço e lanche da tarde, de segunda a sexta-feira.

Entre outros critérios, o termo de consentimento previu que as crianças deveriam ser voluntárias, ter índices normais de hemoglobina ($> 11,0$ g/dL) e consumir satisfatoriamente os produtos oferecidos, tanto em quantidade como em frequência de consumo. Em virtude desses critérios, houve variações no número de crianças participantes nas diversas análises realizadas.

As crianças foram submetidas a avaliações dietética, antropométrica e bioquímica, no início e final do estudo.

- **Avaliação dietética**

Para avaliação do consumo quantitativo de alimentos que a criança ingeriu no período em que estava na creche, foi utilizado o método de pesagem direta, durante três dias da semana. Pesou-se cada porção dos alimentos que

compunham as três refeições servidas nas creches em balança digital, portátil, marca Aculab, com capacidade para 2 kg e divisão de 1 g.

Por meio do método recordatório de 24 horas (PAO e CYPEL, 1997), foram obtidas as informações dos responsáveis pelas refeições realizadas pelas crianças fora das creches nesses mesmos dias, com base na “Tabela para Avaliação de Consumo Alimentar em Medidas Caseiras” (PINHEIRO et al., 2001). As análises e cálculos das dietas foram feitos com o auxílio do “software” DIETPRO, versão 2.0 (MONTEIRO e ESTEVES, 1996).

- **Avaliação antropométrica**

As crianças foram avaliadas antropometricamente quanto ao peso e à altura. Foram feitas análises dos índices de peso para idade (P/I), peso para estatura (P/E) e estatura para idade (E/I), utilizando-se como critério o diagnóstico “z-score”. Considerou-se, nessas análises, a referência antropométrica do National Center for Health Statistics – NCHS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE – OMS, 1986), com o auxílio do “software” EPI-INFO, versão 6.01 (DEAN et al., 1990).

Como ponto de corte para desnutrição, utilizou-se o critério $-2z$ para o índice de peso/idade e, ou, peso/estatura (OMS, 1986). Foram considerados como risco para desnutrição o peso/idade e, ou, o peso/estatura no intervalo entre -1 e $-2z$. O ponto de corte de $-2z$ foi também utilizado para o diagnóstico de baixa estatura, considerando-se o índice de estatura/idade. As crianças que se encontravam entre -1 e $-2z$ foram classificadas como tendo déficit estatural. Ainda, foram consideradas obesas aquelas crianças com os índices peso/idade e, ou, peso/estatura acima de $+2z$. As crianças que apresentaram tais índices entre $+1$ e $+2z$ foram classificadas como de risco com relação à obesidade.

Para a medida de peso foi utilizada uma balança portátil, digital e eletrônica, marca Kratos, com capacidade para 150 kg e divisão de 50 g. As medidas de altura foram feitas com o uso de fita métrica metálica (“Microtoise –

Stanley – Mabo Ltda.”), com extensão de 2 m e divisão de 1 mm. As técnicas utilizadas para obtenção de peso e altura foram as propostas por JELLIFE (1966).

- **Avaliação bioquímica (exames hematológicos)**

Os exames bioquímicos também foram realizados no início e ao término do período de estudo. A coleta de sangue das crianças foi na creche a que pertenciam, após jejum de 10 horas, por um bioquímico, auxiliado por um técnico de enfermagem. Foram colhidas em seringas descartáveis, por punção venosa, amostras de aproximadamente 6 mL de sangue. Cerca de 3 mL da amostra colhida eram transferidos para um tubo com anticoagulante EDTA, para realização do eritrograma (contagem de hemácias, hematócrito, concentração de hemoglobina); e o restante de sangue foi transferido para um tubo sem anticoagulante, para obtenção do soro, no qual foram determinados os níveis de ferritina e ferro sérico.

O eritrograma foi realizado em aparelho Cobas Argos – Roche. O ferro sérico foi determinado pelo método químico de Goodwin, modificado (Ferrozine), em “kit”, marca *in vitro diagnóstica*; e a ferritina sérica foi determinada por quimioluminescência, em aparelho Imulite 1000 – DPC Medilab.

As análises hematológicas foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas Santa Rita de Cássia, em Viçosa, MG.

2.2.2. Período de intervenção nutricional

- **Composição em ferro e preparo dos produtos de panificação**

O estudo foi realizado em três creches municipais, cada uma constituindo um grupo experimental. Na creche A, as crianças receberam os produtos de panificação sem acréscimo de ferro (placebo, n=9). Na creche B (padrão, n=12), elas receberam os produtos acrescidos de sulfato ferroso em quantidade equivalente ao teor de ferro fornecido pelas preparações com multimistura. E, na

creche C (multimistura, n=15), as crianças receberam produtos, cuja multimistura era a fonte de ferro. A multimistura avaliada era composta de 33% de farinha de trigo, 33% de fubá de milho, 32% de farelo de trigo, 1% de pó de folha de mandioca e 1% de pó de casca de ovo, contendo cerca de 5,3 mg Fe/100 g.

A intervenção deu-se através do fornecimento de produtos de panificação (bolos e biscoitos) servidos às crianças durante 70 dias, de segunda a sexta-feira, no lanche da manhã. Este lanche foi modificado, em que os biscoitos servidos foram substituídos pelos produtos testados.

No Quadro 1, mostra-se o teor de ferro programado para os produtos confeccionados que serviram de veículo das fontes desse mineral.

As receitas dos produtos anteriormente indicados eram elaboradas todo dia, segundo FERREIRA et al. (2000), no Laboratório de Estudo Experimental dos Alimentos, do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (Figura 1). Os produtos eram transportados individualmente em embalagens de isopor, contendo a identificação da criança.

- **Distribuição**

A distribuição era diária (de 2^a a 6^a feira), e cada criança recebia a sua porção.

2.2.3. Avaliação da intervenção

Algumas crianças foram excluídas da amostra por não terem realizado o segundo exame hematológico. Assim, 36 crianças, com níveis normais de hemoglobina, distribuídas nas três creches da rede municipal de ensino de Viçosa, MG, participaram da avaliação final do estudo.

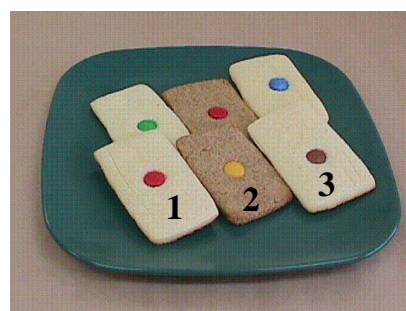
Quadro 1 – Produtos de panificação (bolos e biscoitos) servidos nas creches em estudo, com os respectivos teores de ferro (mg/porção)

Produtos de Panificação	Teor de Ferro (mg/100 g Pronto)	
	Sem Acréscimo de Ferro (Placebo)	Com Acréscimo de Ferro (FeSO ₄ ou Multimistura)
Pirulito do Chaves	1,34	2,91
Brevidade	0,41	2,60
Pão de Mel	0,75	1,72
Bolinho Surpresa	0,69	2,03
Limãozinho	0,69	1,54
Cookie Tricolor	0,92	2,10
Biscoito da Minie	1,17	2,77
Goiabinha	0,72	2,26
Biscoito Surpresa	0	2,31
Biscoito de Coco	0,84	2,76
Bolo de Mandioca	0,50	1,74
Bolo de Banana	0,95	2,20
Moranginho	0,69	1,55
Biscoito de Chocolate	1,32	2,28
Biscoito de Leite em Pó	0,29	2,02

Produtos de Panificação



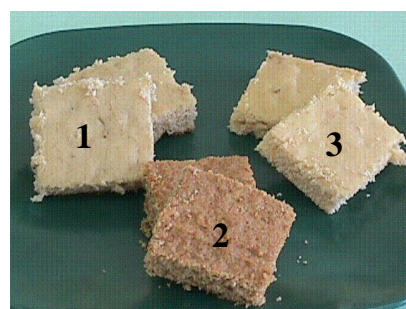
Bolinho Surpresa



Biscoito de Leite em Pó



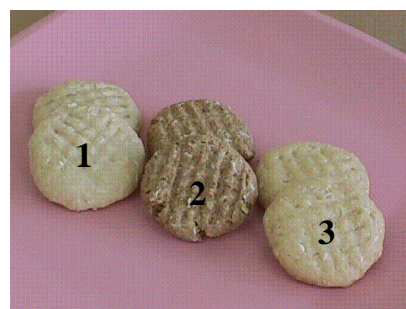
Goiabinha



Bolo de Mandioca



Biscoito da Minie



Bolinho de Coco



Bolo de Banana



Pirulito do Chaves

1 – Placebo

2 – Com multimistura

3 – Com sulfato ferroso

Figura 1 – Produtos de panificação sem acréscimo de ferro (1), contendo sulfato ferroso (2) ou multimistura (3) servidos nas creches municipais durante o período de intervenção nutricional.

3.2.4. Análise estatística dos resultados

Foi feita uma distribuição aleatória dos tratamentos entre as creches. Para analisar o período de intervenção, os dados coletados no início do experimento (antropométricos, dietéticos e bioquímicos) foram comparados, pelo teste t pareado a 5% de probabilidade, com os obtidos no final do estudo (VIEIRA e HOFFMANN, 1989).

O banco de dados foi montado com o auxílio do Programa EPI-INFO, versão 6.01b (DEAN et al., 1990).

Foram analisados os índices antropométricos peso/estatura, peso/idade e estatura/idade; o consumo de energia, carboidratos, lipídios, proteínas, fibra, ferro, cálcio, zinco, cobre, vitaminas A e B; e os parâmetros bioquímicos de hemoglobina, hematócrito, hemácias, ferritina e ferro sérico. As análises estatísticas foram feitas, utilizando-se o programa Sistema de Análises Estatísticas e Genética, versão 5.0, da Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização da população em estudo

- **Período inicial**

No Quadro 2, encontra-se a distribuição das crianças, nas três creches estudadas, de acordo com a faixa etária no início do estudo. Observa-se, nesse quadro, maior concentração na faixa de 48 a 59 meses, nas três creches avaliadas. Normalmente, a idade mínima aceita era de 36 meses; entretanto, em virtude da necessidade de trabalho de algumas mães com crianças abaixo dessa idade, concediam-se exceções, como as observadas neste estudo. A anemia é mais freqüente em crianças menores de 3 anos, grupo conhecido como o mais propenso, devido às grandes necessidades de ferro em relação à alta taxa de crescimento e ao baixo conteúdo e disponibilidade de ferro na dieta durante os primeiros anos de vida (CUNNINGHAM et al., 2001).

Lactentes normais têm um total de ferro orgânico da ordem de 250 mg (80 ppm), que foi obtido da mãe durante a gestação. Esse valor cai para aproximadamente 60 ppm nos primeiros 6 meses de vida, uma vez que os bebês consomem uma dieta à base de leite, pobre em ferro. Crianças que consomem leite de vaca apresentam maior prevalência de deficiência de ferro, uma vez que

Quadro 2 – Distribuição percentual dos pré-escolares estudados, segundo a faixa etária e a creche de origem, no período inicial

Faixa etária (Meses)	Creches						Total N
	Placebo		Padrão		Multimistura		
	N	%	N	%	N	%	
24-35	0	0	1	5,55	3	14,29	4
36-47	3	21,43	4	22,23	5	23,81	12
48-59	8	57,14	10	55,55	7	33,33	25
60-72	3	21,43	3	16,67	6	28,57	12
Total	14	100,0	18	100,0	21	100,0	53

o leite bovino tem maior concentração de cálcio, que compete com o ferro para absorção (CONRAD, 2002b). A deficiência de ferro em lactentes e crianças acompanha-se de irritabilidade, anorexia, insuficiente ganho de peso, atrofia de papilas da língua, acloridria gástrica, pica e alterações da função da mucosa do intestino delgado. A anemia está associada ao retardo do desenvolvimento neuropsicomotor, comprometimento da imunidade celular e diminuição da capacidade intelectual. Alguns estudos apontaram efeitos de longo prazo no desempenho cognitivo, mesmo que a deficiência de ferro seja revertida (NEUMANN et al., 2000; CONRAD, 2002b).

Os dados antropométricos foram analisados pelos índices de peso/idade, estatura/idade e peso/estatura. As creches-padrão e multimistura apresentaram índices superiores aos da creche placebo, onde foi verificado importante déficit no índice estatura/idade, apesar de se ter observado maior concentração de crianças normais (Quadro 3).

Quadro 3 – Estado nutricional dos pré-escolares estudados nas três creches municipais, segundo a classificação do “z-score”, com relação aos índices peso/idade (P/I), peso/estatura (P/E) e estatura/idade (E/I), no período inicial

Índices	Creche	$\bar{X} \pm DP$	Intervalos				
			< -2	-2 a -1	-1 a +1	+1 a +2	> +2
			-----%-----				
P/I	Placebo	-0,828±0,712	0	35,71	64,29	0	0
	Padrão	-0,178±1,336	5,88	23,53	58,83	0	11,76
	MM	0,099±1,086	0	19,05	66,67	9,52	4,76
P/E	Placebo	-0,436±0,842	0	35,71	64,29	0	0
	Padrão	-0,131±1,290	5,88	11,76	76,48	0	5,88
	MM	0,084±1,287	4,76	14,29	52,38	19,05	9,52
E/I	Placebo	-0,764±0,863	7,14	28,57	64,29	0	0
	Padrão	-0,025±0,989	0	11,76	70,60	11,76	5,88
	MM	0,115±0,984	0	14,29	66,67	14,29	4,75

MM = multimistura.

Nas creches-padrão e multimistura, não foram observadas crianças abaixo de $-2z$ nesse índice, observando-se maior concentração de crianças normais, com alguns casos de crianças com estatura acima da esperada para a idade (Quadro 3). O outro índice contribuinte para esta separação, com 33,33%, foi o peso/idade. Nas creches do grupo 1, observou-se a ocorrência de riscos de sobrepeso e obesidade. Já na creche placebo (grupo 2) houve uma concentração maior de crianças normais, sendo observada uma porcentagem delas em risco de desnutrição.

Por meio da análise dos inquéritos alimentares feitos nas creches, pôde-se quantificar a média de consumo diário de alguns nutrientes (Quadro 4). Outros nutrientes não foram mencionados, porque são de pouca importância nutricional no que se refere ao estudo em questão. Os resultados obtidos são a média do consumo de três dias, por refeições feitas nas creches e no domicílio.

Quadro 4 – Consumo diário médio de nutrientes das dietas oferecidas pelas creches municipais e pelos domicílios, no período inicial

Nutrientes	Placebo	Padrão	Multimistura
Energia (Cal)	907,31	1008,48	1197,38
Carboidratos (g)	138,89	157,48	187,95
Lipídios (g)	26,85	27,51	36,81
Proteínas (g)	29,80	33,96	36,21
Ferro (mg)	6,21	7,55	7,06
Cálcio (mg)	244,99	338,12	458,96
Zinco (mg)	3,65	4,07	4,04
Cobre (mg)	0,59	0,64	0,69
Vitamina C (mg)	13,14	46,21	23,89
Vitamina A (mg)	116,36	340,59	298,47
Fibra (g)	9,98	10,61	10,79

Em análises de cada criança, a creche placebo (A) mostrou uma média de adequação de $65,74 \pm 22,82\%$ na ingestão de ferro; na creche-padrão (B), $86,22 \pm 15,80\%$; e na creche multimistura (C), $77,88 \pm 24,29\%$. Assim, observou-se que a média de adequação estava aquém das necessidades fisiológicas das crianças (FNB, 2001).

Ainda, no Quadro 4, é possível notar que a média de consumo de cálcio, zinco, cobre e vitamina C, nutrientes que participam do mecanismo de absorção do ferro (CONRAD, 2002b), apresentou baixo consumo, relativo à faixa etária em estudo, com desvio-padrão elevado, indicando que o consumo não foi uniforme entre as crianças. Alguns fatores são apontados como de risco para instalação da anemia em crianças. Entre eles, cita-se a alimentação inadequada, com ingestão precoce de leite de vaca e, ou, alimentos sólidos, ingestão freqüente e excessiva de chá e café e baixa ingestão de carne ou de vitamina C. Nos

inquéritos realizados, foi observado grande consumo de leite de vaca, às vezes em substituição a uma refeição, associado à baixa ingestão de carnes e hortaliças.

- **Período de intervenção**

Após os exames hematológicos, as crianças que apresentavam anemia foram submetidas a tratamento medicamentoso com sulfato ferroso, prescrito por um médico pediatra da Prefeitura Municipal de Viçosa, MG. No Quadro 5, encontra-se a prevalência de anemia observada nas três creches estudadas.

Quadro 5 – Prevalência de anemia nas três creches municipais participantes do estudo, segundo a faixa etária, no período inicial

Faixa Etária (meses)	Creches						Total	Anêmicos (%)
	Placebo		Padrão		Multimistura			
	Anemia		Anemia		Anemia			
	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não		
24 – 35	0	0	1	0	0	3	4	25,0
36 – 47	2	1	0	4	0	5	12	16,67
48 – 59	2	6	1	9	2	5	25	20,0
60 – 72	0	3	0	3	0	6	12	0
Total	4	10	2	16	2	19	53	15,09

As crianças anêmicas, sob medicação, foram excluídas das análises seguintes, portanto não constaram na amostragem do período final. Foram, ainda, excluídas do grupo de avaliação as crianças que ou saíram da creche ou não consumiram satisfatoriamente os produtos testados. Nas 36 crianças remanescentes, procedeu-se aos mesmos exames bioquímicos, dietéticos e antropométricos ao final da intervenção.

A distribuição, realizada de segunda a sexta-feira, foi feita durante 70 dias, com mediana de 41. As médias de frequência das crianças nas creches foram de $35,55 \pm 5,64$ dias na creche placebo; $38,83 \pm 5,17$ dias na creche-padrão; e $42,20 \pm 4,95$ dias na creche multimistura. As médias de consumo de ferro, proveniente dos produtos distribuídos, foram de 0,230 mg/dia, 0,595 mg/dia e 0,629 mg/dia, nas creches placebo, padrão e multimistura, respectivamente. As crianças da creche placebo (A) apresentaram menor consumo de ferro proveniente dos produtos, porque os mesmos não foram fortificados com ferro; ofereciam apenas o ferro proveniente dos ingredientes que os compunham. As crianças das creches-padrão e multimistura tiveram semelhante ingestão diária de ferro proveniente dos produtos fornecidos, indicando que esses produtos divergiam apenas quanto à fonte de ferro administrada.

- **Período final**

No Quadro 6, mostra-se a distribuição das crianças por creche classificadas segundo os índices peso/idade, estatura/idade e peso/estatura, ao final da intervenção.

As crianças das creches-padrão e multimistura foram classificadas, em sua maioria, no intervalo de -1 a $+1$ z, sendo observada ainda uma prevalência alta no intervalo de $+1$ a $+2$ z, ou maior, nos três índices calculados. Já na creche placebo, apesar da maior concentração de crianças na faixa de normalidade (-1 a $+1$ z), observou-se um número de crianças nos intervalos de -1 a -2 z, ou menor, indicando que essa população esteve em maior risco de desnutrição e com um déficit estatural importante.

No Quadro 7, mostram-se os dados do inquérito dietético realizado ao final do estudo. Aqui, novamente, foi avaliada a adequação de cada criança quanto à ingestão de ferro. A creche placebo (A) apresentou adequação de $45,44 \pm 15,06\%$, indicando que as crianças não conseguiram atingir metade das recomendações. No primeiro momento, foi também observada essa inadequação.

Quadro 6 – Estado nutricional dos pré-escolares estudados nas três creches municipais, segundo a classificação do “z-score”, para os índices peso/idade (P/I), peso/estatura (P/E) e estatura/idade (E/I), no período final

Índices	Creche	$\bar{X} \pm DP$	Intervalos				
			< -2	-2 a -1	-1 a +1	+1 a +2	> +2
			-----%-----				
P/I	Placebo	-0,786±0,742	0	35,71	64,29	0	0
	Padrão	-0,159±1,393	5,88	23,53	58,82	0	11,77
	MM	0,218±1,044	0	9,52	66,67	19,05	4,76
P/E	Placebo	-0,303±0,905	0	35,71	64,29	0	0
	Padrão	0,138±1,253	0	5,88	76,47	11,77	5,88
	MM	0,338±1,177	0	4,76	66,67	19,05	9,52
E/I	Placebo	-0,874±0,854	21,43	21,43	57,14	0	0
	Padrão	-0,373±1,043	5,88	17,65	70,59	5,88	0
	MM	-0,046±1,064	0	19,05	66,67	4,76	9,52

MM = multimistura.

Quadro 7 – Consumo diário médio de nutrientes das dietas oferecidas pelas creches municipais e pelos domicílios, no período final

Nutrientes	Placebo	Padrão	Multimistura
Energia (Cal)	838,15	908,62	1296,24
Carboidratos (g)	131,34	135,27	203,22
Lipídios (g)	23,91	28,36	37,83
Proteínas (g)	26,62	29,51	37,41
Ferro (mg)	5,07	6,48	6,60
Cálcio (mg)	261,34	241,79	573,77
Zinco (mg)	4,36	3,86	4,59
Cobre (mg)	0,63	0,64	0,64
Vitamina C (mg)	25,50	13,65	19,80
Vitamina A (mg)	165,01	211,16	351,42
Fibra (g)	10,81	10,08	8,91

As recomendações nutricionais são os níveis médios de ingestão dietética suficientes para atingir o requerimento de quase todos (97 a 98%) os indivíduos de uma população sadia (YATES et al., 1998). O fato de não ingerir um nutriente adequadamente todos os dias não implica necessariamente uma deficiência, mas a incidência prolongada dessa inadequação leva a um maior risco de deficiência.

Ainda, essa população mostra que a ingestão inadequada pode ter sido um comportamento uniforme durante todo o estudo, já que tanto no início como no final foi observado que o nível de ingestão de ferro era insuficiente. As demais creches também apresentaram adequação aquém das necessidades. Na creche-padrão (B), foi verificada uma média de $71,57 \pm 23,79\%$; na creche multimistura (C), $71,06 \pm 22,37\%$. Os desvios-padrão permanecem altos, indicando a existência de uma grande variação tanto na quantidade quanto na qualidade da dieta consumida, diferença essa observada principalmente no âmbito familiar. É importante ressaltar que as creches B e C receberam

quantidade diária de ferro dietético, proveniente dos produtos testados, em acréscimo ao total consumido normalmente. Esse teor de ferro fornecido foi baseado na recomendação de um consumo médio diário, por pessoa, de 2 colheres de sopa de multimistura, o que fornece cerca de 1,0 mg de ferro/dia, correspondendo a 10% das necessidades de ferro para crianças na mesma faixa etária que as deste estudo (FNB, 2001).

Alguns aspectos devem ser abordados com relação à ingestão de nutrientes pelas crianças estudadas, ainda que não tenham contribuído, de forma significativa, para estabelecer diferenças entre os períodos estudados. A ingestão de nutrientes reguladores da biodisponibilidade de ferro esteve comprometida nas três creches estudadas. O teor médio de vitamina C ingerido, um importante promotor da absorção de ferro (ANGELIS e CTENAS, 1993), ficou muito aquém das necessidades nos dois períodos estudados. O ferro também estabelece interações negativas com constituintes dietéticos como cobre, zinco e cálcio, com os quais compete pelo sítio de ligação para absorção (DUTRA-DE-OLIVEIRA e MARCHINI, 1998). Neste estudo, esses quatro minerais apresentaram ingestão insuficiente em comparação com a recomendada, indicando que, fisiologicamente, poderia estar ocorrendo um estado carencial mais abrangente que uma simples deficiência de ferro.

3.2. Avaliação do período de intervenção

Os dados obtidos no início e final do estudo foram analisados pelo teste t pareado a 5% de probabilidade. Os índices de peso/idade, peso/estatura e estatura/idade foram analisados neste período; e foi observado que as crianças da creche placebo não apresentaram alterações nesses índices, indicando que não houve desenvolvimento significativo (Quadro 8, $P > 0,05$). Nas crianças das creches-padrão e multimistura foram observadas alterações desses índices. Na padrão houve redução significativa no índice estatura/idade, indicando que as crianças não tiveram incremento estatural adequado para a idade no período estudado ($P < 0,05$), podendo ser reflexo da deficiente ingestão dietética

Quadro 8 – Diferença média entre os índices antropométricos peso/estatura, peso/idade e estatura/idade avaliados no início e final do estudo

Creches	Peso/Estatura	Peso/Idade	Estatura/Idade
Placebo	0,07	-0,06	-0,13
Padrão	0,17	0,02	-0,35*
Multimistura	0,25*	0,12	-0,16*

* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t pareado.

observada. Nas crianças da creche que receberam multimistura foi observada melhoria no índice peso/estatura, piorando, entretanto, o índice estatura/idade. Sabe-se que o incremento da estatura é proporcionalmente mais lento que o de peso. Assim, um déficit estatural tende a se desenvolver quando o agravo nutricional ocorre por tempo prolongado, podendo, ou não, recuperar-se através de alimentação adequada (VÍTOLO et al., 1998).

Para os dados dos inquéritos dietéticos, foi avaliado se a média de ingestão, por nutriente, manteve-se constante durante o período de estudo (Quadro 9). De acordo com os dados apresentados no Quadro 9, pode-se observar que na creche placebo (A, n=9) apenas a média de ingestão de vitamina C foi superior ($P < 0,01$) no final do estudo. As médias de ingestão dos demais nutrientes não sofreram alterações no período estudado ($P > 0,05$). Na creche-padrão (B, n=12), observou-se que a ingestão de vitaminas A e C sofreu alteração no período estudado, sendo maior no início da pesquisa ($P < 0,05$). Nos demais nutrientes foi mantida a média de ingestão durante o experimento, sendo semelhante às médias iniciais e finais observadas ($P > 0,05$). Na creche multimistura (C, n=15), observaram-se aumento no consumo de cálcio e redução na ingestão de fibras ao final do estudo ($P < 0,05$). Nos demais nutrientes, as médias de ingestão mantiveram-se semelhantes ($P > 0,05$) durante o período experimental. Esses dados de ingestão são de grande importância na análise dos resultados hematológicos, uma vez que a dieta fornece tanto inibidores quanto

Quadro 9 – Diferença média de ingestão, por nutriente, em cada creche, no período estudado

Nutrientes	Placebo	Padrão	Multimistura
Energia (Cal)	-69,16	-99,86	98,86
Carboidratos (g)	-7,55	-22,21	15,27
Lipídios (g)	-2,94	0,85	1,02
Proteínas (g)	-3,18	-4,46	1,21
Ferro (mg)	-1,14	-1,07	-0,46
Cálcio (mg)	16,35	-96,32	114,81*
Zinco (mg)	0,71	-0,21	0,55
Cobre (mg)	0,05	0	-0,05
Vitamina C (mg)	12,36*	-32,56*	-4,01
Vitamina A (mg)	48,65	-129,42*	52,95
Fibra (g)	0,83	0,54	-1,88*

* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t pareado.

promotores da absorção de ferro, além de ser determinante do estado nutricional do indivíduo. Pode-se considerar, ainda, que os produtos fornecidos para às creches-padrão e multimistura cobriam cerca de 10% das recomendações de ferro para essa faixa etária, não sendo, portanto, capazes de suprir as necessidades desse nutriente, ficando a dieta da criança com maior contribuição em seu estado de ferro orgânico.

Além de avaliar a adequação dietética, principalmente da ingestão de ferro, como um fator de risco para a instalação de um quadro de anemia, foram também analisados os parâmetros bioquímicos. Foram utilizados parâmetros laboratoriais variados para avaliar o ferro em estoque e circulante. No período inicial, foi realizada uma avaliação hematológica, a partir da qual foram selecionadas as crianças, não-anêmicas ($Hb > 11,0$ g/dL), que seriam avaliadas no período final. No Quadro 10, encontram-se as médias dos resultados obtidos, bem como a diferença entre as duas avaliações realizadas.

Quadro 10 – Parâmetros bioquímicos analisados nas crianças no início e final do estudo

Creche		Hb (g/ dL)	Hmt (%)	Hm (milhões/mm ³)	Ferritina (ηg/ mL)	Fe Sérico (μg/dL)
Placebo	Inicial	11,64	35,52	4,35	29,41	59,45
	Final	11,50	35,03	4,47	33,69	82,59
	Diferença	-0,14	-0,49	0,12	4,28	23,14*
	P	0,2133	0,1908	0,1990	0,1389	0,0107
Padrão	Inicial	11,88	35,97	4,49	23,08	62,98
	Final	11,58	35,13	4,39	20,67	84,49
	Diferença	-0,30*	-0,84*	-0,09*	-2,41	21,51*
	P	0,0295	0,0119	0,0452	0,1525	0,0029
MM	Inicial	12,05	36,81	4,61	24,32	61,09
	Final	11,58	35,61	4,45	21,03	79,06
	Diferença	-0,47*	-1,20*	-0,15*	-3,29	17,97*
	P	0,0003	0,0003	0,0077	0,2374	0,0076

MM = multimistura, Hb = hemoglobina, Hmt = hematócrito e Hm = hemácias.

* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t pareado.

No Quadro 10, mostra que as crianças da creche placebo (A) mantiveram seus índices bioquímicos inalterados durante o período avaliado, uma vez que não foi detectada diferença ($P > 0,05$) entre os valores iniciais e finais de hemoglobina, hematócrito, hemácias e ferritina. Entretanto, a média de concentração de ferro sérico foi superior ao final do estudo ($P < 0,05$). Os índices nas crianças da creche que receberam sulfato ferroso (creche B) e multimistura (creche C) como fonte de ferro sofreram alterações no período estudado ($P < 0,05$), exceto a ferritina, que manteve seus índices inalterados ($P > 0,05$). Foi observado redução nos níveis de hemoglobina, hematócrito e hemácias; entretanto, o nível de ferro sérico sofreu aumento ($P < 0,05$). Estes resultados não refletiram a expectativa, uma vez que as creches que receberam ferro

apresentaram redução dos índices analisados. Este fato pode estar ligado a diversos fatores, principalmente dietéticos. Na creche placebo foi observado aumento na ingestão de vitamina C e na creche padrão, redução da ingestão dessa vitamina, que é um promotor da absorção de ferro. Já na creche que recebeu multimistura foi observado maior consumo de cálcio, um competidor de absorção com o ferro. Esses fatores não estavam sendo controlados e seguiram o padrão dietético próprio da amostra estudada, entretanto deveriam ter sido homogêneos para que as variações entre os grupos pudessem ter sido menores, diminuindo a interferência no aproveitamento orgânico de ferro. A creche placebo, durante o estudo, apresentou-se mais constante, sendo observadas poucas variações entre os dois períodos analisados. Quanto à ingestão de nutrientes, só foi verificado o aumento na ingestão de vitamina C; e nos parâmetros bioquímicos, à exceção do ferro sérico, os demais também permaneceram os mesmos, entretanto com a ressalva de que, para hemoglobina e hematócrito, os valores eram menores quando comparados com os das outras creches.

PAIVA et al. (2000) fizeram uma revisão sobre o diagnóstico do estado nutricional de ferro. Indicaram que existem parâmetros bioquímicos diversificados e alertaram para as combinações entre eles para se chegar a um diagnóstico. A escolha, entretanto, depende de alguns fatores inerentes ao grupo populacional em estudo, como a incidência da deficiência de ferro e doenças inflamatórias e infecciosas associadas. Além disso, não podem ser desconsiderados fatores como volume da amostra de sangue requerido, custo, complexidade da metodologia e suscetibilidade a erros laboratoriais.

Valores reduzidos na concentração de ferritina sérica são um forte indicador da depleção de ferro. Quando as reservas deste mineral estão exauridas, qualquer declínio adicional de ferro corporal é acompanhado por redução na concentração de ferro sérico, sendo um parâmetro muito utilizado, apesar de muito instável. Sua concentração está alterada na presença de processos infecciosos, podendo diminuir poucas horas após o desencadeamento de uma infecção (CONRAD, 2002a; PAIVA et al., 2000; ALMEIDA, 2000). São considerados normais valores de ferritina para a criança acima de 12 $\eta\text{g/mL}$,

podendo o ferro sérico variar de 50 a 150 µg/dL. No Quadro 10, apresentam-se as médias que retratam um estado de normalidade, próximo à deficiência, para tais parâmetros. No período estudado, os níveis de ferritina permaneceram inalterados, evidenciando-se que os produtos fornecidos não influenciaram, efetivamente, o fornecimento de ferro ao organismo, uma vez que não houve repleção de suas reservas. Ainda, a ingestão de ferro permaneceu deficiente (Quadro 9), não sendo capaz de recuperar o estado de ferro já inicialmente deficiente, o que impossibilitou uma melhor avaliação das crianças que receberam os produtos contendo ferro. Entretanto, foi observado aumento no ferro sérico, o que estaria indicando a existência de ferro disponível para a eritropoiese normal do corpo. Uma vez observado que os níveis de hemoglobina sofreram redução significativa nas crianças das creches-padrão e multimistura ($P < 0,05$), questionam-se os resultados de ferro sérico, sendo incompatíveis com o estado de ferro circulante.

CUNNINGHAM et al. (2001), estudando a prevalência de anemia em crianças menores de 7 anos, na Costa Rica, encontraram uma prevalência de 26,3% de anemia, 24,4% de deficiência severa e 53,8% de crianças com algum grau de deficiência de ferro. No presente estudo, observou-se que, apesar de existir menor prevalência de anemia em relação aos dados do Brasil e de outros países (15,09% contra 38%), existe alto grau de deficiência marginal. Assim, no Quadro 22, observa-se que a reserva de ferro, ferritina, estava muito próxima do limite inferior do esperado para a idade. Esses autores ainda verificaram que 42,5% de sua amostra apresentava deficiência de ferro sem anemia, com a ressalva de que 10% dos pré-escolares tinham suas reservas de ferro depletadas. Ainda, pode-se reportar que crianças menores de 3 anos têm maior prevalência de anemia que aquelas entre 4 e 6 anos, que constituíram grande parte da população deste estudo.

Teoricamente, a carência de ferro ocorre no organismo de formas gradual e progressiva, considerando-se três estágios até que a anemia se manifeste. No primeiro estágio, depleção de ferro, os depósitos estão afetados, representando um período de maior vulnerabilidade em relação ao balanço marginal de ferro,

podendo progredir até uma deficiência mais grave, com conseqüências funcionais. O segundo estágio, deficiência de ferro, é referido como uma eritropoiese ferro-deficiente e caracteriza-se por alterações bioquímicas, que refletem a insuficiência de ferro para a produção normal de hemoglobina e outros componentes férricos, ainda que a concentração desta não esteja reduzida. O terceiro e último estágio, a anemia ferropriva, caracteriza-se pela diminuição dos níveis de hemoglobina, com prejuízos funcionais ao organismo, tanto mais graves quanto maior for essa redução (ALMEIDA, 2000; PAIVA et al., 2000).

Vários estudos têm reportado a incontestável inibição exercida por algumas substâncias químicas sobre a absorção de ferro não-heme, proveniente de alimentos de origem vegetal. Entre essas substâncias, citam-se fitatos, oxalatos, taninos e polifenóis, que formam complexos insolúveis com o ferro na luz intestinal (ZIJP et al., 2000; HURRELL et al., 1998). A multimistura em questão é fonte de quantidades apreciáveis de fitato e oxalato, estabelecendo-se razões molares, com cátions divalentes como o ferro, o cálcio e o zinco, preocupantes do ponto de vista nutricional (SANT'ANA et al., 2000). CONRAD (2002b) fez, ainda, referência ao efeito inibitório que o cálcio exerce sobre a absorção de ferro tanto heme quanto não-heme, sendo mais um fator preocupante na faixa etária em questão, haja vista o padrão dietético próprio da idade, que emprega alimentos lácteos em grandes quantidades.

VÍTOLO et al. (1998) reportaram que a carência nutricional de ferro está associada às condições de desenvolvimento e alimentação do país, uma vez que a prevalência de anemia em crianças norte-americanas, menores de 5 anos, é de 3%. A quantidade de ferro fornecida pelos produtos testados não serviu como suplemento nutricional desse metal, uma vez que cobria cerca de apenas 10% das recomendações, de forma que nem mesmo o sulfato ferroso pôde contribuir para melhoria significativa dos índices avaliados (Quadro 10, $P < 0,05$). As crianças estudadas apresentaram padrão dietético deficiente, principalmente quanto ao fornecimento de ferro. Preocupa a ingestão da multimistura em questão que, associada ao baixo teor de ferro fornecido, tem presente fatores antinutricionais que poderiam diminuir ainda mais a disponibilidade do ferro dietético para

adequada utilização pelo organismo. Foi observado que a depleção nos níveis de hemoglobina, hematócrito e hemácias foi mais pronunciada que a depleção ocorrida nas crianças da creche-padrão (Quadro 10), podendo isso ser um indicativo da associação entre a ingestão de fatores antinutricionais com uma deficiente ingestão de ferro, em comparação com as recomendações deste mineral (FNB, 2001).

Algumas prefeituras têm institucionalizado o uso de multimisturas alimentares como forma de contornar problemas nutricionais como a anemia ferropriva. Em um seminário sobre o Programa de Alimentação Escolar no Brasil, SILVA e STURION (2000) apontaram que deve existir a introdução de alimentos adequados ao hábito dos beneficiários para aumentar a aceitabilidade da alimentação escolar. É preocupante esse aspecto quando se ressalva a confecção dos produtos de panificação testados sensorialmente para aceitação dos pré-escolares. Técnicas culinárias foram necessárias para preparar refeições agradáveis do ponto de vista visual e de paladar (FERREIRA et al., 2000). O Programa de Alimentação do Escolar tem defendido a utilização de alimentos semiprontos ou prontos, como queijos, iogurtes e pães recheados, entre outros, que contribuam para com a qualidade e praticidade do Programa, fortalecendo as agroindústrias local e regional (SILVA e STURION, 2000). OYARZÚN et al. (2001), em estudo teórico para melhorar a adequação nutricional de vitaminas e minerais, afirmaram que, dificilmente, ocorrerá adequação de ferro e zinco sem a adição de alimentos de origem animal. Entretanto, esse dado não é real para muitos países e nações do mundo, como o Brasil. O fato de se incorporar uma fonte de ferro não-hemínico na dieta, como os provenientes de fontes de origem vegetal, também não quer dizer que irá ocorrer adequação nutricional desse mineral. Além da quantidade, deve-se avaliar a biodisponibilidade do ferro procedente de alimentos vegetais. Os alimentos alternativos aqui estudados, além de serem fontes de ferro, fornecem os inibidores de sua absorção. Os resultados levam a crer que a relação entre eles proporciona deficiente absorção do ferro. Nas crianças já com níveis depletados de ferro, a ausência de um fornecimento dietético eficiente acelerou a implantação da deficiência orgânica.

Este estudo, então, enfatiza a pluralidade de causas que cercam o estado nutricional de um indivíduo, mas não comprovou efeito de tratamentos, fonte de ferro, dado que as creches que receberam suplementação apresentaram redução dos níveis hematológicos (Quadro 10, $P < 0,05$), o que não ocorreu na creche placebo, que não tinha fortificação de ferro nos produtos testados. Alguns aspectos podem ter contribuído para os resultados observados. As crianças, de maneira geral, apresentaram ingestão deficiente de ferro ao longo do período estudado, o que foi refletido nos índices bioquímicos avaliados, que tinham seus valores muito próximos aos limites inferiores para a faixa etária. As crianças da creche placebo (creche A) tinham o desenvolvimento mais comprometido (Quadros 3 e 7), o que pode ter implicado menores necessidades fisiológicas de ferro (Quadro 10, $P > 0,05$), em que, apesar de estarem próximos à deficiência, não houve piora do quadro geral. Já as crianças das creches-padrão (B) e multimistura (C) tiveram comportamento diferente, mesmo recebendo os produtos contendo ferro. Foi observado, no período estudado, que o índice estatura/idade nas creches B e C sofreu redução, podendo indicar que a deficiência dietética influenciou, de forma mais acentuada, essas crianças. O mesmo foi observado quanto ao estado nutricional relativo ao ferro, em que, em ambas as creches, as crianças tiveram os índices de hemoglobina, hematócrito e hemácias reduzidos. Acredita-se que o fato de as crianças da creche multimistura (C) terem sofrido depleção mais acentuada pode ser devido à associação com o fornecimento de fatores antinutricionais, como fitatos, oxalato e fibras, pela multimistura utilizada. Assim, pode ser retomada a questão da quantidade de ferro fornecida como suplementação, cerca de 1 mg/dia, proveniente dos produtos fornecidos. Quantidade essa que não alterou o nível de ingestão dietética de ferro pelas crianças e foi insuficiente para melhorar os índices hematológicos avaliados.

Em se tratando de crianças que já tinham nível de comprometimento no estado nutricional relativo ao ferro, a importância da quantidade de ferro pode ter superado a da fonte, do sulfato ferroso ou da multimistura, limitando as conclusões quanto à utilização da multimistura em estudo.

4. CONCLUSÃO

O presente estudo não comprovou efeito do tratamento fonte de ferro (sulfato ferroso ou multimistura), dado que as creches que receberam suplementação apresentaram redução dos níveis hematológicos avaliados ($P < 0,05$), o que não ocorreu com a creche placebo. Alguns fatores contribuíram para esse resultado.

As crianças da creche placebo tinham desenvolvimento mais comprometido, o que pode ter implicado menores necessidades fisiológicas de ferro, posto que, apesar de os índices estarem próximos à deficiência, não houve piora do quadro geral. Já as crianças das creches-padrão e multimistura apresentaram comportamento diferente, mesmo recebendo os produtos contendo ferro. Foi observado, no período estudado, que o índice estatura/idade nas creches-padrão e multimistura sofreu redução, podendo indicar que a deficiência dietética influenciou, de forma mais acentuada, essas crianças. O mesmo foi observado quanto ao estado nutricional relativo ao ferro, uma vez que, em ambas as creches, as crianças tiveram os índices de hemoglobina, hematócrito e hemácias reduzidos. Acredita-se que o fato de as crianças da creche multimistura terem sofrido depleção mais acentuada pode ser devido à associação com o fornecimento de fatores antinutricionais, como fitatos, oxalato e fibras, pela multimistura utilizada. Assim, pode ser retomada a questão da quantidade de

ferro fornecida como suplementação (cerca de 1 mg/dia), proveniente dos produtos, quantidade essa que não alterou o nível de ingestão dietética de ferro pelas crianças e foi insuficiente para melhorar os índices hematológicos avaliados. Em se tratando de crianças que já tinham nível expressivo de comprometimento no estado nutricional relativo ao ferro, a importância da quantidade deste metal pode ter superado a da fonte, do sulfato ferroso ou da multimistura, limitando-se as conclusões quanto à utilização da multimistura em estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C.A.N. Avaliação do estado nutricional de ferro na criança. **J. Assoc. Bras. Nutr.**, julho, 2000.

ANGELIS, R.C.; CTENAS, M.L.B. Biodisponibilidade de ferro na alimentação infantil. Temas de Pediatria. Serviço de Informação Científica. **Nestlé**, n. 52, p. 53, 1993.

BRANDÃO, C.T.; BRANDÃO, R.F. **Alimentação alternativa**. Brasília: Centro de Pastoral Popular, 1996. 69 p.

CONRAD, M.E. Anemia. **eMedical J.**, v. 3, n. 2, 2002. Disponível em: www.emedicine.com. (Extraído em 15 de fevereiro de 2002a).

CONRAD, M.E. Iron deficiency anemia. **eMedical J.**, v. 3, n. 2, 2002. Disponível em: www.emedecine.com. (Extraído em 19 de fevereiro de 2002b).

CUNNINGHAM, L.; BLANCO, A.; RODRÍGUEZ, S.; ASCENCIO, M. Prevalencia de anemia, deficiencia de hierro y folatos en niños menores de siete años. Costa Rica, 1996. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 51, n. 1, p. 37-43, 2001.

DAVIDSSON, L.; ZIEGLER, E.E.; KASTENMAYER, P.; HURRELL, R.F. Erythrocyte incorporation of iron by infants: iron bioavailability from a low-iron infant formula and na evaluation of the usefulness of correcting erythrocyte incorporation values, using a reference dose or plasma ferritin concentrations. **Brit. J. Nutr.**, v. 84, p. 847-853, 2000.

DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; BURTON, A.H.; DICKER, R.C. **Epi Info, version 6.02**: a word processing database, and statistics program for public health. Georgia: Center for Disease Control & Prevention, 1990. (Software).

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; MARCHINI, J.S. **Ciências nutricionais**. São Paulo: Savier, 1998. 403 p.

FERREIRA, A.C.R.; SANT'ANA, L.F.R.; COSTA, N.M.B. Desenvolvimento e avaliação sensorial de produtos contendo multimistura para utilização em ensaio de biodisponibilidade de ferro em pré-escolares. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 10, 2000, Viçosa. **Resumos...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000.

FNB - FOOD AND NUTRITION BORD. **Dietary reference intakes (DRIs)**: recommended intakes for individuals, elements. [S.l.]: Institute of Medicine, National Academies, 2001.

GÓMEZ-AYALA, A.E.; CAMPOS, M.S.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; PALLARÉS, I.; HARTITI, S.; BARRIONUEVO, M.; ALFÉREZ, M.J.M.; RODRÍGUEZ-MATAS, M.C.; LISBONA, F. Effect of source of iron duodenal absorption of iron, calcium, phosphorus, magnesium, copper and zinc in rats with ferropenic anaemia. **Internat. J. Vit. Nutr. Res.**, v. 67, p. 106-114, 1997.

HURRELL, R.F.; DAVIDSSON, L.; REDDY, M.; KASTENMAYER, P.; COOK, J.D. A comparison of iron absorption in adults and infants consuming identical infant formulas. **Brit. J. of Nutr.**, v. 79, p. 31-36, 1998.

JELLIFE, D.B. **The assessment of the nutritional status of the community**. Geneva: WHO, 1966. 201 p.

MORA, J.O.; MORA, L.M. **Deficiências de micronutrientes em América Latina y el Caribe**: anemia ferropriva. Washington (DC): Organización Panamericana de la Salud, 1997.

MONTEIRO, J.B.R.; ESTEVES, E. **Diet Pro** – Sistema de suporte à avaliação nutricional e prescrição de dietas, versão 2.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996. (Software).

NEUMANN, N.A.; TANAKA, O.Y.; SZARFARC, S.C.; GUIMARÃES, P.R.V.; VICTORA, C.G. Prevalência e fatores de risco para anemia no Sul do Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 34, n. 1, p. 56-63, 2000.

OMS/WHO Working Group. Use and interpretation of anthropometric indicators of nutritional status. **Bulletin of the World Health Organization – Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé**, v. 64, n. 6, p. 929-941, 1986.

OYARZÚN, M.T.; UAUY, R.; OLIVARES, S. Enfoque alimentario para mejorar la adecuación nutricional de vitaminas y minerales. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 51, n. 1, 2001.

PAIVA, A.A.; RONDÓ, P.H.C.; GUERRA-SHINOHARA, E.M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Rev. Saúde Públ.**, v. 34, n. 4, p. 421-426, 2000.

PAO, E.M.; CYPEL, Y.S. Cálculo da ingesta alimentaria. In: ZIEGLER, E.E.; FILER JUNIOR, L.J. **Conocimientos actuales sobre nutrition**. 7. ed. Washington: OPS/OMS, 1997.

PINHEIRO, A.B.V.; LACERDA, E.M.A.; BENZECRY, E.H.; GOMES, M.C.S.; COSTA, V.M. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 4. ed. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte: Atheneu, 2001. 81 p.

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Desenvolvido pela equipe técnica da Fundação Arthur Bernardes, versão 5.0. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1993. (Software).

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

SILVA, M.V.; STURION, G.L. Workshop: o programa de alimentação escolar no Brasil. **Bol. SBCTA**, v. 34, n. 1, p. 1-11, 2000.

SIMÕES, M.C.C.; MOURA, E.C.; SGARBIERI, V.C.; FIGUEIREDO, D.B. Avaliação do impacto de um suplemento nutricional rico em ferro hematóxico. **Cad. Saúde Públ.**, v. 15, n. 4, 1999.

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

VÍTOLO, M.R.; AGUIRRE, A.N.C.; KONDO, M.R.; GIULIANO, Y.; FERREIRA, N.; LOPEZ, F.A. Impacto do uso de cereal adicionado de ferro sobre os níveis de hemoglobina e a antropometria de pré-escolares. **Rev. Nutr.**, v. 11, n. 2, p. 163-171, 1998.

YATES, A.A.; SCHLICKER, S.A.; SUITOR, C.W. Dietary reference intakes: the new basis for recommendations for calcium and related nutrients, B vitamins, and coline. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 98, p. 699-706, 1998.

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

CONCLUSÃO GERAL

No ensaio de biodisponibilidade de cálcio, utilizando-se a técnica do traçador isotópico (^{45}Ca), foi verificado que a mistura de arroz+feijão+multimistura obteve absorção fracional do marcador superior ($P<0,05$) às observadas nas dietas de arroz+feijão e multimistura, que foram semelhantes entre si ($P>0,05$).

Esses resultados levaram a considerar que o cálcio de fontes alimentares de origem vegetal sofre acentuada influência de fatores inibidores, provenientes dos próprios alimentos. Além da presença, é dependente do tipo de inibidor e de sua concentração.

Os resultados obtidos poderiam indicar que a multimistura, em um contexto de uma dieta de arroz e feijão, na proporção utilizada (2%), não causou prejuízos à absorção de cálcio. Entretanto, quando utilizada como fonte exclusiva do mineral, obteve-se biodisponibilidade menor, assim como a observada na mistura de arroz e feijão.

Ao se testar a biodisponibilidade de zinco a partir da multimistura, em relação ao padrão ZnCO_3 , foi observado que alguns parâmetros avaliados indicam que o zinco fornecido por ela tem menor biodisponibilidade. As fontes foram testadas em duas doses, equivalentes a 50 ou 100% das recomendações de Zn para o rato, 15 ou 30 mg de Zn/kg de dieta, respectivamente. O ganho de peso

nos animais que receberam multimistura foi também menor quando comparado com o padrão ($P < 0,05$). Entretanto, quando se forneceu multimistura como fonte de zinco, o valor nutricional da dieta foi alterado, podendo ter contribuído para o menor ganho de peso dos animais.

Observou-se que o teor de zinco nos fêmures, fígado e rins dos animais experimentais, bem como sua relação com a atividade de fosfatase alcalina, teve diferença quanto à fonte de zinco fornecida. Foi verificado menor teor de zinco nos fêmures dos animais que receberam multimistura ($P < 0,05$). Esse parâmetro apresentou, ainda, uma média menor quando foi aumentado o teor de multimistura na dieta, o que pode ter elevado também o fornecimento de fatores inibidores da absorção de zinco como os fitatos presentes na multimistura. Os outros parâmetros alterados também indicaram menor biodisponibilidade de zinco da multimistura, uma vez que foram observados maior teor no fígado, menor atividade de fosfatase alcalina e menor teor nos rins dos animais que a consumiram. Esses três parâmetros envolvem o controle homeostático do organismo em relação ao estado nutricional de zinco, indicando uma possível deficiência deste.

A biodisponibilidade do ferro, estudada pelo método de depleção e repleção em ratos, foi similar nas três fontes estudadas (sulfato ferroso, arroz+feijão+multimistura, multimistura). Foi observado incremento no ganho de hemoglobina proporcional à adição de ferro na dieta, ressaltando-se que as médias entre as três dietas estudadas não diferiram ($P > 0,05$). O ganho de peso não foi influenciado pelo teor de ferro nos animais que receberam dieta com sulfato ferroso e com a mistura arroz+feijão+multimistura. Já na dieta contendo multimistura, observou-se decréscimo nesse parâmetro ao aumentar sua proporção na dieta, sendo diferente do padrão no nível com 24 mg de ferro/kg de dieta. Entretanto, os valores energético e nutricional nessa dieta foram alterados, podendo ter contribuído para o menor ganho de peso dos animais que a consumiram.

Neste estudo, ainda, procurou-se avaliar o efeito da adição de uma multimistura no estado nutricional de ferro em pré-escolares. Crianças da rede

municipal de ensino, de 25 a 68 meses de idade, foram avaliadas. Medidas antropométricas (peso e altura), inquéritos dietéticos e avaliações bioquímicas constituíram as variáveis deste estudo. Este não comprovou o efeito do tratamento fonte de ferro (sulfato ferroso ou multimistura), dado que as creches que receberam suplementação apresentaram redução nos níveis hematológicos avaliados ($P < 0,05$), o que não ocorreu com a creche placebo. Alguns fatores contribuíram para esse resultado.

As crianças da creche placebo tinham desenvolvimento mais comprometido, o que pode ter implicado menores necessidades fisiológicas de ferro, pois, apesar de os índices estarem próximos à deficiência, não houve piora no quadro geral. Já as crianças das creches-padrão e multimistura tiveram comportamento diferente, mesmo recebendo os produtos contendo ferro. Foi observado, no período estudado, que o índice estatura/idade nas creches-padrão e multimistura sofreu redução, podendo indicar que a deficiência dietética influenciou, de forma mais acentuada, essas crianças. O mesmo foi observado com relação ao estado nutricional relativo ao ferro, em que, em ambas as creches, as crianças tiveram os índices de hemoglobina, hematócrito e hemácias reduzidos.

Acredita-se que o fato de as crianças da creche multimistura terem sofrido depleção mais acentuada pode ser devido à associação com o fornecimento de fatores antinutricionais, como fitatos, oxalato e fibras, pela multimistura utilizada. Assim, pode ser retomada a questão da quantidade de ferro fornecida como suplementação, cerca de 1 mg/dia proveniente dos produtos, quantidade essa que não alterou o nível de ingestão dietética de ferro pelas crianças e foi insuficiente para melhorar os índices hematológicos avaliados. Em se tratando de crianças que já tinham um nível de comprometimento no estado nutricional relativo ao ferro, a importância da quantidade de ferro pode ter superado a da fonte, sulfato ferroso, ou da multimistura, limitando as conclusões quanto à utilização da multimistura em estudo.

Os resultados obtidos neste estudo levam a uma preocupação do uso prolongado desses alimentos, uma vez que o fornecimento de substâncias inibidoras da absorção de minerais poderia estar sendo mais prevalente que o próprio fornecimento de cálcio, zinco ou ferro. Torna-se necessário lembrar as recomendações do Programa Alimentar de Escolares no Brasil, que exalta a utilização de alimentos adequados aos hábitos dos comensais, uma vez que é na escola que esses indivíduos recebem maior parte de sua alimentação.

Assim, a utilização da multimistura alimentar como uma boa fonte de cálcio, zinco e ferro não foi comprovada pelos estudos realizados. Acredita-se que, juntamente com os minerais, ela forneça fatores antinutricionais, inibidores da absorção daqueles, em quantidades suficientes para comprometer a utilização dos mesmos. Quando adicionada à mistura de arroz e feijão, não apresentou prejuízos maiores, tampouco, entretanto, benefícios. Sua ingestão por períodos de tempo prolongados deveria ser investigada, uma vez que foi observado menor incremento ponderal em animais experimentais que a consumiram em maior proporção nas dietas.

Diante das questões de carências nutricionais existentes no país, torna-se urgente a utilização de fontes alternativas de suplementação com disponibilidade e eficiência comprovadas, de maneira que a população-alvo, principalmente crianças com estado nutricional muitas vezes já comprometido, não venham a sofrer danos relativos à utilização indevida de alimentos ainda não aprovados para tais fins.