

LUIZA CARLA VIDIGAL CASTRO

**EFEITOS DA INTERVENÇÃO COM SUPLEMENTO ALIMENTAR
À BASE DE SORO DE LEITE ADICIONADO DE PREBIÓTICO NO
ESTADO NUTRICIONAL DE FERRO E VITAMINA A 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 *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2010

LUIZA CARLA VIDIGAL CASTRO

**EFEITOS DA INTERVENÇÃO COM SUPLEMENTO ALIMENTAR
À BASE DE SORO DE LEITE ADICIONADO DE PREBIÓTICO NO
ESTADO NUTRICIONAL DE FERRO E VITAMINA A 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 *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 05 de julho de 2010

Prof. Joel Alves Lamounier

Prof^a. Luciana Ferreira da Rocha
Sant'Ana

Prof^a. Helena Maria Pinheiro
Sant'Ana
(Co-orientadora)

Prof^a. Sylvia do Carmo Castro
Franceschini
(Co-orientadora)

Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa
(Orientadora)

Dedico esta tese
à minha amada filha **LAURA**,
“um sorriso de criança, uma flor, uma esperança”

AGRADECIMENTOS

À DEUS, por guiar e abençoar os nossos caminhos;

À minha filha, LAURA, pelo amor, carinho e compreensão pelas minhas “ausências” enquanto me dedicava ao doutorado;

Aos meus pais, Paulo e Clélia, pelo amor, carinho, compreensão, incentivo e apoio em todos os momentos de minha vida, especialmente durante a realização deste trabalho;

Ao meu esposo Brício, que sempre me incentivou nos momentos de desânimo e esteve sempre ao meu lado;

Ao meu querido sobrinho e afilhado Mateus que, apesar do “susto” que levou no dia da qualificação, esteve presente no dia da defesa com um belo sorriso no rosto, alegrando ainda mais aquele momento;

À minha querida irmã Luci e aos os meus queridos irmãos Luiz Henrique e Luidson, ao cunhado Mauro e cunhadas Dani e Lili, pelo companheirismo, apoio e auxílios;

À professora Neuza Maria Brunoro Costa, pela disposição e orientação exemplar, pelos conselhos, estímulos e incentivos profissionais;

À professora Helena Maria Pinheiro Sant’Anna, pelos conselhos, pelas valiosas contribuições e carisma;

Às professoras Sylvia Franceschini e Célia Maria de Luces Ferreira, pelas atenções e contribuições para a realização deste trabalho;

Aos professores Luciana Ferreira da Rocha Sant’Ana e Joel Alves Lamounier, pela participação na banca;

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade concedida, em especial aos Departamentos de Tecnologia de Alimentos e Nutrição e Saúde;

À Secretaria Municipal de Educação/ Prefeitura Municipal de Viçosa que permitiu a realização da pesquisa nas creches municipais e às professoras e cantineiras, que me receberam com carinho e me apoiaram;

Ao CNPq pelo financiamento da pesquisa;

Ao Bruno e Emanuel, da Arve Alimentos, pelos auxílios na elaboração e produção do suplemento;

À Divisão de Saúde da UFV, especialmente ao técnico Pedro, sempre disposto a me ajudar na coleta de sangue, e ao bioquímico Alexandre Novello, sempre atencioso e prestativo;

À Univiçosa, que sempre me apoiou para a realização deste trabalho e, em especial, ao Professor Per, pelos incentivos e auxílios;

Aos estagiários e acadêmicos de Nutrição, Marli Rosado, Bárbara Pascine, Julliander Neves, Kênia Siman, Marcela Ferreira Costa, Carmelita Coelho, Nathália Cotta, Ana Dalva Alves, Fernanda de Jesus, Danielle Ribeiro, Pollyana Cofeiro, Thaís Freitas, Mariana Rodrigues, Márcia Avelino, Maria Letícia Clímaco, Tayrine Bittencourt, Suellen Carvalho, Charlene Freitas, Débora Ladeira, Elcione Moura, Flavia Mendes, que não mediram esforços para o auxílio na administração do suplemento nas creches;

Aos amigos Maria Emília Andrade e Gilson Junior, pelas valiosas contribuições no trabalho experimental;

Às estagiárias e acadêmicas de Enfermagem e Farmácia, Carmelita Barreto, Flávia Mara Campos, Helen Pasqualon e Verona Martins, pelos auxílios nas difíceis coletas de sangue das crianças.

Às nutricionistas Daniela Silva e Ceres Mattos, sempre dispostas a me ajudar nas análises de retinol no Laboratório de Análise de Vitaminas (LAV);

Aos técnicos de nível superior do Departamento de Nutrição da UFV, Regina Milagres e Cassiano, que me ajudaram nas análises de retinol e no estudo experimental;

Aos professores Serrão (Biologia), Sebastião e Valéria (Bioquímica) que gentilmente cederam os laboratórios para utilização de equipamentos durante análises de retinol;

À Marliane (Bioagro), por me ajudar no estoque das amostras, e à Michele Netto, pelas valiosas dicas;

Aos voluntários da pesquisa, lindas crianças que, mesmo após a coleta de sangue, me recebiam com carinho nas creches e me pediam o “leitinho gostoso”, forma carinhosa que batizaram o suplemento objeto desta pesquisa. Vou sempre pensar, com muito carinho, em vocês, especialmente o Luiz Otávio, que foi para junto de Papai do Céu e deixou saudades...

Á DEUS, mais uma vez e sempre, por tantas graças alcançadas!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xviii
APRESENTAÇÃO DA TESE.....	1
INTRODUÇÃO GERAL.....	2
CAPÍTULO 1.	
REVISÃO DE LITERATURA.....	4
1.1 – Anemia Ferropriva e a importância do ferro na alimentação	4
1.2 – Vitamina A.....	5
1.3 – Fortificação de alimentos e suplementação alimentar como estratégia de combate às carências nutricionais.....	11
1.4 - Prebióticos	16
1.5 - Valor nutricional do soro de leite.....	18
Referências Bibliográficas.....	27
CAPÍTULO 2. ARTIGO ORIGINAL 1:	
“BIODISPONIBILIDADE DE FERRO DE SUPLEMENTO ALIMENTAR A BASE DE SORO DE LEITE EM RATOS”.....	38

1. INTRODUÇÃO.....	38
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1. Suplemento alimentar.....	39
2.2. Animais.....	40
2.3. Dietas experimentais.....	40
2.4. Delineamento experimental.....	42
2.5. Análise Estatística.....	44
3. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	44
4. CONCLUSÃO.....	50
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
CAPÍTULO 3. ARTIGO ORIGINAL 2:	54
“EFICÁCIA DE UM SUPLEMENTO ALIMENTAR À BASE DE SORO DE LEITE ADICIONADO DE PREBIÓTICO NO ESTADO NUTRICIONAL DE PRÉ-ESCOLARES”	
1. INTRODUÇÃO.....	54
2. OBJETIVOS.....	55
2.1. Objetivos gerais.....	55
2.2. Objetivos específicos.....	55
3. CASUÍSTICA E METODOLOGIA	56
3.1. População de estudo.....	56
3.2. Avaliação antropométrica.....	56
3.3. Exames laboratoriais.....	57
3.4. Avaliação dietética.....	59
3.5. O Suplemento alimentar	60
3.6. Análise Estatística	62
3.7. Aspectos Éticos.....	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
4.1. Caracterização da população.....	64
4.2. Avaliação Antropométrica.....	64
4.3. Exames laboratoriais.....	69

4.4. Avaliação Dietética.....	81
5. CONCLUSÃO.....	85
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
CONCLUSÕES GERAIS.....	93
ANEXOS.....	94
ANEXO A. Termo de consentimento livre esclarecido.....	95
ANEXO B. Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos.....	100

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

% = Porcentagem

µg = Microgramas

CHCM = Concentração de hemoglobina corpuscular média

CLAE = Cromatografia líquida de alta eficiência

cm = Centímetros

CTLF = Capacidade total de ligação de ferro

dL = Decilitros

DP = Desvio-padrão

DRI = Dietary Reference Intakes (Ingestões Dietéticas de Referência)

E/I = Estatura/idade

EAR = Estimated Average Requirement (Necessidade Média Estimada)

EDTA = Etilenodiaminotetracético (anticoagulante)

FAO = Food Agriculture Organization

FDA = Food and Drug Administration

FOS = Frutooligossacarídeos

FeS = Ferro sérico

GABA = Ácido gama-aminobutírico

GRAS = “Generally recognized as safe”

HCM = Hemoglobina corpuscular média

HER = Eficiência na regeneração de hemoglobina

IDR = Ingestão diária recomendada

IGF-1 = Fator de crescimento tipo insulina – 1

IMC = Índice de massa corporal

kcal = Quilocalorias

kg = Quilos

mg = Miligramas

MG = Minas Gerais

mL = Mililitros

n = Número da amostra

OMS = Organização Mundial de Saúde

P/E = Peso/estatura

P/I = Peso/idade

ppm = parte por milhão

R\$ = Reais

RBP = Proteína ligadora de retinol

RDW = Amplitude de variação dos eritrócitos (“red distribution width”)

TIBC = Capacidade total de ligação do ferro

T3 = Triiodotironina

T4 = Tiroxina

VCM = Volume corpuscular médio

VRB = Valor relativo de biodisponibilidade

WHO = Organização Mundial de Saúde

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 2	
Figura 1- Ganho de hemoglobina no período de repleção (g/dL).	48
CAPÍTULO 3	
Figura 1. Suplemento alimentar (A=sachê; B=porção de 30g; C=1 porção do suplemento diluída em 100 mL de água)	60

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 1. Revisão de Literatura	
Tabela 1: Composição química do leite bovino fluido (3,25% de gordura), soros ácido e doce fluidos, por 100 mL do alimento.	19
Tabela 2: Composição química do leite bovino em pó integral, soros ácido e doce em pó, por 100 g do alimento.	20
Tabela 3: Percentual de nutrientes no soro de leite em relação ao leite bovino.	21
Tabela 4: Distribuição das proteínas do soro de leite bovino.	23
CAPÍTULO 2. Artigo original 1.	
Tabela 1: Composição do suplemento alimentar.	40
Tabela 2: Composição das dietas (g/kg mistura) por grupos experimentais.	41
Tabela 3: Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar dos grupos experimentais no período de repleção (média \pm desvio-padrão).	45

Tabela 4: Consumo de ferro, Ganho de hemoglobina (GHb), ganho de hemoglobina (GHb) por miligrama de Ferro consumido e eficiência na regeneração de hemoglobina (HRE) na fase de repleção (média ± desvio-padrão).	46
---	----

CAPÍTULO 3. Artigo original 2.

Tabela 1: Pontos de corte para a interpretação dos níveis de retinol sérico propostos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1996).	59
Tabela 2: Composição do suplemento alimentar.	61
Tabela 3: Composição do mix de vitaminas e minerais, em 30g do suplemento (1,8g de mix).	61
Tabela 4: Índices antropométricos de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta de suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil (n=97).	65
Tabela 5: Correlação entre ingestão do suplemento com variáveis antropométricas de pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil (n=51).	66
Tabela 6: Eritrograma de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta do suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil (n=80).	70
Tabela 7: Ferritina ($\mu\text{g/L}$) e ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$) de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta do suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil (n=61).	71
Tabela 8: Correlação entre ingestão do suplemento alimentar com variáveis bioquímicas de pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil (n=51).	72

Tabela 9: Retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$) de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta de suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil (n=62).	77
Tabela 10: Classificação dos níveis de retinol sérico e sua prevalência em pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil, antes e após 45 dias de intervenção, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1996) (n=62).	78
Tabela 11: Ingestão média de nutrientes em pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil, antes e após a administração do suplemento alimentar (n=62).	81
Tabela 12: Ingestão média de nutrientes em pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil, antes (sem o suplemento) e durante a pesquisa (com o suplemento alimentar) (n=62).	82
Tabela 13: Comparação da ingestão de micronutrientes antes (sem) e durante a pesquisa (com o suplemento), com a recomendação nutricional (EAR) (n=62).	83
Tabela 14: Prevalência de inadequação da ingestão dos micronutrientes, sem e com o suplemento (n=62).	84

RESUMO

CASTRO, Luiza Carla Vidigal, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2010. **Efeitos da intervenção com suplemento alimentar à base de soro de leite adicionado de prebiótico no estado nutricional de ferro e vitamina A em pré-escolares.** Orientadora: Neuza Maria Brunoro Costa. Co-orientadoras: Helena Maria Pinheiro Sant'Anna, Célia Lucia Luces Fortes Ferreira, Sylvia do Carmo Castro Franceschini

A fortificação e suplementação de alimentos, aliada à educação nutricional visam combater as carências de micronutrientes nos grupos mais vulneráveis da população. A administração de suplementos alimentares pode ser uma estratégia eficaz no combate da anemia ferropriva e da deficiência de vitamina A em pré-escolares. Os objetivos do presente estudo foram avaliar, em animais, a biodisponibilidade de ferro de um suplemento alimentar à base de soro de leite, adicionado de inulina e enriquecido com ferro, zinco, cobre e vitamina A; e, em humanos, avaliar a eficácia do suplemento na melhoria do estado nutricional de pré-escolares. No estudo com animais foram utilizados 48 ratos machos *Wistar* recém-desmamados, distribuídos em 6 grupos experimentais (n=8), com peso médio inicial de 55,86g. O método utilizado para a avaliação da biodisponibilidade de ferro foi o de depleção/repleção de hemoglobina, adaptado para 21 dias de depleção. Ao final do período, amostras de sangue foram coletadas por incisão da cauda dos animais para determinação da concentração de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina. Durante o experimento, foram monitorados o peso corporal e o consumo alimentar

para determinação do coeficiente de eficiência alimentar (CEA). O valor relativo de biodisponibilidade (RBV) do suplemento foi calculado considerando o padrão (dieta controle com sulfato ferroso) com biodisponibilidade igual a 100%. Os dados de ganho de peso, coeficiente de eficiência alimentar e ganho de hemoglobina foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de Tukey utilizando-se o software Sigma Statistic ($p < 0,05$). Para analisar o comportamento da variação da concentração de hemoglobina em relação à concentração de ferro nas dietas usou-se análise de regressão linear. Na fase de repleção observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao ganho de peso e CEA entre os grupos. O suplemento apresentou boa biodisponibilidade de ferro, com valor relativo de biodisponibilidade de 76%, sendo, portanto, promissor na melhoria do estado nutricional de ferro. Posteriormente realizou-se o estudo com humanos em 4 creches municipais de Viçosa, MG, onde foram recrutadas 110 crianças de 2 a 5 anos de idade. As crianças foram submetidas a avaliações antropométricas (peso e altura), bioquímicas (hemácias, hematócrito, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio – VCM, hemoglobina corpuscular média – HCM, ferro sérico, ferritina e retinol sérico) e dietéticas (pesagem direta dos alimentos, recordatório de 24 h e registro alimentar), no início e ao final do período de 45 dias de intervenção. O suplemento (porção de 30 g) foi servido diariamente, no lanche da tarde, diluído em 100 mL de água, 5 vezes/semana e fornecia 30% das doses diárias recomendadas de ferro, zinco, cobre e vitamina A. Os dados dietéticos e bioquímicos coletados no início e final do experimento foram comparados pelo teste de Wilcoxon, enquanto que, para os dados antropométricos, utilizou-se o teste-t pareado ($p < 0,05$). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Viçosa. Os valores de z-escore para peso e altura foram significativamente superiores após a intervenção. O mesmo foi observado para os parâmetros bioquímicos eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM e ferritina após a intervenção. A inclusão do suplemento

aumentou significativamente a ingestão de nutrientes. O suplemento em pó mostrou ser eficaz na melhoria do estado nutricional e do perfil alimentar de pré-escolares, indo ao encontro das políticas de segurança alimentar e de combate às carências nutricionais da população.

ABSTRACT

CASTRO, Luiza Carla Vidigal, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2010. **Effect of the intervention with alimentary supplement to the base of milk whey added of prebiotic in the nutritional status of iron and vitamin A in preschool.** Adviser: Neuza Maria Brunoro Costa. Co-advisers: Helena Maria Pinheiro Sant'Anna, Célia Lucia Luces Fortes Ferreira and Sylvia do Carmo Castro Franceschini.

The fortification and supplementation of food, allied with nutritional education aim to fight the lack of micronutrients in the most vulnerable groups in the population. The administration of food supplements may be an effective strategy in the fight of iron-deficiency anemia and deficiency of vitamin A in preschool children. The purpose of this study was to evaluate, in animals, the bioavailability of iron of a food supplement based on milk whey, supplemented with inuline and enriched with iron, zinc, copper and vitamin A and C; and, in humans, evaluate the efficiency of the supplement in the improvement of the nutritional status of preschool children. In the investigation with animals 48 male *Wistar* rats just out of lactation, distributed in 6 experimental groups (n=8), with initial average weight of 55,86 g. The method used for the evaluation of bioavailability of iron was depletion/repletion of hemoglobin, adapted to 21 days of depletion. At the end of the period, blood samples were collected by incision in the tail of the animals for the determination of the concentration of hemoglobin by the cyanometahemoglobin method. During the experiment, body weight and food consumption was monitored for the determination of the food

efficiency coefficient (CEA). The relative value of bioavailability (RBV) of the supplement was calculated considering the standard (diet control with ferrous sulfate) with bio availability equal to 100%. The data for gain in weight, food efficiency coefficient and gain in hemoglobin were submitted to analysis of variance and Tukey comparison test by means of the Sigma Statistic Software ($p < 0.05$). To evaluate the behavior of the variation of the concentration of hemoglobin in relation to the concentration of iron used in the diet linear regression analysis was carried out. In the repletion stage a significant difference ($p < 0.05$) was found with respect to gain in weight and CEA between the groups. The supplement exhibited good bioavailability of iron, with a relative value of bioavailability of 76%, being, thus, promising in the improvement of the nutritional status of iron. Afterward a study with humans was carried out in 4 county nursery schools in Viçosa, state of Minas Gerais, Brazil, when 110 children were recruited with ages between 2 and 5 years. The children were submitted to anthropometric (weight and height), biochemical (erythrocytes, concentration of hemoglobin, average corpuscular volume – VCM, average corpuscular hemoglobin - HCM -, seric iron, ferritin and serum retinol) and dietetic (direct weighing of the food, 24 h recordatory, and food register) evaluations, in the beginning and end of a 45 days period of intervention. The supplement (30 g portion) was served daily in the afternoon snack, diluted in 100 mL of water, 5 times/week and supplied 30% of recommended daily doses of iron, zinc, copper and vitamin A and C. The dietary and biochemical data collected in the beginning and end of the experiment were compared by means of the Wilcoxon test, whereas for the anthropometric data the paired t-test ($p < 0.05$) was used. The study was approved by the ethic committee of Viçosa Federal University. The values of the z- scores for weight and height was significantly superior after the intervention. The same was observed for the biochemical parameters erythrocytes, hemoglobin, VCM, HCM and ferritin after the intervention. The inclusion of the supplement increased significantly the ingestion of nutrients. The powdered supplement showed

to be effective in the improvement of the nutritional status and food profile of preschool children, attending to the policies of nutritional security and combat of nutrition deficiencies of the population.

APRESENTAÇÃO DA TESE

Esta tese é apresentada na forma de capítulos, assim distribuídos:

- Capítulo 1: Revisão de literatura abordando a anemia ferropriva e a deficiência de Vitamina A na população, bem como a importância do ferro e da Vitamina A para a saúde humana. Além disso, discute-se a fortificação de alimentos e a suplementação alimentar como estratégias de combate às carências nutricionais. Por fim, enfatiza-se os benefícios dos prebióticos e o valor nutricional do soro de leite;
- Capítulo 2: Artigo original abordando a biodisponibilidade de ferro de suplemento alimentar em ratos, referente ao estudo experimental com animais;
- Capítulo 3: Artigo original com os resultados do estudo realizado com crianças em que é discutida a eficácia de um suplemento à base de soro de leite e adicionado de prebiótico no estado nutricional de ferro e vitamina A em pré-escolares.

As referências bibliográficas são apresentadas ao final de cada capítulo.

INTRODUÇÃO GERAL

A anemia ferropriva e a deficiência de vitamina A são relevantes problemas de saúde pública no Brasil e no mundo devido as suas elevadas prevalências. Estudos mostram que a suplementação de vitamina A melhora o estado nutricional de ferro e vice-versa. Entretanto, os mecanismos envolvidos na associação entre ferro e vitamina A não estão bem esclarecidos.

A extensão e a magnitude de deficiências nutricionais, como as de ferro e vitamina A, são graves e, portanto, intervenções específicas que resultem em impacto positivo na saúde das populações, tornam-se imprescindíveis. Neste contexto, são prioritárias alternativas que visem o combate à carência de ferro e vitamina A e que melhor se adaptem às condições de cada região. Dentre estas, uma das estratégias mais adequada e recomendada é a fortificação de alimentos, com adição de ferro e vitamina A em alimentos direcionados aos grupos susceptíveis, como as crianças (IOST et al., 1998; PIZARRO et al., 2002).

A utilização do soro de queijo como veículo para a fortificação alimentar agrega valor nutricional e de mercado a este resíduo da indústria de laticínios, além de reduzir os problemas ambientais gerados pelo seu descarte nos mananciais. A adição de prebiótico ao suplemento agrega um

valor funcional ao alimento, dado os seus efeitos benéficos já comprovados, especialmente quanto ao aumento da biodisponibilidade de minerais.

O suplemento em pó é viável para transporte, armazenamento e utilização na alimentação institucional, vindo ao encontro das políticas nacionais de segurança alimentar e de combate às carências nutricionais da população brasileira.

Diante disso, o presente estudo objetivou avaliar a eficácia de um suplemento alimentar em pó, a base de soro de leite, fortificado com vitaminas A e C, minerais ferro, zinco e cobre e adicionado de prebiótico na melhoria do estado nutricional de ferro e vitamina A em pré-escolares.

CAPÍTULO 1

Revisão de literatura

1.1 – Anemia Ferropriva e a importância do ferro na alimentação

A anemia afeta 1,62 bilhão de pessoas, correspondendo a aproximadamente um quarto da população mundial e atingindo metade das crianças em idade pré-escolar, principalmente em países em desenvolvimento (FABIAN et al., 2007; WHO, 2008). De acordo com relatório da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2008), a prevalência de anemia em crianças em idade pré-escolar (0 a 4,99 anos) no Brasil varia de 50 a 60%, o que caracteriza um moderado problema de saúde pública. As causas da anemia são múltiplas e estima-se que 50% sejam devido à deficiência de ferro, tanto pela ingestão inadequada do nutriente, quanto pela sua baixa biodisponibilidade, bem como pelo aumento das necessidades decorrentes de crescimento de tecidos e expansão do volume sanguíneo, como ocorre com crianças e gestantes (WHO, 2001).

As necessidades corporais de ferro variam em função da idade, sexo, estado fisiológico (gravidez e lactação) e patológico (infecções). Devido à expansão do volume sanguíneo e ao crescimento dos tecidos, gestantes e crianças apresentam altas necessidades de ferro, sendo, portanto, mais vulneráveis ao desenvolvimento da deficiência do mineral (DEMAEYER, 1989).

O teor de ferro na dieta é determinado pela quantidade do mesmo nos alimentos e pela sua biodisponibilidade que varia de acordo com a sua forma química. Existem dois tipos de ferro que compõem a dieta e estão relacionados com o mecanismo da absorção. O ferro heme – derivado da hemoglobina e mioglobina – apresenta alta biodisponibilidade e é absorvido na faixa de 10 a 30%, diretamente pela mucosa intestinal não sofrendo interferência de fatores da dieta; e o ferro não heme – derivado dos produtos vegetais e dos demais produtos de origem animal, como ovo e leite – apresenta biodisponibilidade variável. Os constituintes da dieta que interferem na biodisponibilidade do ferro não-heme podem ser classificados em estimuladores e inibidores. Entre os fatores estimuladores estão as carnes e os ácidos orgânicos (cítrico, málico, tartárico, láctico e ascórbico). E entre os inibidores da absorção estão os polifenóis (principalmente os taninos, presentes nos chás, no café e alguns refrigerantes), fitatos (presentes em farelos, leguminosas e cereais), fosfatos (ovos, leite e derivados), oxalatos (espinafre, couve, repolho, folha de beterraba, chá, cacau, etc), aditivos alimentares (ácido etilendiamina tetracético - EDTA) e alguns minerais (cálcio, zinco, cobre, cobalto, manganês). Dependendo da presença de tais substâncias estimuladoras ou inibidoras, a absorção do ferro numa refeição pode variar entre 1 a 30% em pessoas com boas reservas de ferro (TUDISCO, 1988).

A recomendação para ingestão diária de ferro em crianças de 1 a 3 anos é de 7 mg/dia, enquanto na faixa etária de 4 a 8 anos é de 10 mg/dia (IOM, 2001).

Como consequência da deficiência nutricional de ferro, instala-se a anemia que é definida para crianças pré-escolares como uma concentração de hemoglobina abaixo de 11 g/dL (WHO, 2007).

A carência de ferro ocorre no organismo de forma gradual e progressiva, compreendendo os seguintes estágios (DEHOOD, 1998; NÓBREGA, 1998; PAIVA, 2000; FOSTER, 2004):

1º estágio: *depleção* dos estoques de ferro dos hepatócitos e macrófagos do fígado, baço e medula óssea. A ferritina sérica é utilizada para avaliar as reservas corporais de ferro. Valores reduzidos ($< 12 \mu\text{L}$) são um forte indicador de depleção de ferro, e valores elevados podem ser observados na presença de infecções, neoplasias, doenças hepáticas, leucemias e hipertireoidismo.

2º estágio: *deficiência de ferro*, que compromete a eritropoiese, prejudicando assim a produção normal de hemoglobina e outros compostos férricos, ainda que a concentração de hemoglobina não esteja reduzida. Neste estágio, a concentração de ferro sérico (FeS) é reduzida (FeS $< 13 \text{ mmol/L}$). Esse é, portanto, um parâmetro bastante utilizado, apesar de ser muito instável. A concentração de FeS está alterada na presença de processos infecciosos, podendo diminuir em poucas horas após o desencadeamento de uma infecção. A capacidade total de ligação do ferro (CTLF), que também é utilizada para avaliar o ferro circulante, aumenta na deficiência de ferro, mas diminui na inflamação, fornecendo assim evidência para diferenciação das duas situações. Porém, deve ser avaliada criteriosamente, uma vez que pode se encontrar dentro da faixa de normalidade quando ambas, inflamação e deficiência, coexistem. A CTLF pode aumentar antes mesmo das reservas de ferro se exaurirem completamente, refletindo depleção das reservas; no entanto, é menos sensível que a ferritina. A faixa normal de CTLF varia entre 45 e 70 mmol/L (250 - 390 mg/dL). A relação entre FeS e CTLF fornece a saturação da transferrina. Uma redução na saturação da transferrina de 15% a 16% indica suprimento insuficiente de ferro para a produção de células vermelhas; por sua vez, a elevação de 20% a 25% é útil para excluir a deficiência de ferro.

3º estágio: *anemia ferropriva*, caracterizada pela diminuição dos níveis de hemoglobina, e produção de eritrócitos microcíticos, com

prejuízos funcionais ao organismo. A hemoglobina é o parâmetro universalmente utilizado para definir anemia. O hematócrito fornece informações similares à concentração de hemoglobina, podendo ser utilizado conjuntamente no diagnóstico de anemia.

Neste estágio, as alterações no tamanho e na cor das células vermelhas proporcionam uma informação útil em relação ao estado nutricional de ferro. Os índices hematimétricos comumente utilizados são: volume corpuscular médio (VCM), que avalia o tamanho médio dos eritrócitos; amplitude de variação do tamanho dos eritrócitos ou “red distribution width” (RDW), que avalia a variabilidade no tamanho dos eritrócitos; hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), que avaliam a concentração de hemoglobina no eritrócito.

As conseqüências da anemia por deficiência de ferro na infância incluem comprometimento do sistema imunológico, do crescimento físico e desenvolvimento intelectual e da capacidade de regulação térmica (GLEASON; SCRIMSHAW, 2007).

Assim, o equilíbrio orgânico do ferro é importante para a promoção de saúde uma vez que o nutriente desempenha importantes funções no organismo. Dentre elas, podemos citar a formação de glóbulos brancos; transporte de O₂ e CO₂ no sangue; transferência de elétrons; reações de oxidação – redução; produção de energia celular; proteção ao sistema imunológico e produção de anticorpos; conversão de β-caroteno em vitamina A; síntese do colágeno; formação de purinas e, conseqüentemente, ácido nucléico; remoção de lipídios do sangue; detoxificação de drogas do fígado; síntese da carnitina, que é necessária para a oxidação de ácidos graxos na mitocôndria; síntese de tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) que influenciam na regulação da temperatura corporal (ASSAO et al., 2004; COSTA, 2008; BRAGA, 2008).

Em crianças, o ferro desempenha importante papel no desenvolvimento mental, estando suas ações ligadas aos processos de mielinização, síntese e função de neurotransmissores (dopamina, serotonina, catecolaminas e ácido gama-aminobutírico – GABA) e metabolismo dos neurônios das áreas de memória (BEARD; CONNOR, 1993).

O ferro é componente de enzimas que regulam a divisão celular no sistema nervoso central (ribonucleotídeo redutase), síntese de dopamina (tirosina hidroxilase), mielinização (delta 9- desaturase) e metabolismo oxidativo (citocromo C oxidase). Em pré-escolares, estudos têm associado a deficiência de ferro com diminuição de habilidades cognitivas, principalmente da atenção, disposição e rendimento escolar, além do aumento da suscetibilidade às infecções e a desaceleração do crescimento (SOEWONDO et al, 1989; GRANTHAM-McGREGOR, 2001).

As anemias nutricionais têm sido combatidas por meio de medidas preventivas e curativas baseadas na administração de sais de ferro como suplemento medicamentoso e/ou fortificação de alimentos com ferro (COZZOLINO, 1993; HUMA et al., 2007; BRASIL, 2008).

1.2 – Vitamina A

A vitamina A é uma vitamina lipossolúvel essencial, requerida em pequenas quantidades em importantes processos biológicos, como no ciclo visual, na reprodução, no desenvolvimento fetal, na função imune, na regulação da proliferação e diferenciação de muitas células (BISWAS et al., 2000) e em muitos outros processos metabólicos igualmente importantes para a saúde de seres humanos (LIU et al., 2000).

No ciclo visual, a vitamina A é necessária para manter a diferenciação normal da córnea e membranas conjuntivas, prevenindo a

xerofthalmia, como também dos fotorreceptores das células bastonetes e células cones da retina (IOM, 2001).

Na função imune, a vitamina A é importante para: a) manutenção dos níveis circulantes de *células Natural Killer* que possuem atividade antiviral e anti-tumor; b) aumento da atividade fagocítica dos macrófagos; c) aumento na produção de interleucina 1 e outras citocinas, que são importantes mediadores da inflamação e estimuladores da produção de linfócitos T e B. Conseqüentemente, o crescimento, diferenciação e ativação de linfócitos B requerem retinol (IOM, 2000; MARTINEZ & MONTEIRO, 2008).

A vitamina A é ainda necessária para a integridade das células epiteliais do corpo. O ácido retinóico ativa receptores (Receptor Ácido retinóico - RAR e receptor Retinóide X - RXR) nos núcleos, regulando a expressão de vários genes que codificam a estrutura de proteínas (ex. queratina), enzimas, proteínas da matriz extracelular, proteínas ligantes de retinol e receptores (IOM, 2000).

As necessidades diárias da vitamina A foram baseadas em estudos populacionais. Para crianças de 1 a 8 anos de idade, estudo em países em desenvolvimento indicaram que a xerofthalmia e baixas concentrações de retinol sérico ($< 20 \mu\text{g/dL}$) eram presentes em pré-escolares e escolares com ingestão média de $200 \mu\text{g/dia}$. Porém, a ingestão de $300 \mu\text{g/dia}$ foi associada com concentrações séricas de retinol acima de $30 \mu\text{g/dL}$. Diante disso, foram estabelecidas as recomendações de ingestão de vitamina A, segundo a faixa etária: $300 \mu\text{g/dia}$ para crianças de 1 a 3 anos e $400 \mu\text{g/dia}$ para crianças de 4 a 8 anos (IOM, 2000).

A deficiência de vitamina A é a mais importante causa de cegueira na infância em países em desenvolvimento e, também, contribui significativamente para a morbi-mortalidade por doenças infecciosas. Dados de 1995 a 2005 da Organização Mundial da Saúde estimam que a cegueira noturna acometa, em média, 5,2 milhões de crianças em idade pré-escolar, no mundo, enquanto a deficiência bioquímica de vitamina A, caracterizada

por concentração sérica de retinol abaixo de 0,70 mmol/L (20 mg/dL) atinge 190 milhões de pré-escolares, principalmente da África e Sudeste Asiático (WHO, 2009).

A deficiência de vitamina A é causada tanto por fatores dietéticos (ingestão inadequada da vitamina pré-formada e/ou seus precursores carotenóides), como por fatores ecológicos, sociais e econômicos, com os quais a ingestão deficiente coexiste com doenças infecciosas que causam diarreia e doenças respiratórias que prejudicam a ingestão e absorção do nutriente, caracterizando assim um “sinergismo” que resulta na depleção dos estoques corporais da vitamina (DOLINSKY; RAMALHO, 2003; RAMALHO; SAUDERS, 2003; WHO, 2009).

De acordo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009), a prevalência de níveis séricos de retinol inferiores a 0,70 mmol/L (ou 20 mg/dL) em 2% a 10% da população indica problema de saúde pública leve, de 10% a 20%, problema moderado e maior ou igual a 20%, grave. Segundo relatório da OMS a prevalência de deficiência bioquímica de vitamina A no grupo pré-escolar do Brasil é considerada grave problema de saúde pública (WHO, 2009).

Para o UNICEF (2005), o uso dos indicadores como sinais clínicos (xerofthalmia, manchas de Bitot e cegueira noturna) e a avaliação bioquímica fornecida pelos níveis de retinol no sangue, podem caracterizar a deficiência de vitamina A como problema de saúde pública.

Dentre os marcadores bioquímicos, a concentração sérica de retinol é o mais utilizado para avaliação do estado nutricional de vitamina A, ou seja, o retinol sérico é o indicador convencional de deficiência de vitamina A. Níveis séricos de retinol abaixo de 10 µg/dL e 20 µg/dL são utilizados para classificação de, respectivamente, deficiência grave e moderada de vitamina A. Não existe evidência direta de pontos de corte para valores de retinol sérico a partir dos quais começam a ocorrer conseqüências funcionais e efeitos na morbi-mortalidade na população. Por esta razão, o ponto de corte

de 20 µg/dL têm sido proposto para indicar a necessidade de intervenção (WHO, 1996; CRAFTI, 2001; TANUMIHARDJO, 2004) .

1.3 – Fortificação de alimentos e suplementação alimentar como estratégias de combate às carências nutricionais

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os alimentos fortificados ou enriquecidos são aqueles adicionados de um ou mais nutrientes essenciais contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo e ou prevenir ou corrigir deficiência(s) na alimentação de grupos e/ou populações (BRASIL, 1998a). Para ser classificado como alimentos enriquecidos ou fortificados é necessário que 100 mL ou 100 g do produto, pronto para consumo, forneçam, no mínimo, 15% da ingestão dietética de referência (IDR), no caso de líquidos, e 30% da IDR, no caso de sólidos (BRASIL, 1998a). Já os suplementos alimentares são definidos com alimentos que servem para complementar com nutrientes a dieta diária de uma pessoa saudável, em casos onde sua ingestão, a partir da alimentação, seja insuficiente ou quando a dieta requerer suplementação. Devem conter um mínimo de 25% e, no máximo, 100 % da Ingestão Diária Recomendada (IDR) de vitaminas e ou minerais, na porção diária, não podendo substituir os alimentos, nem serem considerados como dieta exclusiva (BRASIL, 1998 b).

A Política Nacional de Alimentação e Nutrição (BRASIL, 2008) é clara ao expor que, para combater as carências de micronutrientes nos grupos mais vulneráveis da população, além da suplementação deve-se também incentivar o consumo de alimentos-fontes dos nutrientes em questão (por meio da educação nutricional), bem como implementar ações de fortificação de alimentos de largo consumo popular, estratégia já utilizada por vários países, inclusive o Brasil.

Dados da literatura apontam que esta medida de intervenção (fortificação de alimentos com nutrientes) pode produzir resultados equivalentes à suplementação medicamentosa, com menor relação custo/benefício por indivíduo (HURREL, 1997; NILSON; PIZA, 1998; BEINER; LAMOUNIER, 2003; HORTON, 2006).

O custo da fortificação de alimentos com nutrientes é bastante baixo, comparado com os custos sociais das deficiências. Geralmente, os custos com a fortificação de alimentos correspondem a menos de um dólar/ano para proteger um indivíduo contra deficiências de vitamina A, ferro, iodo, zinco, além de outros nutrientes essenciais (HURREL, 1997; NILSON; PIZA, 1998). De acordo com HORTON (2006), o custo *per capita* anual para a fortificação de ferro, zinco e iodo é em torno de US\$0.12, US\$0.24 e US\$0.10, respectivamente.

Estudo realizado por SILVA (2003) em Viçosa, MG, Brasil, mostrou que uma bebida láctea fortificada com ferro e adicionada de probiótico apresentou custo médio de produção correspondente ao iogurte batido, evidenciando assim uma ótima relação custo/benefício, dada a superioridade nutricional da bebida láctea.

Segundo o Codex Alimentarius (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 1985), alguns critérios devem ser seguidos ao se adicionar um ou mais nutriente aos alimentos, a saber:

- o nutriente deve estar presente em níveis abaixo da dose diária recomendada, em dieta de um segmento substancial da população;
- o alimento a ser fortificado deve ser consumido pela maior parte dos indivíduos do segmento necessitado da população;
- a adição do nutriente específico não deve criar um desequilíbrio nutricional;
- o nutriente adicionado deve ser fisiologicamente disponível, de forma que seu valor nutricional seja mantido durante a vida de prateleira do produto;

- deve haver uma certeza razoável de uma pessoa não ingerir quantidades excessivas, que pode ser prejudicial;
- a adição do nutriente não deve alterar as características sensoriais.

Para atingir os grupos mais vulneráveis, dentre elas as crianças, os alimentos fortificados devem estar inseridos em programas de alimentação escolar e em creches, pré-escolas e escolas estaduais e municipais, bem como em cestas básicas para que haja melhor acesso aos produtos fortificados (BRASIL, 2007).

A indústria de alimentos já disponibilizou muitos alimentos fortificados com vários nutrientes, dentre eles o ferro (leite, cereais, iogurtes e certos tipos de queijo) que, entretanto, a população de baixa renda não tem fácil acesso à maioria desses alimentos.

No Brasil, em 2002, foi aprovada a fortificação compulsória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico e as empresas tiveram um prazo até junho de 2004 para se adequarem a esta normatização. Outras fortificações compulsórias existem no Brasil há mais tempo, como a de iodo e a de flúor. A fortificação de sal de cozinha com iodo é uma estratégia de combate à deficiência do mineral adotada no Brasil desde 1953 e a de flúor na água desde 1975. Apesar de o Brasil dispor de alimentos fortificados com vitamina A no mercado, ainda não optou por essa estratégia como ação de saúde pública por inexistência de dados epidemiológicos que embasem de forma segura e justifiquem a fortificação universal de alimentos para controle da deficiência no país (BRASIL, 2007).

Os minerais utilizados para a fortificação de alimentos são classificados como GRAS (Generally Recognized as Safe) pelo FDA (Food and Drug Administration) (ROSADO, 2003). Segundo Name e Guerra (2002) e Boccio e Yvengar (2003), a biodisponibilidade do composto adicionado deve ser considerado na efetividade da fortificação de alimentos.

De acordo com Boccio e Yvengar (2003), vários compostos de ferro podem ser utilizados na fortificação de alimentos e a solubilidade do mesmo deve ser considerada para este fim. Dentre os compostos muito solúveis em água tem-se o sulfato ferroso, gluconato ferroso e lactato ferroso; e, dentre aqueles ligeiramente solúveis em água, mas altamente solúveis em soluções ácidas diluídas (como suco gástrico, por exemplo) cita-se o fumarato ferro. O pirofosfato férrico é insolúvel em água a pouco solúvel em soluções ácidas diluídas. Dentre os compostos de ferro “protegidos”, tem-se o ferro aminoácido quelato.

Estudo realizado por Pérez-Exposito e colaboradores (2005), com 54 crianças mexicanas de 2 a 4 anos, utilizando metodologia com isótopos estáveis, demonstrou que a incorporação de ferro nos eritrócitos foi maior no grupo que recebeu suplemento (à base de leite em pó) fortificado com sulfato ferroso, comparado com o grupo que recebeu o suplemento com fumarato ferroso. Além disso, a absorção de ferro do sulfato ferroso apresentou boa correlação com ferritina sérica ($r=0,63$, $p=0,01$).

Entretanto, segundo Hurrell (2002), alterações sensoriais são comuns quando o ferro é adicionado nos alimentos e os compostos de ferro com alta biodisponibilidade, como sulfato e gluconato ferroso causam mudanças de cor e sabor em diversos veículos alimentares. Fontes menos biodisponíveis e inertes, como pirofosfato férrico e formas de ferro elementar têm sido comumente utilizadas na fortificação de alimentos em pó e cereais. Embora estes compostos não sejam tão bem absorvidos quanto o sulfato ferroso, eles não causam modificações sensoriais.

Assim, além da biodisponibilidade, devem-se considerar também as alterações sensoriais provocadas pela adição do composto. De acordo com Umbelino et al. (2001) e Hurrell (2002), o ferro aminoácido quelato e o fumarato ferroso são tão bem absorvidos quanto o sulfato ferroso e não causam mudanças de cor e sabor nos alimentos, como ocorre com o sulfato ferroso. Hurrell (2002) relata uma média de RBV (Valor Relativo de Biodisponibilidade) acima de 90% (95% em ratos e 100% em humanos)

para o fumarato ferroso. Da mesma forma, Mehansho (2006) encontrou um alto valor de RBV (107%) do fumarato ferroso em relação ao sulfato ferroso, em estudos com ratos submetidos ao método de depleção e repleção .

Segundo Name e Guerra (2002), entre os compostos de ferro conhecidos, o ferro aminoácido quelato é o que apresenta a maior biodisponibilidade em função de sua estrutura química, não interação com outros componentes da dieta, ausência de efeitos colaterais e alta aplicabilidade na tecnologia de alimentos.

Sakon (2008) avaliou a biodisponibilidade de compostos de ferro em suplemento alimentar destinado à população idosa. O estudo, realizado em ratos, mostrou que o pirofostfato férrico apresentou biodisponibilidade inferior ao sulfato ferroso, enquanto os compostos fumarato ferroso e ferro aminoácido quelato apresentaram boa biodisponibilidade, sendo que o ganho de hemoglobina observado entre o início e final da fase de repleção não diferiu entre os grupos. Devido à boa biodisponibilidade e ao menor custo (comparado ao ferro aminoácido quelato), o fumarato ferroso foi considerado o mais promissor para a formulação do suplemento.

Navas-Carretero e colaboradores (2007), em estudo experimental com ratos, verificaram que os animais que receberam cacau em pó fortificado com ferro na forma de fumarato ferroso apresentaram maiores concentrações de hemoglobina e capacidade de ligação ao ferro que os animais do grupo do pirofosfato férrico.

Quando se adiciona múltiplos minerais aos alimentos, deve-se considerar a possível interação entre eles, bem como com a matriz do próprio alimento, que podem comprometer a biodisponibilidade dos nutrientes (NOCEK et al., 2006). Estas interações podem ser de forma direta, quando ocorrem fenômenos competitivos durante a absorção intestinal ou utilização tecidual e/ou indiretas, quando um mineral está envolvido no metabolismo do outro, de modo que a deficiência ou excesso de um acarreta no prejuízo da função do outro (BREMNER e BEATTIE,

1995). No caso do ferro, deve-se ter o cuidado de não prejudicar a biodisponibilidade de cálcio, cobre e zinco. A interação entre ferro e cálcio ocorre quando os minerais são ingeridos concomitantemente. A absorção de ferro não-heme é reduzida pela metade quando o consumo de cálcio é de 300 mg por dia e esta redução é, provavelmente, devido a uma competição no transporte de ferro na mucosa intestinal, possivelmente envolvendo a mobilferrina. Porém os efeitos em longo prazo desta interação não foram observados, possivelmente pela regulação compensatória na absorção do ferro (YBARRA *et al.*, 2001; COSTA, 2008). Segundo Dunn *et al.* (2006), o antagonismo entre ferro, zinco e cobre envolve a proteína transportadora de metal divalente (DMT-1), responsável pelo transporte de ferro pela membrana apical e de outros prótons como o zinco, cobre e manganês; e também no caso do zinco existe o antagonismo pela mobilferrina, proteína responsável pelo transporte intracelular de ferro, zinco, cobalto e chumbo, causando competição pela absorção entre eles.

Além da biodisponibilidade e propriedades sensoriais, é importante considerar o custo do composto a ser utilizado na fortificação ou suplementação com ferro. De acordo com Hurrell (2002), o fumarato ferroso apresenta custo relativo ao sulfato ferroso de 1,3, ou seja, 30% maior, mas com a vantagem de causar menos alterações sensoriais no produto final.

1.4 - Prebióticos

Os prebióticos são definidos como ingredientes fermentáveis, porém não digeríveis, cujos efeitos beneficiam o hospedeiro por estimular o crescimento seletivo e ativar o metabolismo de bactérias promotoras da saúde no trato digestório, principalmente as bifidobactérias (BURITI, 2005; URGELL, 2005; SGARBIERI; PACHECO, 1999). Os ingredientes dos alimentos com características prebióticas geralmente exibem algumas particularidades, como: limitada hidrólise e absorção no trato digestório

superior; estimulação seletiva da multiplicação das bactérias benéficas no cólon; potencial para reprimir patógenos e limitar virulência por processo como a imunoestimulação e o estímulo da microbiota benéfica que promove a resistência à colonização por patógenos (BURITI, 2005).

A maior parte dos prebióticos está no grupo dos frutanos, similares estruturalmente à inulina. A inulina é um polissacarídeo que pode ser extraído das famílias *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* e *Compositae*, sendo a principal fonte a chicória (*Cichorium intybus*). Dessa planta obtém-se um polissacarídeo complexo, que é processado e transformado em frutanos, como os frutoligossacarídeos (FOS). Os FOS consistem de moléculas de sacarose, nas quais uma ou duas outras unidades de frutose são adicionadas por ligações α -(2-1) à molécula de frutose da sacarose. Os derivados de sacarose são encontrados naturalmente em vegetais e plantas como alcachofra, raiz de chicória, dália, dente de leão, alho, cebola, banana e outras. No entanto, a quantidade encontrada nesses alimentos é pequena, exigindo consumo elevado para se obter o efeito funcional esperado. O FOS pode, no entanto, ser extraído desses alimentos e concentrado (THAMER; PENNA, 2005). Segundo Anjo (2004) doses de 4 a 5 g ao dia de FOS são suficientes para estimular o crescimento das bifidobactérias.

Em estudos experimentais, a administração de prebióticos como inulina, oligofrutose, glicooligossacarídeos e galactooligossacarídeos tem sido associada com melhor absorção e retenção de vários minerais, particularmente magnésio, cálcio e ferro. Shols-Ahrenz e colaboradores (2001) relatam que os possíveis mecanismos envolvidos na absorção de minerais estimulada por prebióticos são: a) os prebióticos, ao serem fermentados pela microbiota bacteriana, produzem ácidos graxos de cadeia curta que reduzem o pH no lúmen intestinal, promovendo melhor solubilização dos minerais. No caso específico do ferro, o nutriente ingerido pela dieta é reduzido para sua forma ferrosa (Fe^{++}) que é mais solúvel do que o ferro na forma férrica (Fe^{+++}). O Fe^{++} atravessa a camada de muco mais rapidamente para alcançar a borda em escova, onde é ligado a

proteínas ligantes de Fe, que transferem o ferro para dentro da célula; b) nas vilosidades, verifica-se que a altura das criptas, o número de células epiteliais e, conseqüentemente, a absorção de ferro é aumentada pelos prebióticos.

1.5 - Valor nutricional do soro de leite

O soro de leite pode ser obtido em laboratório ou na indústria por três processos principais (ZINSLY et al., 2001):

a) precipitação pela acidificação com ácido orgânico ou mineral em pH 4,6 (ponto isoelétrico) a 20°C, seguida de centrifugação para obtenção da caseína isoelétrica (que pode ser transformada em caseinatos) e de soro ácido;

b) pelo processo de coagulação enzimática (enzima quimosina). Como produtos deste processo têm-se o coágulo de caseínas, matéria-prima para a produção de queijos, e o soro “doce”, assim chamado para se diferenciar do soro ácido, obtido no processo anterior;

c) separação física das micelas intactas de caseína por membranas, obtendo-se como produto a caseína na forma micelar e o soro natural, sem nenhuma alteração por agentes químicos ou enzimáticos.

Portanto, a denominação “soro” é dada ao líquido remanescente após a precipitação e remoção da caseína do leite, sendo que seus principais componentes são: a lactose (4,5% - 5,0%), as proteínas solúveis (0,6% - 0,8%), os lipídios (0,4% - 0,5%) e os sais minerais (8,0% - 10,0%) (SISO, 1996).

O soro de leite retém muitos nutrientes presentes no leite, mas há diferenças entre os soros ácidos e doces. A média geral do percentual de nutrientes do soro ácido é de 72% e do soro doce, 59%, em relação ao leite fluido. Na Tabela 1 encontra-se a composição do leite, soro de leite ácido e soro de leite doce, todos fluidos, e na Tabela 2, a composição dos produtos

em pó. Na Tabela 3 tem-se o percentual de alguns nutrientes dos soros em relação ao leite, considerando o estado físico (fluido ou em pó).

Em relação aos macronutrientes, a concentração de carboidratos (lactose) é maior no soro. A retenção de proteína é em torno de 25%.

Tabela 1. Composição química do leite bovino fluido (3,25% de gordura), soros ácido e doce fluidos, por 100 mL do alimento.

Nutriente	Uni- dade	Valores por 100 mL		
		Leite bovino	Soro ácido	Soro doce
Calorias	kcal	60	24	27
Proteínas	g	3,22	0,76	0,85
Lipídios totais	g	3,25	0,09	0,36
Carboidratos	g	4,52	5,12	5,14
Fibra alimentar total	g	0	0	0
Cinzas	g	0,69	0,61	0,53
Cálcio, Ca	mg	113	103	47
Ferro, Fe	mg	0,03	0,08	0,06
Magnésio, Mg	mg	10	10	8
Fósforo, P	mg	91	78	46
Potássio, K	mg	143	143	161
Sódio, Na	mg	40	48	54
Zinco, Zn	mg	0,4	0,43	0,13
Cobre, Cu	mg	0,011	0,003	0,004
Selênio, Se	µg	3,7	1,8	1,9
Ácido Ascórbico (Vitamina C)	mg	0	0,1	0,1
Tiamina (B ₁)	mg	0,044	0,042	0,036
Riboflavina (B ₂)	mg	0,183	0,14	0,158
Niacina	mg	0,107	0,079	0,074
Ácido pantotênico	mg	0,362	0,381	0,383
Priridoxina (B ₆)	mg	0,036	0,042	0,031
Folato total	µg	5	2	1
Cianocobalamina (B ₁₂)	µg	0,44	0,18	0,28
Retinol (Vitamina A)	µg	28	2	3
Ácidos graxos saturados	g	1,865	0,057	0,23
Ácidos graxos mono-insaturados	g	0,812	0,025	0,1
Ácidos graxos poli-insaturados	g	0,195	0,004	0,011
Colesterol	mg	10	1	2

Fonte: USDA, 2009

Tabela 2. Composição química do leite bovino em pó integral, soros ácido e doce em pó, por 100 g do alimento.

Nutriente	Uni- dade	Valores por 100 g		
		Leite bovino	Soro ácido	Soro doce
Calorias	kcal	496	339	353
Proteínas	g	26,32	11,73	12,93
Lipídios totais	g	26,71	0,54	1,07
Carboidratos	g	38,42	73,45	74,46
Fibra alimentar total	g	0	0	0
Cinzas	g	6,08	10,77	8,35
Cálcio, Ca	mg	912	2054	796
Ferro, Fe	mg	0,47	1,24	0,88
Magnésio, Mg	mg	85	199	176
Fósforo, P	mg	776	1349	932
Potássio, K	mg	1330	2289	2080
Sódio, Na	mg	371	968	1079
Zinco, Zn	mg	3,34	6,31	1,97
Cobre, Cu	mg	0,08	0,05	0,07
Manganês, Mn	mg	0,04	0,015	0,009
Selênio, Se	µg	16,3	27,3	27,2
Ácido Ascórbico (Vitamina C)	mg	8,6	0,9	1,5
Tiamina (B ₁)	mg	0,283	0,622	0,519
Riboflavina (B ₂)	mg	1,205	2,06	2,208
Niacina	mg	0,646	1,16	1,258
Ácido pantotênico	mg	2,271	5,632	5,62
Priridoxina (B ₆)	mg	0,302	0,62	0,584
Folato total	µg	37	33	12
Cianocobalamina (B ₁₂)	µg	3,25	2,5	2,37
Retinol (Vitamina A)	µg	257	17	8
Ácidos graxos saturados	g	16,74	0,342	0,684
Ácidos graxos mono- insaturados	g	7,924	0,149	0,297
Ácidos graxos poli- insaturados	g	0,665	0,021	0,034
Colesterol	mg	97	3	6

Fonte: USDA, 2009

Tabela 3. Percentual de nutrientes no soro de leite em relação ao leite bovino

Nutriente	% nutrientes em relação ao		% nutrientes em relação ao	
	leite fluido integral		leite em pó integral	
	Soro ácido fluido	Soro doce fluido	Soro ácido em pó	Soro doce em pó
Proteínas	23,6	26,4	44,6	49,1
Lipídios	2,8	11,1	0,0	0,0
Carboidratos	113,3	113,7	191,2	193,8
Cinzas	88,4	76,8	177,1	137,3
Cálcio, Ca	91,2	41,6	225,2	87,3
Ferro, Fe	266,7	200,0	263,8	187,2
Magnésio, Mg	100,0	80,0	234,1	207,1
Fósforo, P	85,7	50,5	173,8	120,1
Potássio, K	100,0	112,6	172,1	156,4
Sódio, Na	120,0	135,0	260,9	290,8
Zinco, Zn	107,5	32,5	188,9	59,0
Cobre, Cu	27,3	36,4	62,5	87,5
Manganês, Mn	66,7	33,3	37,5	22,5
Folato total	40,0	20,0	89,2	32,4
Cianocobalamina (B ₁₂)	40,9	63,6	76,9	72,9
Retinol (Vitamina A)	7,1	10,7	6,6	3,1
Colesterol	10,0	20,0	3,1	6,2

Fonte: USDA, 2009

Quanto aos minerais, é interessante destacar o ferro, cujo teor é maior no soro, apesar de ambos (leite e soro) não serem boas fontes do mineral. Isso pode ser explicado pela lactoferrina, proteína do leite que se liga ao ferro, que migra para o soro, após a coagulação da caseína. Para o zinco, observa-se uma retenção em torno de 30% no soro doce fluido. O conteúdo de zinco no soro ácido é superior ao soro doce, provavelmente pela influência do pH, que interfere na solubilidade de alguns compostos. A retenção de cobre também é em torno de 30%. Quanto às vitaminas, no processo de obtenção do soro, a vitamina A fica retida no coágulo, uma vez

que é lipossolúvel. Já a quantidade de vitamina C é insignificante, tanto no leite quanto no soro fluido.

O soro contém uma mistura rica e heterogênea de proteínas com atributos funcionais, podendo ser utilizadas para fins nutricionais, biológicos e em alimentos. O soro de leite bovino contém de 4 a 7 g de proteína/litro, sendo que a concentração real depende do tipo de soro (ácido ou doce), estágio de lactação e condições de processamento usadas na produção do queijo ou da caseína (WIT, 1998).

Tradicionalmente, o termo “proteínas de soro” refere-se às proteínas do leite que permanecem no soro após a separação da caseína ou a produção de queijo. As principais proteínas do soro são a β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina, duas proteínas globulares de baixo peso molecular que representam de 70 a 80% das proteínas do soro, seguidas da albumina sérica e das imunoglobulinas. As imunoglobulinas incluem IgG, IgA e IgM, sendo que a IgG corresponde a 80% do total das imunoglobulinas de leite bovino (SGARBIERI, 2005).

Do ponto de vista nutricional, as proteínas do soro de leite apresentam excelente composição em aminoácidos, alta digestibilidade e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais. Quanto à composição aminoacídica, as proteínas de soro apresentam os aminoácidos essenciais que atendem às recomendações para todas as idades. Apresentam elevadas concentrações dos aminoácidos triptofano, cisteína, leucina, isoleucina e lisina. As proteínas do soro de leite são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais, sendo muito adequadas para situações de estresses metabólicos (ZINSLY et al., 2001; SGARBIERI, 2005).

Na Tabela 4 encontram-se as principais proteínas do soro de leite bovino

Tabela 4. Distribuição das proteínas do soro de leite bovino

Proteína	Quantidade (g/L)
Proteínas Totais	5,6
Beta-lactoglobulina	3,2
Alfa-lactoalbumina	1,2
Albumina sérica bovina	0,4
Imunoglobulinas	0,7
Lactoferrina	0,1
Lisozima	desprezível

Fonte: adaptado de SGARBIERI (2005)

A funcionalidade das proteínas é um fator complementar à qualidade nutricional. Do ponto de vista tecnológico, as propriedades funcionais importantes são aquelas que melhoram o comportamento tecnológico da proteína, melhorando as características sensoriais e de aparência dos produtos que as contêm. Dentre essas propriedades, as de maior interesse são: solubilidade, capacidade de retenção de água e gordura, capacidade de emulsificação e estabilidade de emulsões, capacidade de formação de espuma e estabilidade de espuma, capacidade de geleificação e propriedades dos géis, formação de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis (WIT, 1998), que podem ser explicadas pelas características estruturais e físico-químicas.

O concentrado protéico de soro de leite modifica as propriedades de textura e dessoragem dos produtos aos quais é aplicado. Em trabalho realizado por Antunes et al. (2004), foi observado aumento da firmeza e coesividade e diminuição da sinérese de iogurtes desnatados adicionado de concentrado de proteína de soro.

Aproximadamente 64% (3,3g/L) da proteína do soro correspondem à β -lactoglobulina, existindo como um dímero de 2 subunidades idênticas com cada monômero contendo um grupamento sulfidríla ($-\text{SH}$) e duas ligações dissulfeto ($-\text{S}-\text{S}-$). Cerca de 90% dos grupos $-\text{SH}$ livres no leite são provenientes da β -lactoglobulina. A α -lactalbumina corresponde a 19% das proteínas do leite precipitáveis por calor. Essa proteína existe

como um monômero contendo 4 ligações dissulfeto e nenhum grupamento sulfidril livre (SGARBIERI, 2005).

A molécula de beta-lactoglobulina (β -LG) apresenta em arranjo de cálice ou barril achatado capaz de ligar pequenas moléculas hidrofóbicas no seu interior. Esse tipo de estrutura caracteriza uma família de proteínas denominadas lipocalinas, com propriedades funcionais de grande aplicação na indústria de alimentos, como capacidade de emulsificação, formação de espuma, geleificação, aroma e sabor (MORR; FOEGEDING, 1990). A estrutura da β -LG contribui para que ela seja uma proteína bastante estável em solução em uma ampla faixa de pH (TAULIER; CHALIKIAN, 2001).

O soro de leite bovino e seus derivados protéicos são considerados alimentos/ingredientes funcionais fisiológicos, pois promovem impactos na saúde não apenas pelas propriedades nutricionais, mas também por atuar na modulação do metabolismo e nos mecanismos de defesa dos organismos animal e humano (SGARBIERI; PACHECO, 1999; MICKE et al., 2002; ROSANELI et al., 2002), a saber:

A) Estímulo à síntese de glutathione, apresentando, assim propriedades antioxidante. A glutathione (GSH) é uma molécula composta por três aminoácidos (cisteína, glicina e glutamato), que é sintetizada no interior das células e exerce sua atividade bioquímica por meio do grupamento sulfidril de sua estrutura. Por isso, a cisteína torna-se limitante na síntese de GSH. O fornecimento de cisteína livre não é recomendado por ser facilmente oxidada. Por outro lado, a cisteína presente como cistina (duas cisteínas ligadas por ligações dissulfeto), liberada durante a digestão no trato digestório, é mais estável do que o aminoácido livre (ANDERSON, 1998). O soro de leite contém altas quantidades dos precursores de glutathione, cistina e glutamincistina, sendo, portanto, importante na manutenção dos níveis celulares de glutathione, que desempenha função metabólica como antioxidante celular (DAÍ-DONG et al., 1990).

B) Inibição do crescimento tumoral, via aumento nas concentrações de glutathione que, por sua vez, estimula a imunidade, bem como pela capacidade das proteínas do soro de leite de se ligarem ao ferro, pois este é um agente mutagênico que causa danos oxidativos aos tecidos (BOUNOUS et al., 1989). Além disso, o alto teor de cisteína das proteínas do soro tem sido relacionado com apoptose em células de câncer humano, especialmente próstata e mama (BOUNOUS; GOLD, 1991; DIAS, 2004; CHATTERTON et al, 2006).

C) Inibição de lesões e úlceras no sistema digestório, pois em estudos com ratos foi demonstrado que a alfa-lactoalbumina (α -LA) do soro desempenha função importante na prevenção de úlcera gástrica causada por etanol e por estresse (MATSUMOTO et al., 2001; MEZZARROBA et al, 2006).

D) Efeito anti-hipertensivo de peptídeos derivados da hidrólise enzimática de proteínas de soro (beta-lactoglobulina e alfa-lactoalbumina) que atuam na inibição da ação da enzima conversora da angiotensina I (inativa) em angiotensina II (vasoconstritora e antidiurética) (SGARBIERI, 2004).

E) Redução do colesterol hepático e sanguíneo, pela supressão da absorção do colesterol decorrente da ação de peptídios derivados da β -LG (beta-lactoglobulina) bovina (NAGOKA et al., 2001).

F) Efeito no sistema imunológico via estímulo imunogênico da glutathione (BOUNOUS; GOLD, 1991). Pesquisas mostram que adultos infectados pelo HIV-I com suplementação alimentar à base de soro de leite, apresentaram aumento dos níveis de GSH plasmática e de células mononucleadas e, conseqüentemente, maior sobrevivência (BOUNOUS et al., 1989; MICKE et al., 2002).

G) Efeito serotoninérgico, pelo fato de a alfa-lactoalbumina ser rica em triptofano, o que pode aumentar o triptofano sanguíneo que, por sua vez, é precursor do neurotransmissor serotonina (SGARBIERI, 2004).

Em relação aos aspectos nutricionais e fisiológicos, as proteínas do soro do leite podem ser usadas em aplicações nutricionais, como fórmulas enterais e infantis; na forma de proteínas nativas ou pré-digeridas contribui com o ganho de peso em pacientes pós-cirúrgicos e geriátricos; numa dieta de alimentos de baixa caloria; e na substituição de gordura, ou na formulação de alimentos e bebidas saudáveis (LEE, 1996; WIT, 1998). No Brasil, a produção de bebidas lácteas é uma das principais opções de aproveitamento do soro do leite, e as mais comercializadas são as bebidas fermentadas, com características sensoriais semelhantes ao iogurte, e bebidas lácteas não-fermentadas (NEVES, 2001). Contudo, o aproveitamento desse subproduto ainda é pequeno. Estudo realizado no Paraná mostrou que o soro de leite é utilizado na produção de bebidas lácteas e na produção de soro de leite em pó em um percentual médio de 19,4% (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001). Dados estatísticos da Empresa Brasileira de Agropecuária mostram que, entre os anos 2000 e 2004 houve aumento de 15,4% na produção brasileira de queijos. Em 2007, 34% do leite industrializado em estabelecimentos sob o Serviço de Inspeção Federal (SIF) foi destinado à fabricação de queijos, com produção de, aproximadamente, 450 mil toneladas de queijo e geração de 4,05 milhões de toneladas de soro de leite (EMBRAPA, 2010). Estes números demonstram a necessidade de alternativas para o beneficiamento do soro de leite gerado nos laticínios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, M.E. Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. **Chemico-Biological interaction**.v.111, n.112, p.1-14, 1998.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n.2, p.145-54, 2004.

ANTUNES, A.E.C; CAZETTO, T.F.; BOLINI, H.M.A. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro de leite: perfil de textura, sinérese e análise sensorial. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 15, n. 2, p. 107-114, 2004

ASSAO, T.Y.; SILVA, D.G.; RIBEIRO, L.C.; DEVINCENZI, M.U., SIGULEM, D.M. A importância do Ferro na saúde e nutrição do grupo materno-infantil. **Revista Compacta Nutrição. UNIFESP**. Volume 5, n. 3. 2004.

BEARD, J.L., CONNOR, J.R. Iron in the brain. **Nutrition Review**, v.51, n.6, p.157-70. 1993.

BEINNER, M.A.; LAMOUNIER, J.A. Recent experience with fortification of foods and beverages with iron for the control of iron-deficiency anemia in Brazilian children. **Food Nutrition Bulletin**, v.24, n.3, p.268-274, 2003.

BISWAS, A.B.; MITRA, N.K.; CHAKRABORTY, I.; BASU, S.; KUMAR, S. Evaluation of vitamin A status during pregnancy. **Journal Indian Medical Association**, v.98, n.9, p.525-529, 2000.

BOCCIO, J.R; IYENGAR, V. Iron deficiency - Causes, consequences, and strategies to overcome this nutritional problem. **Biology Trace Elements**, v.94, n.1, p.1-32, 2003.

BOUNOUS, G.; GOLD, P. The biological activity of undenatured dietary whey protein: role of glutathione. **Clinical Investigative Medicine**. v.14, n.4., p.296-309, 1991.

BOUNOUS, G; GERVAIS, F; AMER, V; BATIST, G; GOLD, P. The influence of dietary whey protein on tissue glutathione and the diseases of aging. **Clinical Investigative Medicine**, n.12, p.343-349, 1989.

BRAGA, J.A.P. Ferro. In: FISBERG, M. et al. **O papel dos nutrientes no crescimento e desenvolvimento infantil**. Cap.3. São Paulo: Sarvier, p 48-64, 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Carência de Micronutrientes. **Cadernos de Atenção Básica**, n. 20. 60p. 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 48p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais**. Diário Oficial da União, 16 de janeiro de 1998.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais**. Diário Oficial da União, 16 de janeiro de 1998b.

BREMNER I, BEATTIE J.H. Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions. **Procedure Nutritional Society**, v.54, p.489-499, 1995.

BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. 2005. 75 f. Tese (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica –

Área de Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CHATTERTON, D. E. W.; SMITHERS, G.; ROUPAS, P.; BRODKORB, A. Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin – Technological implications for processing. **International Dairy Journal**, Barking, v. 16, p. 1229-1240, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Report of the 14 th session of the Codex Committee on Food for Special Dietary**. Joint FAO/WHO, 1985.

COSTA, N.M.B. Minerais. IN: COSTA, N.M.B; PELUZIO, M.C.G. **Nutrição Básica e Metabolismo**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008. p263-359.

COZZOLINO, S.M.F.; PEDROSA, L.F.C. Efeito da suplementação com ferro na biodisponibilidade de zinco em uma dieta regional do nordeste do Brasil. **Revista Saúde Pública**, v.27, n.4, p.266-70, 1993.

CRAFT, N. E. Innovative Approaches to Vitamin A Assessment. **Journal of Nutrition**. v.131, suppl, p. 1626S–1630S, 2001.

DAI-DONG, J.X.; NOVAK, G.; HARDY, J. Stabilization of vitamin C by β -lactoglobulin during heat treatment. **Science des Aliments**, v10, p.393, 1990.

DEHOOD, S. Avaliação do estado nutricional. IN: MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo: Roca, 1998. 9ª ed. Cap. 17.

DEMAEYER, E.M. **Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care**. Geneva: WHO; 1989.

DIAS, N.F.G.P. **Propriedades imunoestimulatórias e antitumoral de concentrados protéicos do soro de leite bovino, de caseína e de um isolado protéico de soja** [tese doutorado]. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas; 2004.

DOLINSKY, M.; RAMALHO, A. Deficiência de vitamina A: uma revisão atualizada. **Compacta Nutrição**. UNIFESP, v.4, n. 2, p. 3-18, 2003.

DUNN, L.L.; RAHMANTO, Y.S.; RICHARDSON, D.R. Iron uptake and metabolism in the new millennium. **Trends in Cell Biology**, v.17, n.2, p.93-100, 2006.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE AGROPECUÁRIA. Embrapa Gado de Leite. **Leite em Números: indústria**. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br/>. Acessado em 10 de setembro de 2010.

FABIAN, C.; OLINTO, M.T.A.; DIAS-DA-COSTA, J.S.; BAIROS, F.; NÁCUL, L.C. Prevalência de anemia e fatores associados em mulheres adultas residentes em São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 5, p. 1199-1205, 2007.

FOSTER, B.J.; LEONARD, M.B. Measuring nutritional status in children with chronic kidney disease. **American Journal of Clinical Nutrition**; v.80, n.4, p.801–14, 2004.

GIROTO, J.M.; PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. **Brasil Alimentos**, n. 10, p. 43-46, 2001.

GLEASON, G.; SCRIMSHAW, N.S. An overview of the functional significance of iron deficiency. IN: Kramer, K; Zimmermann, M.B (Ed). **Nutritional Anemia**. Switzerland: Sight and Life Press, 2007, p.45-58.

GRANTHAM-McGREGOR. A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. **Journal of Nutrition**, v.131, suppl., p.649S-668S, 2001

HORTON, S. The Economics of Food Fortification. **Journal of Nutrition**, v.136, p.1068–1071, 2006.

HUMA, N.; ANJUM, F.M.; MURTAZA, M.A.; SHEIKH, M. Food fortification strategy--preventing iron deficiency anemia: a review. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.47, n.3, p.259-65, 2007

HURREL, R.F. How to Ensure Adequate Iron Absorption from Iron-fortified. **Food and Nutrition Reviews**, v. 60, n. 7, p.7–15, 2002. Supplement 2.

HURRELL, R.F. Preventing iron deficiency through food fortification. **Nutrition Reviews**, v. 55, n.6., p. 210-222, 1997.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc.** Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.

IOM - Institute of Medicine. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin E, selenium and carotenoids.** Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.

LEE, M.H. Processing whey protein for use as a food ingredient. **Food Technology**, v.50, p.49-52, 1996.

LIU, C.; WANG, X. D.; BRONSON, R. T.; SMITH, D. E; KRINSKY, N. I.; RUSSELL, M. I. Effects of physiological versus pharmacological β -carotene supplementation on cell proliferation and histopathological

changes in the lungs of cigarette smoke-exposed ferrets. **Carcinogenesis** , v. 21, n. 12, p.2245-2253, 2000.

MARTINEZ, F.E; MONTEIRO, J.P. Vitaminas. In: FISBERG, M. et al. **O papel dos nutrientes no crescimento e desenvolvimento infantil**. Cap.1. São Paulo: Sarvier, 2008. p 11-34.

MATSUMOTO, H.; SHIMOKAWA, Y; USHIDA, Y; TOIDA, T.; HAVASAWA, H. New biological function of bovine α -lactalbumin: protective effect against ethanol and stress-induced gastric mucosa injury in rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.65, n. 1, p.104-1.111, 2001.

MEHANSHO, H. Iron Fortification Technology Development: New Approaches
Journal of Nutrition, v.136, p.1059 - 1063.

MEZZAROBA, L.F.H, CARVALHO, J.E.; PONEZI, A. N.; ANTONIO, M.A.; MONTEIRO, K.M.; POSSENTI, A.; SGARBIERI, V.C. Antiulcerative properties of bovine alfa-lactalbumin. **International DairyJournal**.v.16, n.9, p.1005-1012., 2006

MICKE, P.; BEEH, K.M.; BUHL, R. Effects of long-term supplementation with whey proteins on plasma glutathione levels of HIV-infected patients. **European Journal of Nutrition**, v.41, n.1, p.12-18, 2002.

MORR, C.V.; FOEGEDING, E.A. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates and isolates: a status report. **Food Technology**, v.44, n.1, p.100-112, 1990.

NAGOKA, S.; FUTAMURA, Y; MIWA, K.; AWANO, T.; TADASHI, K.; KUWATA, T. Identification of novel hypocholesterolemic peptides derived from bovine milk β -lactoglobulin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.281, n.1, p.11-17, 2001.

NAME, J. J.; GUERRA J. E.F.;. Uma revisão crítica sobre alimentos fortificados com ferro. **Food Ingredients**, v.13, n.1, p. 56 - 61, 2002.

NAVAS-CARRETERO, S; SARRIÁ, B.; PÉREZ-GRANADOS, A.M.; SCHOPPEN, S.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; VAQUERO, M.P. Comparative Study of Iron Bioavailability from Cocoa Supplemented with Ferric Pyrophosphate or Ferrous Fumarate in Rats. 1: **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 51, n. 3, p. 204-207, 2007.

NEVES, B.S. Aproveitamento de subprodutos da indústria de laticínios. In: EMBRAPA GADO DE LEITE. **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar**. Simpósio. Anais. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 2001. p.97-108.

NILSON, A.; PIZA, J. Food fortification: A tool for fighting hidden hunger. **Food and Nutrition Bulletin**, v.19, n.1, p.:49-60, 1998.

NÓBREGA, F.J. **Distúrbios da Nutrição**. São Paulo: Revinter, 1998.624p.

NOCEK, J.E; SOCHA, M.T.; TOMLINSON, D.J. The effect of trace mineral fortification level and source on performance of dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.89, n.1, p.2679-2693, 2006.

PAIVA, A.; RONDÓ, P.H.C.; GUERRA-SHINOHARA, E.M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Revista Saúde Pública**, v.34, n.4, p.421-6, 2000.

PÉREZ-EXPÓSITO, A. B.; VILLALPANDO, S.; RIVERA, J.; GRIFFIN, I.; ABRAMS, S. Ferrous Sulfate Is More Bioavailable among Preschoolers than Other Forms of Iron in a Milk-Based Weaning Food Distributed by PROGRESA, a National Program in Mexico. **Journal of Nutrition**,v.135, n. p.64 - 69.2005

RAMALHO, R.A.; SAUNDERS, C. Vitamina A: aspectos fisiopatológicos, diagnóstico e medidas de intervenção. **Revista Metabolismo Nutrição**, v.7, n. 1, p.10-19, 2003.

ROSADO, J.L. Zinc and Copper: Proposed Fortification Levels and Recommended Zinc Compounds. **Journal of Nutrition**, v. 133, suppl, p. 2985S–2989S, 2003.

ROSANELI, C.F.; BIGHETTI, A.E.; ANTÔNIO, M.A.; CARVALHO, J.E.; SGARBIERI, V.C. Efficacy of a whey protein concentrate on the inhibition of stomach ulcerative lesions caused by ethanol ingestion. **Journal of Medicinal Food**, v.5, n.4, p.221-228, 2002.

SAKON, P. O.R. **Qualidade protéica e biodisponibilidade de ferro de suplemento alimentar desenvolvido para a terceira idade**. [Dissertação. Mestrado]. Universidade Federal de Viçosa, 2008.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Revisão: Alimentos Funcionais Fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology** v. 2, n. 2, p.7-19, 1999.

SGARBIERI, V.C. Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.1, p. 43-56, 2005

SGARBIERI, V.C. Propriedades fisiológicas funcionais das proteínas do leite. **Revista de Nutrição, Campinas**, v.17, n. 4, p.:397-409, 2004

SHOLS-AHRENZ, K.E.; SCHAAFSMA, G; VAN den HEUVEL, E.G.; SCHREZENMEIR, J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p.459S–64S, 2001.

SILVA, D. G. Anemia ferropriva em crianças de 6 a 12 meses atendidas na rede pública de saúde do município de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Nutrição**, v.15, n.3, p.301-308, 2002.

SILVA, M.R. **Efeito de *Lactobacillus acidophilus* na biodisponibilidade de ferro – estudo em ratos e pré-escolares.** [Tese. Doutorado]. Viçosa, UFV, 2003. 115p.

SILVA, M.R.; CASTRO, T.G.; COSTA, N.M.B.; FERREIRA, C.L.L.F.; FRANCESCHINI, S.C.C.; LEAL, P.F.G.; REIS, F.P. Efeito de uma bebida Láctea fermentada e fortificada com ferro sobre o estado nutricional de ferro em pré-escolares. Viçosa-MG. **NUTRIRE: Revista Sociedade Brasileira Alimentação Nutrição**, v.23, p.23-32, 2002.

SOEWONDO, S. HUSANI, M.A, POLLITT, E. Effects of iron deficiency on attention and learning processes in pré-school children. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.50, p. 667-74. 1989

TANUMIHARDJO, S. A. Asseing Vitamin A Status, Past, Present and Future. **The Journal of Nutrition**, suppl, p. 290-293, 2004.

TAULIER, N.; CHALIKIAN, T. Characterization of pH-induced transtitions of β -LG: ultrasonic, densitometric, and spectroscopy studies. **Journal of Molecular Biology.**, v.14, p.873-889, 2001

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** vol. 41, n. 03, 2005.

TUDISCO, E.S. O papel da dieta na profilaxia da anemia ferropriva. **Boletim Revista da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.10, n. 149, p.129-133, 1988

UMBELINO, D.C.; CARDELLO, H.M.A.B.; ROSSI, E.A.R. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do "iogurte" de soja. **Archivos Latinoamericano Nutricion**, v.51, n.2, p.199-203, 2001.

UNICEF, **Eliminating Vitamin A deficiency** Archana Dwivedi, UNICEF Project Officer, Maternal Nutrition. Disponível em http://www.unicef.org/nutrition/23963_vitaminadeficiency.html (Acessado em Setembro, 2005).

URGELL, M. R.; et al.. La importancia de los ingredientes funcionales en las leches y cereales infantiles. **Nutrición Hospitalaria** v. 20, n. 2, p. 135-146, 2005.

USDA. United States Department of Agriculture. **Nutritional Database for Standard Reference, Release 22** (2009). Disponível em http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl (acessado em 09 de setembro de 2010).

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Assessing the iron status of populations**. Geneva, World Health Organization, 2007. 112p.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005**. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency. Geneva, World Health Organization, 2009. 68p.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programs**. Geneva: WHO; 1996. 66p.

WHO - World Health Organization. **Iron deficiency anaemia: assessment, prevention, and control**. A guide for programme managers. Geneva, World Health Organization, 2001. 114p.

WHO - World Health Organization. **Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005** : WHO global database on anaemia. Geneva, World Health Organization, 2008. 51p.

WIT, J.N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.597-608, 1998.

YBARRA, L.M.; COSTA, N.M.B.; FERREIRA, C.L.L. Interação calico e ferro: uma revisão. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 22, p. 85-107, 2001

ZINSLY, P.F, et al. Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, p.1-8, 2001.

CAPÍTULO 2

Artigo original 1

BIODISPONIBILIDADE DE FERRO DE SUPLEMENTO ALIMENTAR A BASE DE SORO DE LEITE EM RATOS

1- INTRODUÇÃO

A anemia afeta cerca de 25% da população mundial, principalmente em países em desenvolvimento e, em 50% dos casos é devido à deficiência de ferro (FABIAN et al., 2007; WHO, 2008). A anemia ferropriva tem sido combatida por meio de medidas preventivas e curativas baseadas na administração de sais de ferro como suplemento medicamentoso e/ou fortificação de alimentos de largo consumo popular, estratégia já utilizada por vários países, inclusive o Brasil (HUMA et al., 2007; BRASIL, 2007; BRASIL, 2008).

A fortificação de alimentos pode produzir resultados equivalentes à suplementação medicamentosa, com menor relação custo/benefício por indivíduo (HURREL, 1997; NILSON ; PIZA, 1998; HORTON, 2006).

Dentre os compostos utilizados para a fortificação de alimentos, o fumarato ferroso e o ferro aminoácido quelato têm mostrado ser tão bem absorvidos quanto o sulfato ferroso e não causam mudanças de cor e sabor nos alimentos (UMBELINO *et al.*, 2001; HURREL, 2002). O fumarato ferroso é um composto ligeiramente solúvel em água, mas altamente

solúvel em soluções ácidas diluídas e no suco gástrico, indicando que este sal apresenta alta biodisponibilidade (HURREL, 2002; BOCCIO; IYENGAR, 2003).

Portanto, considerando que a fortificação e a suplementação alimentar constituem alternativas eficazes e viáveis para o combate à anemia ferropriva em grupos vulneráveis da população, o presente trabalho visou avaliar, em animais, a biodisponibilidade de ferro de um suplemento alimentar destinado a crianças em idade pré-escolar.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Suplemento alimentar

O suplemento alimentar foi produzido por uma empresa de alimentos vinculada à Universidade Federal de Viçosa. A composição baseou-se em suplemento alimentar desenvolvido anteriormente por SILVA e colaboradores (2008), com algumas modificações, como utilização de ingredientes em pó e adição de prebiótico (inulina).

O suplemento (Tabela 1) possui em sua composição soro e concentrado protéico de soro de leite em pó, leite em pó, sacarose, maltodextrina, mix de vitaminas (retinol e ácido ascórbico) e minerais (fumarato ferroso, sulfato de zinco e cobre), inulina, cacau em pó e aroma de chocolate.

Tabela 1: Composição do suplemento alimentar

Componentes	%
Maltodextrina (Corn Products)	20,0
Soro de Leite (Laticínios Morrinhos)	10,0
Concentrado Protéico de Soro de Leite (Doremus Alimentos)	15,0
Leite em Pó Integral (Montelac Alimentos)	18,0
Sacarose (Alvinho)	19,0
Mix de Vitaminas (A e C) e Minerais (Fe, Zn e Cu) (M.Cassab)	6,0
Inulina (Orafti)	10,0
Aroma de Chocolate (Lapiendrius Flavors)	0,5
Cacau em Pó (Lapiendrius Flavors)	1,5
Total	100,0

2.2. Animais

Foram utilizados 48 ratos machos jovens (*Rattus norvegicus* variedade albinus) da linhagem Wistar, recém-desmamados, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal de Viçosa, com peso inicial médio de 55,86 g.

2.3. Dietas experimentais

As dietas foram preparadas de acordo com as necessidades nutricionais dos animais, conforme composição da dieta AIN-93G, segundo REEVES et al. (1993).

A composição das dietas está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Composição das dietas (g/kg mistura) por grupos experimentais

Componetes/concentração	Fase de depleção	Fase de repleção					
	AIN-93G	Sulfato ferroso			Suplemento alimentar		
		6 mg/kg	12 mg/kg	24 mg/kg	6 mg/kg	12 mg/kg	24 mg/kg
FeSO ₄ (mg)	-	74,46	148,92	297,84	-	-	-
Albumina (Nutryclin Alimentos®)	200	500	500	500	449,73	399,45	298,91
Maltodextrina (Nutryclin Alimentos®)	132	330	330	330	330	330	330
Sacarose (Açúcar União®)	100	250	250	250	250	250	250
Óleo de soja ABC	70	175	175	175	159,96	144,91	114,81
Fibra (celulose microfina) (Synth)	50,0	125	125	125	125	125	125
Mistura de minerais sem ferro (*)	35,0	87,5	87,5	87,5	87,5	87,5	87,5
Mistura de vitaminas (Rhoster®)	10,0	25	25	25	25	25	25
L cistina (Rhoster®)	3,0	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Bitartarato de Colina (Rhoster®)	2,5	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25
Amido de milho (Pink Alimentos)	132	993,67	993,6	993,45	825,78	657,83	321,91
Suplemento alimentar (Nutryclin Alimentos®)	-	-	-	-	233,28	466,56	933,12

* Preparada no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde da UFV-MG-Brasil.

2.4. Delineamento experimental

O método utilizado para a avaliação da biodisponibilidade foi o de depleção/repleção de hemoglobina, segundo a técnica da AOAC (1998), adaptado para 21 dias a depleção. No período de depleção, os animais foram alimentados com dieta AIN-93G (REEVES et al, 1993) sem adição de ferro à mistura de minerais, com o objetivo de induzir a deficiência de ferro. Os animais receberam água deionizada e dieta *ad libitum* durante esta fase.

Ao final do período, amostras de sangue foram coletadas por incisão da cauda dos animais para determinação da concentração de hemoglobina. A determinação dos níveis de hemoglobina foi feita pelo método da cianometahemoglobina (AOAC, 1984), utilizando-se o kit para diagnóstico colorimétrico “in vitro” da ANALISA DIAGNOSTICA LTDA. Após secção da porção terminal da cauda de cada animal, o sangue foi gotejado em placa de vidro e imediatamente coletado com micropipeta. Uma alíquota de 20 µL de sangue foi misturada com 5 mL de solução de cianeto e ferricianeto de potássio (solução Drabkin). Neste método, o íon ferroso (Fe^{+2}) da hemoglobina é oxidado para o estado férrico (Fe^{+3}) pelo ferricianeto de potássio, formando a metahemoglobina, que se combina com o cianeto de potássio, formando cianeto de metahemoglobina, cuja intensidade de cor foi medida a 540 nm em espectrofotômetro SHIMADZU, UV-1601.

No período de repleção (14 dias), foram constituídos seis grupos de oito ratos cada, distribuídos de forma que as médias da concentração de hemoglobina fossem as mais próximas possíveis entre os grupos. Na dieta foram fornecidos aos animais 6, 12 ou 24 mg/kg de ferro provenientes do produto teste (suplemento alimentar) ou de sulfato ferroso (dieta controle).

Cada animal recebeu uma quantidade controlada de dieta (16 g/dia) e água deionizada *ad libitum*. Ao final da fase de repleção, amostras de

sangue foram coletadas por incisão da cauda dos animais para nova determinação da concentração de hemoglobina.

Para cálculo da concentração de hemoglobina das amostras de sangue foi utilizado como referência, o valor de leitura da absorbância de uma solução padrão de hemoglobina de concentração correspondente a 11,4 g/dL (QUIMICA BÁSICA, Belo Horizonte, MG).

A Eficiência na Regeneração de Hemoglobina (HRE) foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{HRE (\%)} = [100 \times (\text{mg Fe da Hb final} - \text{mg Fe Hb inicial})] / \text{Fe consumido}$$

sendo:

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

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

Nesta equação considera-se que o volume do sangue corresponde a 6,7% do peso corporal do animal; e o conteúdo de ferro da hemoglobina é 0,335 (HARO-VICENTE *et al.*, 2008). O consumo de ferro (Fe) foi calculado considerando-se a quantidade total de dieta consumida e o conteúdo de ferro dessa dieta, sendo calculado para cada animal, segundo a fórmula abaixo:

$$\text{Consumo de Fe} = \frac{\text{Consumo de dieta total na fase 2} \times \text{Ferro da dieta (mg/1000g)}}{1000}$$

Durante o período experimental, foram monitorados o peso corporal e o consumo alimentar para determinação do coeficiente de eficiência alimentar (CEA), calculado pela razão entre o ganho de peso do animal (g) e o consumo alimentar (g).

O Valor Relativo de Biodisponibilidade (RBV) do suplemento foi calculado considerando o padrão (dieta controle com sulfato ferroso) com biodisponibilidade igual a 100%.

2.5. Análise Estatística

Para determinar se houve diferença entre os grupos quanto ao ganho de peso, coeficiente de eficiência alimentar e ganho de hemoglobina foram realizados análise de variância e teste de comparação de Tukey utilizando-se o software Sigma, v. 2.0, adotando-se nível de significância de 5%. Para analisar o comportamento da variação da concentração de hemoglobina em relação à concentração de ferro nas dietas usou-se análise de regressão linear (Microsoft Excel, 2000)

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ganho de peso e o consumo alimentar dos animais e o coeficiente de eficiência alimentar da dieta consumida no período de depleção não apresentaram diferenças entre os animais.

Na fase de repleção (Tabela 3), no entanto, houve diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao ganho de peso e CEA. O ganho de peso e o CEA do grupo do suplemento com 12 mg/kg de ferro foram estatisticamente superiores ao ganho de peso e CEA dos grupos de sulfato ferroso com 6 mg/kg ($p = 0,005$ e $p = 0,03$, respectivamente) e 12 mg/kg ($p = 0,002$ e $p = 0,02$, respectivamente), bem como do suplemento com 6 mg/kg ($p = 0,009$ e $p = 0,02$, respectivamente). Também observou-se diferença significativa entre o ganho de peso do grupo sulfato ferroso 12 mg/kg com o grupo sulfato ferroso 24 mg/kg ($p = 0,013$).

Tabela 3- Ganho de peso, consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar dos grupos experimentais no período de repleção (média ± desvio-padrão).

Grupo Experimental	Ganho de peso (g)	p	Consumo alimentar (g)	p	Coeficiente de eficiência alimentar (CEA)	p
Sulfato ferroso 6 mg/kg	40,87 ± 13,33		203,26 ± 16,60 ^a		0,20 ± 0,06 ^a	
Sulfato ferroso 12 mg/kg	38,42 ± 9,43	0,05	199,41 ± 18,45 ^a	0,09	0,19 ± 0,06 ^a	0,28
Sulfato ferroso 24 mg/kg	51,75 ± 8,48		216,97 ± 11,35 ^a		0,24 ± 0,05 ^a	
Prebinho 6 mg/kg	45,00 ± 10,64		207,84 ± 23,79 ^a		0,21 ± 0,04	
Prebinho 12 mg/kg	60,85 ± 7,15	0,01	214,56 ± 8,04 ^a	0,79	0,28 ± 0,03	0,02
Prebinho 24 mg/kg	55,85 ± 8,31		209,55 ± 21,69 ^a		0,27 ± 0,05	

Sulfato ferroso x prebinho: Ganho de peso: p=0,33; consumo alimentar: p=0,38; CEA: p=0,92.

Tabela 4- Consumo de ferro, Ganho de hemoglobina (GHb), ganho de hemoglobina (GHb) por miligrama de Ferro consumido e eficiência na regeneração de hemoglobina (HRE) na fase de repleção (média ± desvio-padrão).

Grupo Experimental	Consumo de ferro (mg)	Ganho de Hemoglobina GHb (g/dL)	Ganho de hemoglobina (GHb)/ mg de Fe consumido	HER
Sulfato ferroso 6 mg/kg	1,22 ± 0,09 ^a	0,43 ± 0,83 ^a	0,35 ± 0,64 ^a	61,25 ± 19,97 ^a
Sulfato ferroso 12 mg/kg	2,39 ± 0,22 ^b	1,26 ± 1,28 ^a	0,50 ± 0,51 ^a	44,01 ± 13,75 ^a
Sulfato ferroso 24 mg/kg	5,21 ± 0,27 ^c	2,83 ± 0,91 ^b	0,54 ± 0,16 ^a	37,34 ± 5,78 ^b
Prebinho 6 mg/kg	1,24 ± 0,14 ^a	0,73 ± 1,17 ^a	0,55 ± 0,88 ^a	68,77 ± 42,66 ^a
Prebinho 12 mg/kg	2,57 ± 0,09 ^b	1,19 ± 0,80 ^a	0,47 ± 0,33 ^a	51,90 ± 15,25 ^a
Prebinho 24 mg/kg	5,03 ± 0,52 ^c	2,51 ± 0,67 ^b	0,51 ± 0,16 ^a	37,81 ± 10,09 ^a

OBS: Letras iguais entre os grupos, por coluna: não há diferença estatística ($p \geq 0,05$); letras diferentes, há significância estatística ($p < 0,05$) pelo teste de comparação de Tukey.

Na Tabela 4, apresenta-se a variação na concentração de hemoglobina nos diferentes grupos experimentais. Houve diferenças significantes entre os níveis de ferro dos grupos, tanto para o sulfato ferroso quanto para o prebinho. Porém, as diferenças entre o grupo controle (sulfato ferroso) e o grupo teste (prebinho), considerando o mesmo nível de ferro (24 mg/kg), não foi significativa. Para os demais níveis, isto é, 6 e 12 mg/kg de ferro, não foi realizado o teste de Tukey devido ausência de diferença significativa entre duas médias que justificasse a comparação.

Foram realizadas análises de correlação para verificar associações entre consumo de ferro, ganho de hemoglobina, ganho de hemoglobina por grama de ferro consumido e HRE. Houve correlação positiva significativa entre ganho de hemoglobina por grama de ferro consumido e HRE nos grupos do suplemento com 6 mg/kg de ferro ($r=0,99$, $p<0,001$), 12 mg/kg ($r=0,94$, $p<0,05$) e 24 mg/kg ($r = 0,91$; $p < 0,05$), e ganho de hemoglobina e HRE nos grupos do suplemento com 6 mg/kg de ferro ($r=0,99$, $p<0,001$), 12 mg/kg ($r=0,94$, $p<0,05$) e 24 mg/kg ($r = 0,79$; $p < 0,05$), estando, estes dados, de acordo com a literatura (HARO-VICENTE *et al.*, 2009). Estes dois índices são aplicáveis para estudos em que não se consegue controlar o consumo alimentar de ferro, pois leva em consideração a quantidade de ferro consumida para avaliar o ganho de hemoglobina (HARO-VICENTE *et al.*, 2009).

A Figura 1 apresenta o ganho de hemoglobina (Hb) no período de repleção. As equações derivadas da regressão foram:

$$\text{Sulfato ferroso: } Y = 0,1324[\text{Fe}] - 0,3486, R^2 = 0,5330$$

$$\text{Prebinho: } Y = 0,1007[\text{Fe}] + 0,0671, R^2 = 0,4450$$

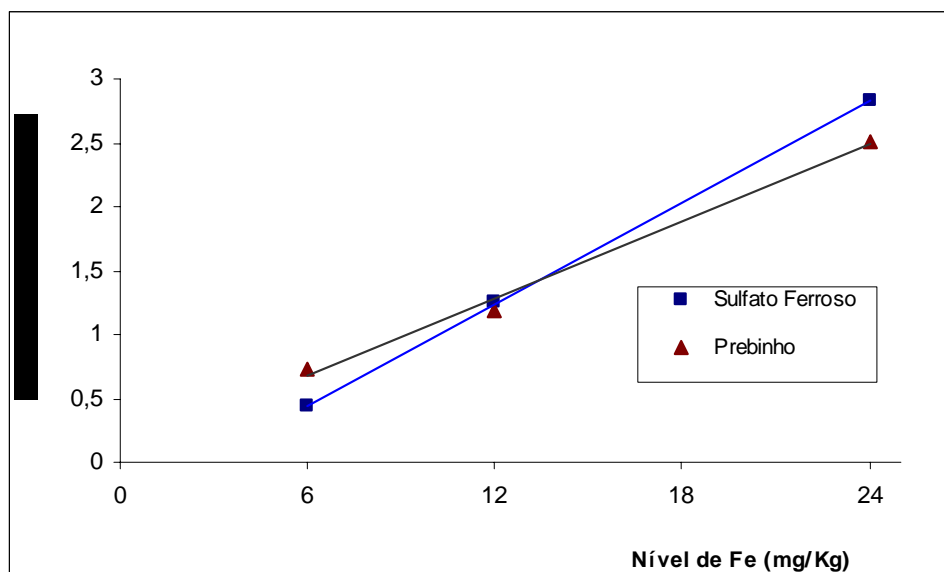


Figura 1- Ganho de hemoglobina no período de repleção (g/dL).

A partir das equações foi obtido o Valor Relativo de Biodisponibilidade (VRB) do suplemento, dividindo a inclinação da sua reta pela do sulfato ferroso. O valor encontrado foi de 76%, ou seja, o suplemento fortificado apresentou boa biodisponibilidade de ferro sendo, portanto, promissor na melhoria do estado nutricional.

Como a biodisponibilidade relativa deste mineral na dieta à base do suplemento foi boa, isso pode ser um fator que proporcionou ganho de peso nos grupos com maior concentração de ferro. O ferro é um mineral responsável por uma série de reações enzimáticas que contribuem para a síntese de protéica e crescimento celular (YBARRA et al., 2001). Observou-se diferença entre o grupo do suplemento 12 mg/kg com o sulfato ferroso 12 mg/kg, ou seja, com a mesma concentração de ferro, o que pode ser justificado pela qualidade protéica do soro de leite, bem como pela adição de outros minerais responsáveis pelo crescimento e ganho de peso no suplemento, como o zinco, que auxilia no paladar e melhora o apetite e é co-fator para muitas enzimas responsáveis pelo crescimento (BOAVENTURA et al., 2003), além do fato de o produto apresentar uma distribuição adequada de energia para suprir as necessidades do animal.

Comparando o grupo do suplemento fortificado com fumarato ferroso com o grupo do sulfato ferroso, não houve diferenças entre eles para o ganho de hemoglobina, considerando a mesma concentração de ferro. Assim, o fumarato ferroso foi tão bom quanto o sulfato ferroso na melhoria do estado nutricional de ferro, estando de acordo com a literatura. Navas-Carretero e colaboradores (2007), em estudo experimental com ratos, também verificaram ganhos satisfatórios nas concentrações de hemoglobina e capacidade de ligação ao ferro em animais que receberam cacau em pó fortificado com ferro na forma de fumarato ferroso. Segundo Lynch (2005), cereais fortificados com fumarato ferroso apresentaram RBV de 95% em estudos com ratos e 100% em humanos.

No presente estudo, o valor relativo de biodisponibilidade de 76% pode ser justificado pela composição do suplemento que, por conter leite e, conseqüentemente cálcio, pode ter contribuído para uma possível interação entre os minerais, comprometendo, de certa forma, a biodisponibilidade de ferro. Por outro lado, merece destacar também a presença de outros nutrientes que melhoram a biodisponibilidade do ferro, como as vitaminas A e C (HURREL and EGLI, 2010).

A fortificação de alimentos com ferro deve ser cuidadosamente avaliada não apenas sob o aspecto da biodisponibilidade, mas, também, sensorial, visto que alterações sensoriais são comuns quando o ferro é adicionado aos alimentos. Compostos de ferro com alta biodisponibilidade, como sulfato e gluconato ferroso causam mudanças de cor e sabor em diversos veículos alimentares. Por isso, compostos de ferro alternativos têm sido propostos e, dentre eles, o fumarato ferroso tem mostrado ser tão bem absorvidos quanto o sulfato ferroso e não causa mudanças de cor e sabor nos alimentos (UMBELINO *et al.*, 2001; HURREL, 2002). O fumarato ferroso é um composto ligeiramente solúvel em água, mas altamente solúvel em soluções ácidas diluídas e no suco gástrico, indicando que este sal apresenta alta biodisponibilidade (HURREL, 2002; BOCCIO; IYENGAR, 2003). Além da biodisponibilidade e propriedades sensoriais, é

importante considerar o custo do composto a ser utilizado na fortificação ou suplementação com ferro. De acordo com Hurrell (2002), o fumarato ferroso apresenta um custo relativo ao sulfato ferroso de 1,3, ou seja, 30% maior, mas com a vantagem de causar menos alterações organolépticas no produto final.

4. CONCLUSÃO

Em ratos, o suplemento alimentar à base de soro de leite, enriquecido com ferro, vitamina A, ácido ascórbico, cobre, zinco e prebiótico apresentou alta biodisponibilidade de ferro, correspondente a 76% em relação ao sulfato ferroso.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International. 14. ed.** Maryland, 1984.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International. 16. ed.** Maryland, 1998.

BOAVENTURA, GT; SILVA, R.H.L; TOSTES, L.F; AZEREDO, V.B. . Ganho de peso, hemoglobina e hematócrito de ratos recebendo dieta de Quissamã, RJ, com ou sem suplemento alimentar alternativo. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, 2003.

BOCCIO JR, IYENGAR V. Iron deficiency - Causes, consequences, and strategies to overcome this nutritional problem. **Biological Trace Element Research**, v.94, p.1-32, 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico Sobre A Ingestão Diária Recomendada (IDR) De Proteína, Vitaminas E Minerais".** Diário Oficial da União, 23 de setembro de 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Carência por micronutriente.** Caderno de Atenção à Saúde, n.20. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 60p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição.** 2ª ed. revista. Brasília, Ministério da Saúde, 2008. 48p.

FABIAN, C; OLINTO, M.T; DIAS-DA-COSTA, J.S; BAIROS, F; NÁCUL, L.C. Prevalência de anemia e fatores associados em mulheres adultas residentes em São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 5, p. 1199-1205, mai, 2007.

HARO-VICENTE, J. F.; REZ-CONESA, D.; BRAQUEH, F.R.; ROS, G. Iron absorption and haemoglobin status of rats fed a ferrous bisglycinate-fortified growing-up milk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.89, p.2107-2114, 2009.

HARO-VICENTE, J.; PÉREZ-CONESA, D.; RINCÓN, F.; ROS, G.; MARTÍNEZ-GRACIÁ, C.; VIDAL, M. Does ascorbic acid supplementation affect iron bioavailability in rats fed micronized dispersible ferric pyrophosphate fortified fruit juice? **European Journal of Nutrition**, v.47, n.8, p.470-478, 2008.

HORTON, S. The Economics of Food Fortification. **Journal of Nutrition**. 136: 1068–1071, 2006.

HURREL R.F. How to Ensure Adequate Iron Absorption from Iron-fortified food . **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 7, p.7–15, 2002. Supplement 2.

HURRELL, R.F. Preventing iron deficiency through food fortification. **Nutrition Reviews**, v.55, n.6, p.210-222, 1997.

HURRELL, R.; EGLI, I. Iron bioavailability and dietary reference values. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p.:1461S-1467S, 2010.

IOM - Institute of Medicine. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.

IOM - Institute of Medicine. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.

LYNCH, S.R. The impact of iron fortification on nutritional anaemia. **Best Practice & Research Clinical Haematology**. 2005; 18(2):333-46.

MACPHAIL, A.P. Deficiencia de hierro y el mundo en desarrollo. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, 51:2S-6S, 2001.

NAVAS-CARRETERO, S. SARRIÁ, B; PÉREZ-GRANADOS, A.M; SCHOPPEN, S; IZQUIERDO-PULIDO, M; VAQUERO, M.P. A Comparative Study of Iron Bioavailability from Cocoa Supplemented with Ferric Pyrophosphate or Ferrous Fumarate in Rats. 1: **Annals of Nutrition & Metabolism**. 18, v. 51, n. 3, p. 204-207, 2007.

NILSON, A.; PIZA, J. Food fortification: A tool for fighting hidden hunger. **Food and Nutrition Bulletin**., v.19, n.1, p.:49-60, 1998.

PIZARRO, F; OLIVARES, M; HERTRAMPF, E; MAZARIEGOS, D.I; ARREDONDO, M; LETELIER, A; GIDI, V. Iron bis-glycine chelate competes for the nonheme-iron absorption pathway. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.76, p.:577-581, 2002.

REEVES, P.G; NIELSEN, F.H; FAHEY, G.C. Jr. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Comitee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **Journal of Nutrition.**, v.123, p.1939-1951, 1993.

RUSIG, O. Enriquecimento de leite e derivados. In: **SEMINÁRIO BRASILEIRO DE ALIMENTOS ENRIQUECIDOS**, 1994. Campinas. Resumos. Campinas: ITAL, UNICAMP, p.38-46, 1994.

UMBELINO DC, CARDELLO HMAB, ROSSI EAR. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do "iogurte" de soja. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, v.51, n.2, p.199-203, 2001.

VANNUCCHI, H.; FREITAS, M.L.S.; SZARFAC, S.C. A prevalência de anemias nutricionais no Brasil. **Cadernos Nutrição**, 4:7-26, 1992.

WHO - World Health Organization. **Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005 : WHO global database on anaemia**. Geneva, World Health Organization, 2008. 51p.

CAPÍTULO 3

Artigo original 2

EFICÁCIA DE UM SUPLEMENTO À BASE DE SORO DE LEITE E ADICIONADO DE PREBIÓTICO NO ESTADO NUTRICIONAL DE FERRO E VITAMINA A EM PRÉ-ESCOLARES

1. INTRODUÇÃO

A anemia e a deficiência de vitamina A são as carências nutricionais mais relevantes no Brasil e no mundo devido as suas elevadas prevalências e impacto na saúde pública (WHO, 2009). Em Viçosa, entre as crianças de 12 a 60 meses a prevalência de anemia e de anemia grave é de 63,2% e 43,5%, respectivamente (MIRANDA et al., 2003). Em duas creches municipais de Viçosa, Silva (2000) encontrou prevalências de anemia de 25,0% entre crianças de 24 a 35 meses, 17,2% na faixa etária de 36 a 47 meses, 7,8% nas crianças com 48 a 59 meses e 5,5% naquelas com idade entre 60 e 72 meses. Em média, a autora encontrou prevalência de 11,2 % de anemia. Já a prevalência de deficiência de vitamina A encontrada por Magalhães e colaboradores (2001) em pré-escolares de Viçosa foi de 15%.

A extensão e a magnitude de deficiências nutricionais, como as de ferro e vitamina A, são graves e, portanto, intervenções específicas que

resultem em impacto positivo na saúde das populações, tornam-se imprescindíveis.

Neste contexto, são prioritárias alternativas que visem o combate à carência de ferro e vitamina A e que melhor se adaptem às condições de cada região. Dentre estas, uma das estratégias mais adequada e recomendada é a fortificação de alimentos com ferro e vitamina A, direcionada, particularmente, aos grupos suscetíveis (IOST et al., 1998; PIZARRO et al., 2002; BRASIL, 2007).

A utilização do soro de leite como veículo da fortificação desses nutrientes agrega valor nutricional e de mercado a esse resíduo da indústria de laticínios, além de reduzir os problemas ambientais gerados pelo seu descarte nos mananciais (RICHARDS, 2002).

A adição de prebiótico ao produto agrega um valor funcional ao alimento, dado os seus efeitos benéficos já comprovados na literatura científica, especialmente quanto ao aumento da biodisponibilidade de minerais (SHOLS-AHRENZ et al., 2001).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia de um produto à base de soro de leite, fortificado com ferro, zinco, cobre e vitaminas A e C e adicionado de prebiótico, na melhoria do estado nutricional de pré-escolares.

2.2. Objetivos Específicos:

- Avaliar as medidas antropométricas (peso e altura) dos pré-escolares antes e após a intervenção com um produto em pó fortificado com ferro, zinco e vitaminas A e C adicionado de prebiótico.
- Avaliar o estado nutricional relativo ao ferro e à vitamina A dos pré-escolares antes e após a intervenção.

- Avaliar o consumo alimentar dos pré-escolares antes, durante e após a intervenção.

3. CASUÍSTICA E METODOLOGIA

3.1. População de estudo

O estudo foi realizado em quatro creches municipais de Viçosa, MG, onde foram recrutadas crianças em idade pré-escolar cujos índices de hemoglobina (Hb) eram iguais ou superiores a 11,0 g/dL. Foram excluídas do estudo as crianças diagnosticadas com anemia ferropriva (Hb < 11 g/dL), que foram encaminhadas ao médico competente da Secretaria de Saúde do município, bem como aquelas em uso de sulfato ferroso.

As crianças foram submetidas a avaliações antropométricas, exames laboratoriais e avaliações dietéticas, no início e ao final do período de 2 meses, correspondente a 45 dias de intervenção, caracterizando, assim, um estudo longitudinal.

O suplemento foi servido diariamente, diluído em água, de segunda a sexta-feira. A porção servida foi de 30 g e fornecia 30% das doses diárias recomendadas de ferro, zinco, cobre, vitamina A e vitamina C para as crianças.

3.2. Avaliação antropométrica

Foram adotadas as técnicas de Jelliffe (1966) para a obtenção do peso e estatura. Para a medida do peso utilizou-se balança portátil, digital, eletrônica, com capacidade de 150 kg e sensibilidade de 50 g, da marca Kratos, Embu, SP. As medidas de altura foram feitas por estadiômetro com extensão de 2 metros, dividido em cm e subdividido em mm, da marca Alturaexata, Belo Horizonte, MG.

Os índices peso para idade (P/I), peso para estatura (P/E) e estatura para idade (E/I) e Índice de Massa corporal para idade (IMC) foram utilizados como critério diagnóstico a partir do cálculo do escore-z, adotando-se como referência antropométrica a preconizada pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2006).

Foram classificadas como de peso baixo as crianças cujos índices P/I e P/E se encontravam abaixo de -2 escore-z; foram consideradas como sendo de peso adequado as crianças cujos índices P/I e P/E se encontravam entre -2 e $+2$ escore-z, e com peso elevado aquelas com P/E igual ou superior a $+2$ escore-z. As crianças que apresentaram o índice E/I abaixo de -2 escore-z foram classificadas como “baixa estatura”. Quanto ao IMC, a classificação adotada foi baixo IMC para idade ($IMC < \text{escore-z } -2$), eutrofia ($IMC \geq \text{escore-z } -2$ e $< \text{escore-z } +1$), sobrepeso ($IMC \geq \text{escore-z } +1$ e $< \text{escore-z } +2$) e obesidade ($IMC \geq \text{escore-z } +2$) (BRASIL, 2008).

3.3. Exames laboratoriais

Os exames laboratoriais também foram realizados no início e ao término do período de estudo. A coleta de sangue das crianças foi realizada por um profissional do laboratório de análises clínicas da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Amostras de aproximadamente 6 mL de sangue foram colhidas em seringas descartáveis, por punção venosa. Cerca de 3 mL da amostra colhida foram transferidos para um tubo com anticoagulante etilenodiaminotetracético (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, e determinação dos níveis de ferritina, ferro sérico e retinol.

O eritrograma foi feito no aparelho Coulter T-890, pelo método de contagem por impedância. O ferro sérico foi determinado por método químico Goodwin modificado (ferrozine) no equipamento Cobas Mira Plus,

utilizando-se *kit* Bioclin (Quibasa, Belo Horizonte, MG). A ferritina também foi avaliada no Cobas Mira Plus com o *kit* da Bioclin pelo método de imunoturbidimetria. Estas análises foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas da Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

A dosagem de retinol sérico foi realizada no Laboratório de Análise de Vitamina do Departamento de Nutrição e Saúde da referida instituição, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em sistema Shimadzu (modelo LC-10VP), baseando-se na metodologia utilizada por NETTO (2005). A preparação e análise da amostra incluíram os seguintes passos: 1) 250 μ L de soro foram adicionados a 250 μ L de acetato de retinil (padrão interno) e agitados vigorosamente por 2 minutos; 2) em seguida, adicionou-se 250 μ L de hexano e agitou-se novamente por mais 2 minutos; 3) procedeu-se, então, à centrifugação por 15 minutos a 1041,04 x g, em microcentrífuga para eppendorf (modelo 5415D); 4) 200 μ L da camada superior foram removidos para outro tubo eppendorf; 5) a amostra foi evaporada em gás nitrogênio por aproximadamente 6 minutos; 6) diluiu-se o resíduo em 250 μ L de metanol:água ultra pura (95:5, v/v) e filtrou-se a amostra através de unidades filtrantes; 7) alíquotas de 50 μ L foram injetadas na coluna cromatográfica para análise por CLAE.

As condições cromatográficas utilizadas foram: fase móvel com metanol e água ultra pura (95:5, v/v), fluxo de 1,5 mL/min; coluna Phenomenex C-18, 5 μ m, 150 mm x 4 mm; detecção por fluorescência (detector de fluorescência modelo RF-10AXL; 325 nm de excitação e 465 nm de emissão). O tempo de corrida foi de 12 minutos. O Software “Multi System” modelo Class VP 6.2 foi utilizado para análise e interpretação das corridas cromatográficas. A avaliação qualitativa foi feita baseada na comparação entre os tempos de retenção encontrados nas amostras e nos padrões, analisados sob as mesmas condições. Para análise quantitativa, o cálculo da concentração do retinol plasmático foi feito utilizando-se a

equação de regressão obtida com a construção da curva padrão (NETTO, 2005).

A classificação do nível de retinol sérico foi realizada com base nos pontos de corte propostos pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1996), conforme Tabela 1.

Tabela 1: Pontos de corte para a interpretação dos níveis de retinol sérico propostos pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1996)

Categoria	Nível de retinol sérico	
	µg/dL	µmol/mL
Carência grave	< 10	< 0,35
Carência marginal moderada	10 – 20	0,35 - 0,70
Grupos em “risco”	20 - 30	0,70 - 1,05

3.4. Avaliação dietética

Para a avaliação dietética utilizou-se uma associação entre o método de pesagem direta dos alimentos, realizado nas creches em dois dias da semana e complementado por um recordatório de 24 horas junto aos responsáveis que deixavam as crianças nas instituições, com o objetivo de avaliar as refeições feitas em casa antes e após o período de permanência na escola. Para a pesagem de alimentos utilizou-se balança digital portátil com capacidade de 2 kg e sensibilidade de 0,1 g, da marca Plenna, modelo *Precision*, São Paulo, SP. Os dados obtidos subsidiaram o cálculo da quantidade ingerida de cada alimento por criança, e foram somados aos do recordatório de 24 horas.

Além disso, os responsáveis pelas crianças foram orientados a registrar o consumo de alimentos em um dia do final de semana, uma vez que o funcionamento das creches é de 2ª a 6ª feira.

As análises e cálculos das dietas foram feitos com o auxílio do “software” DIETPRO, versão 5.1 (AS Sistema, Viçosa, MG).

3.5. O suplemento alimentar

O suplemento alimentar (Figura 1) foi produzido por uma empresa de alimentos (Nutriclyn Alimentos, Viçosa, MG) vinculada à Universidade Federal de Viçosa. A composição baseou-se em suplemento alimentar desenvolvido anteriormente por Silva e colaboradores (2008), com algumas modificações, como utilização de ingredientes em pó e adição de prebiótico (inulina).

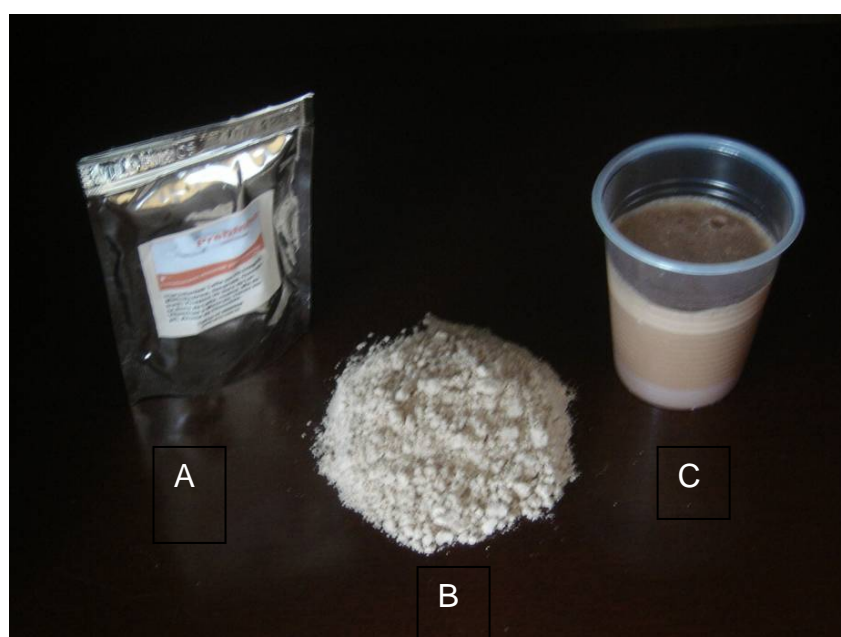


Figura 1. Suplemento alimentar (A=sachê; B=porção de 30g; C=1 porção do suplemento diluída em 100 mL de água)

O custo do suplemento, em 2008, foi de R\$ 0,80 por sachê, sendo que este envolveu o custo com o produto (R\$ 0,36) e o custo da embalagem (R\$ 0,44).

O suplemento possui em sua composição soro e concentrado protéico de soro de leite em pó, leite em pó, sacarose, maltodextrina, mix de vitaminas (retinol e ácido ascórbico) e minerais (fumarato ferroso, sulfato de zinco e cobre), inulina, cacau em pó e aroma de chocolate (Tabela 2).

Tabela 2: Composição do suplemento alimentar

Componentes	%
Maltodextrina (Corn Products)	20,0
Soro de Leite (Laticínios Morrinhos)	10,0
Concentrado Protéico de Soro de Leite (Doremus Alimentos)	15,0
Leite em Pó Integral (Montelac Alimentos)	18,0
Sacarose (Alvinho)	19,0
Mix de Vitaminas (A e C) e Minerais (Fe, Zn e Cu) (M.Cassab)	6,0
Inulina (Orafti)	10,0
Aroma de Chocolate (Lapiendrius Flavors)	0,5
Cacau em Pó (Lapiendrius Flavors)	1,5
Total	100,0

Os teores das vitaminas A e C e dos minerais ferro, zinco e cobre foram baseados na Ingestão Diária Recomendada (IDR) exigida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005), estando de acordo com as recomendações nutricionais para pré-escolares (IOM, 2000; IOM, 2001), de forma que uma porção de 30 g fornecesse 30% das recomendações dos nutrientes citados. A composição do mix de vitaminas e de minerais encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3: Composição do mix de vitaminas e minerais, em 30g do suplemento (1,8g de mix)

Componentes	Quantidade
Vitamina A (Palmitato de Retinol)	120 µg RE
Vitamina C (Ácido Ascórbico)	9,0 mg
Ferro (Fumarato Ferroso)	1,8 mg
Zinco (Sulfato de Zinco Monohidratado)	1,2 mg
Cobre (Sulfato de Cobre Anidro)	0,10 mg
Excipiente	qsp 1,8g

3.6. Análise Estatística

O banco de dados foi elaborado com auxílio do programa Excel (Microsoft Excel, 2000).

Os testes estatísticos foram realizados por meio do programa Sigma Statistic, utilizando métodos paramétricos e não paramétricos, de acordo com a natureza da variável em estudo e sua variabilidade na amostra estudada.

Para analisar o efeito da intervenção com o produto, os dados dietéticos e bioquímicos coletados no início e final do experimento foram comparados pelo teste de Wilcoxon, enquanto que, para os dados antropométricos, utilizou-se o teste-t pareado.

Para correlacionar a ingestão do suplemento com variáveis antropométricas, bioquímicas e dietéticas, utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson.

O nível de significância adotado foi 0,05 ou 5%.

As variáveis estudadas foram peso, altura, ingestão energética, carboidratos, lipídios, proteínas, fibra, ferro, zinco, cobre, vitaminas A e C; hemoglobina, hematócrito, hemácias, HCM (Hemoglobina Corpuscular Média), CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média), VCM (volume corpuscular médio), ferritina, ferro sérico e retinol sérico.

3.7. Aspectos Éticos

Os responsáveis pelas crianças foram informados do estudo e do sigilo das informações, e assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido, autorizando a participação da criança (Anexo A).

Os esclarecimentos foram feitos em linguagem acessível e a liberdade do consentimento em participar da pesquisa foi garantida a todos os indivíduos, conforme preconizado pelas Diretrizes e Normas

Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 1997).

O estudo foi realizado após consentimento dos órgãos competentes e aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Viçosa (Anexo B).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Caracterização da população

Cento e onze crianças aderiram à pesquisa. Destas, 14 foram excluídas por apresentarem anemia e/ou estarem em terapia medicamentosa para reposição de ferro ou ainda por apresentarem alergia à proteína do leite de vaca e/ou intolerância à lactose. Portanto, 97 crianças (43 meninos e 54 meninas) com idade entre 24 e 55 meses (média \pm desvio-padrão de $38,3 \pm 8,1$ meses; mediana de 37 meses) iniciaram efetivamente o protocolo da pesquisa e foram submetidas às avaliações antropométricas. Em 80 destas crianças foi possível coletar o sangue para exames laboratoriais (eritograma) e, em 61, para determinação de ferritina e ferro sérico. As análises de retinol sérico foram feitas em amostras de sangue de 62 crianças. A redução no tamanho das amostras foi devida a vários fatores, como: ausências de crianças durante as fases da coleta (inicial e/ou final), muitas vezes associadas a enfermidades; dificuldades durante a coleta, com volume de sangue inferior ao necessário, fato este justificado pela vasoconstrição comum no inverno (estação do ano em que realizou-se a 2ª coleta de sangue), bem como perda de amostras por hemólise.

4.2. Avaliação Antropométrica

Noventa e sete crianças tiveram o peso e a estatura aferidas antes e após a intervenção. Destas, apenas uma (1,03%) apresentou baixa estatura para idade e baixo peso para idade. Porém, o peso para a estatura estava adequado. Seis crianças (6,2%) apresentaram elevado peso para a idade e para a estatura, sendo classificadas com sobrepeso. A maioria das crianças (92,8%) estava com o peso adequado para a idade e para a altura, segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2006).

Na Tabela 4 apresentam-se os dados de z-escore de peso, estatura e índice de massa corporal (IMC) antes e após a intervenção. Observa-se uma melhoria dos parâmetros antropométricos peso e altura após a administração do suplemento alimentar.

Tabela 4. Índices antropométricos de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta de suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil (n=97).

	Média \pm desvio-padrão	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75
<i>Antes da intervenção</i>				
Peso/idade (z-escore)	0,303 \pm 0,943	-0,526	0,275	0,906
Altura/idade (z-escore)	-0,004 \pm 1,12	-0,682 15,39	0,029 15,91	0,614 16,77
IMC/idade (z-escore)	-0,35 \pm 2,05			
<i>Após a intervenção</i>				
Peso/idade (z-escore)	0,419 \pm 0,92 <i>(p<0,001)^a</i>	-0,393	0,421	0,957
Altura/idade (z-escore)	0,047 \pm 1,11 <i>(p=0,02)^a</i>	-0,807	0,146	0,740
IMC/idade (z-escore)	0,22 \pm 2,10 <i>(p<0,001)^a</i>	15,37	16,10	16,97

^a Teste t-pareado

Para uma análise mais detalhada, foram correlacionadas algumas variáveis entre si, conforme apresentado na Tabela 5, que evidencia correlações positivas entre a ingestão do suplemento com o peso e estatura.

Tabela 5. Correlação entre ingestão do suplemento com variáveis antropométricas de pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil (n=51).

Variáveis	Coefficiente de correlação (Pearson)	p
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x peso ^b (kg)	0,453	<0,001
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x peso ^b (z-escore)	0,314	0,025
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x altura ^b (m)	0,393	0,004
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x altura ^b (z-escore)	0,243	0,085
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x IMC ^b (kg/m ²)	0,218	0,12
Ingestão protéica ^c (g) x peso ^b (kg)	0,443	0,001
Ingestão protéica ^c (g) x peso ^b (z-escore)	0,318	0,023
Ingestão protéica ^c (g) x altura ^b (m)	0,503	<0,001
Ingestão protéica ^c (g) x altura ^b (z-escore)	0,464	<0,001
Ingestão protéica ^c (g) x IMC ^b (kg/m ²)	-0,06	0,66
Ingestão de ferro ^c (g) x peso ^b (kg)	0,387	0,005
Ingestão de ferro ^c (g) x peso ^b (z-escore)	0,207	0,144
Ingestão de ferro ^c (g) x altura ^b (m)	0,472	<0,001
Ingestão de ferro ^c (g) x altura ^b (z-escore)	0,351	0,001
Ingestão de ferro ^c (g) x IMC ^b (kg/m ²)	-0,08	0,56

^a número de dias de ingestão x porção diária consumida

^b após o período de intervenção

^c considerando ingestão dietética + suplemento

A melhoria no estado nutricional geral de crianças após oferta de alimentos fortificados, como o suplemento em questão, é embasada na literatura.

Vitolo e colaboradores (1998), em estudo com 54 pré-escolares de creches municipais de São Paulo observaram aumento significativo na adequação do índice P/E das crianças com desnutrição atual após 2 meses de oferta de cereal (na forma de mingau) enriquecido com ferro no desjejum e lanche da tarde .

Silva e colaboradores (2008) também verificaram ganhos de peso e altura após a administração de bebida láctea enriquecida com ferro e probiótico em crianças pré-escolares do município de Viçosa. Os índices peso/idade e estatura/idade, em z-escore, foram significativamente superiores após a intervenção, porém não houve alteração significativa no índice peso/estatura. Os autores ressaltaram, entretanto, que a média de ganho de peso e estatura em 8 meses de estudo foi superior à população de referência (WHO, 2006), fato também observado neste trabalho.

Dentre os fatores que podem justificar, no presente estudo, o impacto do suplemento no estado nutricional das crianças, cita-se a composição do mesmo que, por conter soro de leite e concentrado protéico de soro de leite, apresenta, do ponto de vista nutricional, alta digestibilidade, uma excelente composição em aminoácidos e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais.

A ingestão protéica considerando a adição do suplemento na alimentação das crianças apresentou correlação positiva e significativa com o peso e estatura após o período de intervenção (tabela 5). De acordo com Zinsly e colaboradores (2001) e Sgarbieri e colaboradores (2005), as proteínas do soro de leite são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais, sendo, portanto, muito adequadas para situações de crescimento.

O enriquecimento com os micronutrientes ferro, zinco, cobre e vitaminas A e C também deve ser considerado na promoção do crescimento, uma vez que são nutrientes envolvidos em várias reações anabólicas.

O ferro é componente de enzimas que regulam a divisão celular, produção de energia, síntese de ácidos nucléicos, síntese de hormônios da tireóide, dentre outros (COSTA, 2008).

O zinco é essencial à diferenciação e proliferação celular, atuando na regulação do crescimento, mediante ação em nível de receptores do fator de crescimento tipo insulina 1 (IGF-1). Além disso, é requerido no hepatócito para síntese da proteína ligante de retinol (RBP), a qual é responsável pelo transporte inter e intracelular de vitamina A (STEFANIDOU et al., 2006).

O cobre, por sua vez, é importante para a formação da matriz de colágeno nos ossos, via ação da enzima lisil oxidase, que contém o mineral (COSTA, 2008).

Quanto às vitaminas, o ácido retinóico (metabólito da vitamina A) ativa receptores nos núcleos, regulando a expressão de vários genes que codificam a estrutura de proteínas, enzimas, proteínas da matriz extracelular, proteínas ligante de retinol e receptores. A vitamina C é essencial para a formação do colágeno, que é importante para o crescimento e reparo dos tecidos do corpo (IOM, 2000).

Uma meta-análise realizada por Ramakrishnan e colaboradores (2004) mostrou que estudos randomizados e controlados com suplementação de apenas vitamina A ou apenas ferro não apresentaram efeito no crescimento de crianças e adolescentes com idade inferior a 18 anos, ao contrário dos estudos em que houve suplementação com mais de um nutriente, como ferro e vitamina A.

Chhagan e colaboradores (2010) em estudo longitudinal controlado, randomizado e duplo-cego, realizado com crianças rurais (6-24 meses) da África do Sul no período de 2003 a 2009 observaram que a suplementação com múltiplos micronutrientes (incluindo zinco, vitamina A, ferro, cobre, vitamina C) promoveu um melhor crescimento quando comparado com a suplementação com vitamina A apenas ou Vitamina A e Zinco.

4.3. Exames laboratoriais

Foi possível coletar amostras de sangue para o eritrograma de 80 crianças antes e após a intervenção.

Os parâmetros eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM) foram estatisticamente superiores após a administração do suplemento (Tabela 6).

Foram analisadas amostras de sangue de 61 crianças para determinação de ferritina e ferro sérico, antes e após o período de administração do suplemento alimentar (Tabela 7). Houve um aumento significativo nos valores de ferritina e redução no ferro sérico que possivelmente pode ter sido influenciado por morbidades infecciosas que, entretanto, não foram avaliadas no presente estudo.

O menor número de amostras em relação ao eritrograma deveu-se a diferenças nas quantidades de sangue obtidas entre as crianças, principalmente na 2ª coleta, que coincidiu com início do inverno e que, devido a vasoconstrição, contribuiu para o menor volume sanguíneo no momento da coleta, apesar de terem sido usadas estratégias para estimular a circulação, como exercícios nos braços e até mesmo utilização de bolsa térmica morna nos membros superiores. Além disso, houve perda de amostras por hemólise.

Na Tabela 8 apresentam-se correlações entre ingestão do suplemento com variáveis bioquímicas.

Tabela 6. Eritrograma de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta do suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil (n=80).

	Média \pm desvio-padrão	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75
<i>Antes da intervenção</i>				
Eritrócitos (milhões/mm ³)	4,69 \pm 0,41	4,38	4,69	4,98
Hemoglobina (g/dL)	12,01 \pm 0,89	11,40	12,00	12,67
Hematócrito (%)	36,72 \pm 2,71	34,60	36,50	38,75
VCM (fL)	78,48 \pm 4,71	75,67	78,33	82,37
HCM (pg)	25,70 \pm 1,81	24,39	25,96	26,94
CHCM (g/dL)	32,74 \pm 1,22	31,80	32,58	33,39
<i>Após a intervenção</i>				
Eritrócitos (milhões/mm ³)	4,78 \pm 0,37 (<i>p</i> =0,026) ^a	4,53	4,76	5,01
Hemoglobina (g/dL)	12,43 \pm 0,92 (<i>p</i> <0,001) ^a	11,82	12,35	13,00
Hematócrito (%)	38,19 \pm 2,36 (<i>p</i> <0,001) ^a	36,80	37,95	39,83
VCM (fL)	80,03 \pm 4,86 (<i>p</i> <0,001) ^a	76,78	80,81	83,36
HCM (pg)	26,06 \pm 1,96	24,77	26,45 (<i>p</i> <0,001) ^b	27,58
CHCM (g/dL)	32,55 \pm 1,15 (<i>p</i> =0,19) ^a	31,84	32,43	33,40

^a Teste t-pareado; ^b Teste de Wilcoxon

Tabela 7. Ferritina ($\mu\text{g/L}$) e ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$) de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta do suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil (n=61).

	Média \pm desvio- padrão	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75
<i>Antes da intervenção</i>				
Ferritina ($\mu\text{g/L}$)	29,36 \pm 18,89	17,50	27,00	34,75
Ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$)	67,59 \pm 32,67	43,75	61,00	93,25
<i>Após a intervenção</i>				
Ferritina ($\mu\text{g/L}$)	54,36 \pm 60,99	19,00	37,00 <i>(p<0,001)^a</i>	65,50
Ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$)	57,65 \pm 24,41 <i>(p=0,03)^b</i>	38,75	55,00	75,50

^a Teste de Wilcoxon; ^b Teste t-pareado.

Tabela 8. Correlação entre ingestão do suplemento alimentar com variáveis bioquímicas de pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil (n=51).

Variáveis	Coefficiente de correlação (Pearson)	p
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta eritrócito	0,414	0,002
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta hemoglobina	0,312	0,026
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta hematócrito	0,398	0,003
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta VCM	0,08	0,587
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta HCM	-0,204	0,151
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta CHCM	-0,207	0,145
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta ferritina	0,186	0,191
Quantidade ingerida ^a do suplemento (g) x delta ferro sérico	-0,116	0,418

^a número de dias de ingestão x porção diária consumida

Os resultados aqui encontrados corroboram com estudos realizados nas últimas décadas com fortificação de água e alimentos, principalmente a base de farinhas ou produtos lácteos, com diferentes fontes de ferro e relatos de melhoria no estado nutricional do nutriente em pré-escolares. Torres et al. (1995) avaliaram o efeito de leite em pó fortificado com ferro (9 mg/100 g) e vitamina C (65 mg/100 g) em crianças de 6 a 23 meses no estado de São Paulo. Os níveis de hemoglobina aumentaram significativamente após 3 meses de intervenção.

Em outra pesquisa, Torres et al. (1996) estudaram o impacto do uso de leite fortificado com ferro (aminoácido quelato) no combate à anemia em crianças menores de quatro anos cadastrada em um Programa de Suplementação Alimentar do município de Angatuba, SP. Após seis meses de intervenção, a prevalência de anemia reduziu de 62,3% para 41,8% e, ao final de 12 meses, para 26,4%.

Um trabalho demonstrou que a incorporação de 20 mg de ferro elementar por litro de água potável durante oito meses em uma creche aumentou os níveis de hemoglobina e ferritina sérica de $10,7 \pm 0,7$ g/dL e $13,7 \pm 8,9$ µg/L, para $13,0 \pm 1,1$ g/dL e $25,6 \pm 10,5$ µg/L, respectivamente (DUTRA-DE-OLIVEIRA et al., 1994).

Fisberg (1996) utilizou porções de 350 mL de um suplemento lácteo industrializado, que continha 1,4 mg de ferro/100mL durante 3 meses em 2 creches municipais de São Paulo, e observou redução significativa no percentual de pré-escolares com anemia. Da mesma forma, Giorgini e colaboradores (2001) mostraram que pãezinhos doces preparados com farinha de trigo fortificada com ferro foram eficazes na recuperação de 89 crianças anêmicas de baixo nível socioeconômico, atendidas por duas creches, em São Paulo, com um aumento de 178% nos níveis de ferritina sérica das crianças.

Tuma e colaboradores (2003) reportaram a recuperação dos níveis de hemoglobina e desnutrição crônica em pré-escolares após 120 dias de intervenção com farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato.

Em Viçosa, MG, Silva et al. (2002) verificaram incrementos significantes nos índices de ferritina sérica de pré-escolares, após 35 dias de intervenção com uma bebida láctea fermentada, fortificada com ferro aminoácido quelato e adicionada de *Lactobacillus acidophilus*.

Em creches municipais do Rio de Janeiro, Bagni et al. (2009) observaram que as crianças de 12 a 60 meses que receberam quantidade total de ferro $\geq 53,76$ mg durante 16 semanas por meio de arroz fortificado

com ferro bisglicina quelato, tiveram maior aumento na hemoglobina do que aquelas que receberam quantidades inferiores (0,94g/dL vs. 0,39g/dL; $p = 0,03$).

Ressalta-se que, além da fortificação com ferro, o suplemento alimentar do presente estudo foi enriquecido com vitamina A. A associação entre vitamina A e ferro tem sido relatada em diversos estudos, como o realizado por Mejía e Arroyave (1982), no qual foi avaliada a eficácia de um programa de fortificação do açúcar com vitamina A no metabolismo de ferro de crianças de 1 a 5 anos residentes na Guatemala. Os autores concluíram que a vitamina A aumentou a biodisponibilidade do ferro sérico para hematopoiese devido à mobilização dos estoques corporais, provocando uma melhor absorção do ferro dietético que, por sua vez, elevou as reservas hepáticas do mineral.

Mejía e Chew (1988) também observaram que a suplementação diária de vitamina A (3mg) em pré-escolares e escolares causou melhorias no estado nutricional de ferro, sobretudo nos níveis de ferro sérico.

Da mesma forma, Bloem e colaboradores (1990) analisaram as alterações no metabolismo de ferro após suplementação com 110 mg de vitamina A por 2 semanas, em crianças de 3 a 9 anos com deficiência de vitamina A e observaram que as concentrações de hemoglobina, hematócrito, ferro sérico e saturação da transferrina aumentaram significativamente. Entretanto, ferritina e transferrina não sofreram alterações. Os autores concluíram que a vitamina A promoveu a mobilização do ferro estocado e aumentou a utilização deste ferro para formação da hemoglobina. Desta forma, os estoques corporais de ferro diminuíram, levando ao aumento na absorção deste mineral.

Zimmermann e colaboradores (2006) avaliaram o impacto da suplementação da vitamina A no estado nutricional de ferro em crianças e adolescentes em idade escolar (5-13 anos) residentes na zona rural de Marrocos. Os participantes que receberam uma suplementação com 200.000 UI no início e após 5 meses de estudo, apresentaram um aumento

de hemoglobina e de volume corpuscular médio e redução da ferritina, sugerindo mobilização dos estoques de ferro para síntese de eritrócitos. Após 10 meses do início dos estudos, os autores observaram aumento da eritropoítina. A eritropoítina é uma glicoproteína produzida principalmente por células peritubulares renais e atua no último estágio da eritropoiese, isto é, na maturação dos eritrócitos. Metabólitos da vitamina A atuam na regulação genética da síntese de eritropoítina e também influenciam outros hormônios e citocinas envolvidas na eritropoiese (WEST JR, 2007).

Na Venezuela, Jimenez e colaboradores (2010) também verificaram melhoria no estado nutricional de ferro caracterizada pelo aumento nos níveis de hemoglobina, 30 dias após uma única suplementação com 60 mg de vitamina A, em crianças de 2 a 6 anos de idade.

De acordo com West Jr. (2007), quatro mecanismos podem estar envolvidos na interação da vitamina A com o metabolismo de ferro, a saber: a) mobilização dos estoques hepáticos de ferro para a circulação; b) estímulo à eritropoiese, via eritropoítina. c) redução de infecções e, conseqüentemente, do risco de desenvolver anemia; d) estímulo à absorção de ferro, possivelmente por um efeito quelante da vitamina A com o ferro no intestino, protegendo-o de fatores inibidores como fitato e polifenóis.

Da mesma forma, a fortificação com zinco, cobre e vitamina C pode ter contribuído para melhorias do estado nutricional de ferro. Ash e colaboradores (2003) realizaram um estudo controlado, randomizado, duplo-cego, com 774 crianças escolares (6-11 anos) habitantes de uma região semi-árida da Tanzânia, no qual metade das crianças receberam uma bebida enriquecida com 10 micronutrientes, dentre eles, vitamina A, ferro, zinco e vitamina C uma vez ao dia, durante 5 dias por semana, num período de 6 meses. Os autores observaram que, em relação ao grupo placebo, o grupo que recebeu a bebida fortificada apresentou aumento significativo na concentração de ferritina sérica, bem como redução na prevalência de deficiência de vitamina A.

Hyder e colaboradores (2007) avaliaram o efeito de bebida fortificada com micronutrientes no estado nutricional de adolescentes de escolas rurais de um distrito em Bangladesh. O estudo placebo-controlado, randomizado, duplo cego foi realizado com 1268 adolescentes do sexo feminino, sendo que 634 delas receberam uma bebida sabor laranja fortificada com ferro, zinco, vitamina C, vitamina A e vitaminas do complexo B. A bebida foi servida 6 vezes por semana, durante 12 meses, exceto no período das férias (20 dias). Após 6 meses, os pesquisadores observaram que, em relação ao grupo placebo, o grupo que ingeriu a bebida fortificada apresentou maior ganho de peso e estatura ($p < 0,01$), aumento na média da hemoglobina; maior aumento na ferritina sérica; redução na prevalência de anemia por deficiência de ferro (de 13,1% para 1,5%) e maior aumento no retinol sérico, sendo todas estas alterações estatisticamente significantes.

No presente estudo, o enriquecimento do suplemento com vitamina C pode ter contribuído para o aumento da biodisponibilidade do ferro, devido sua habilidade em converter o ferro férrico para a forma ferrosa (HURRELL; EGLI, 2010).

Quanto aos minerais, o cobre é importante para a síntese de ceruloplasmina que atua na conversão do ferro Fe^{++} para Fe^{+++} para se ligar à transferrina plasmática. Já a deficiência de zinco está relacionada com alteração na eritropoiese, redução da resistência dos glóbulos vermelhos ao estresse oxidativo e, portanto, sua suplementação está associada com melhoria nos parâmetros bioquímicos relacionados ao estado nutricional de ferro (OLIVARES et al., 2007).

Merece destacar também a importância da adição do prebiótico para justificar os resultados encontrados no estado nutricional de ferro. É provável que ácidos graxos de cadeia curta produzidos por fermentação do prebiótico por bactérias no lúmen intestinal das crianças possam ter contribuído para uma melhor solubilização e absorção do ferro, devido possível efeito na redução do ferro da forma férrica para ferrosa e também

na ação na altura das criptas das vilosidades, melhorando a área de absorção de nutrientes, conforme mencionado por Shols-ahrenz e colaboradores (2001).

A administração de prebióticos como inulina, oligofrutose, glicooligossacarídeos e galactooligossacarídeos tem sido associada com melhor absorção e retenção de vários minerais, particularmente magnésio, cálcio e ferro. Yasuda e colaboradores (2006), em estudo com leitões, observaram um aumento de 15% ($p < 0,01$) na concentração de hemoglobina, após a suplementação da dieta com 4% de inulina.

A fortificação com vitamina A não foi suficiente para melhorar o estado nutricional desta vitamina. Não houve diferença nos níveis de retinol sérico após a intervenção com o produto (Tabela 9).

Tabela 9. Retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$) de pré-escolares antes e após 45 dias de oferta de suplemento alimentar. Viçosa, MG, Brasil ($n=62$).

	Média \pm desvio-padrão	Percentil 25	Percentil 50 (mediana)	Percentil 75
<i>Antes da intervenção</i>				
Retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$)	47,55 \pm 21,34	33,11	47,18	55,80
<i>Após a intervenção</i>				
Retinol sérico ($\mu\text{g/dL}$)	45,75 \pm 18,32	32,24	43,12	55,69
			($p=0,52$) ^a	

^a Teste de Wilcoxon

A classificação do nível de retinol sérico realizada com base nos pontos de corte propostos pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 1996) e sua prevalência, antes e após a intervenção, está detalhada na Tabela 10.

Tabela 10: Classificação dos níveis de retinol sérico e sua prevalência em pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil, antes e após 45 dias de intervenção, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1996) (n=62)

Categoria	Retinol sérico $\mu\text{g/dL}$	Prevalência (%)	
		Antes	Depois
Carência grave	< 10	0	0
Carência marginal moderada	10 – 20	4,80	3,20
Em “risco”	20 – 30	12,90	14,52
Sem carência	> 30	82,30	82,28

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009), uma prevalência entre 2 e 10% de valores de retinol sérico abaixo de 20 mg/dL é classificada, em termos de nível de importância, como leve problema de saúde pública, magnitude esta encontrada entre os pré-escolares participantes do estudo. No entanto, estes dados não podem ser generalizados para os pré-escolares do município, uma vez que a amostra não é representativa da totalidade dos mesmos.

Vale ressaltar que em Viçosa, Magalhães e colaboradores (2001) encontraram uma prevalência de 15% de hipovitaminose A entre pré-escolares, o que caracterizou, na época, um moderado problema de saúde pública.

Fernandes e colaboradores (2005) encontraram uma prevalência de 7% entre pré-escolares de creches públicas do Recife, caracterizando também, um problema de saúde pública leve.

Já em escolares da região rural de Novo Cruzeiro, região do Vale do Jequitinhonha de Minas Gerais, a prevalência de hipovitaminose foi de 29% (SANTOS et al.; 2005).

De acordo com Geraldo e colaboradores (2003), a prevalência de hipovitaminose A entre pré-escolares varia segundo a região, sendo que no Nordeste foram encontradas prevalências variando entre 15 e 20% para o referido grupo na década de 90.

Não foi observada correlação entre quantidade ingerida do suplemento com variação nos níveis de retinol (delta retinol) ($r=-0,134$; $p=0,35$). Porém, encontrou-se uma correlação negativa entre o retinol sérico e a ferritina sérica ($r = - 0,313$; $p = 0,02$), o que reforça a hipótese de ação da vitamina A na mobilização dos estoques de ferro para a síntese de eritrócitos (ZIMMERMANN et al, 2006; WEST Jr., 2007).

Diante do exposto, pode-se inferir que a adição de prebiótico e a fortificação do suplemento com ferro, zinco, cobre, vitamina C e vitamina A contribuíram para uma ação sinérgica entre os micronutrientes na melhoria do estado nutricional de ferro (Tabelas 2 e 3), apesar de não ter sido constatada melhoria no estado nutricional de vitamina A (Tabela 6). Esta pode ter sido utilizada pelo organismo para promoção da eritropoiese e, com isso, a concentração sanguínea de retinol manteve-se a mesma.

Além disso, outras possíveis explicações para os resultados encontrados para o retinol são:

- Deficiência relativamente baixa de vitamina A na população estudada. A prevalência de deficiência de vitamina A (retinol sérico inferior a 20 $\mu\text{g/dL}$) foi de 4,8% antes da intervenção e de 3,2% após a intervenção, o que caracteriza uma deficiência leve na população estudada (WHO, 1996). Assim, como não havia deficiência grave (retinol sérico inferior a 10 $\mu\text{g/dL}$), a resposta à intervenção não foi eminente. Segundo a OMS (WHO, 1996) e Pee e Dary (2002), os níveis séricos de retinol só refletem os estoques corporais desta vitamina quando estes estão muito altos ou muito baixos, não sendo portanto, indicado como critério diagnóstico em nível individual de forma isolada. No entanto, em nível populacional, a frequência de distribuição das concentrações de retinol sérico é confiável para a avaliação da deficiência de vitamina A;

- Período (tempo) de intervenção: o produto foi administrado durante 2 meses, o que, aliado ao descrito anteriormente, pode ter comprometido a comprovação da eficácia do produto. A eficácia da fortificação de alimentos com vitamina A tem sido relatada em estudos com um maior tempo de intervenção, conforme apresentado por Ribaya-Mercado e colaboradores (2004). Estes pesquisadores observaram melhoria nos parâmetros do estado nutricional de vitamina A (retinol sérico e estoque hepático e corporal da vitamina) em crianças da Nicarágua após um período de 12 meses de implantação de um programa nacional de fortificação do açúcar.

- Redistribuição da vitamina A decorrente da fortificação com ferro: Wieringa e colaboradores (2003) verificaram uma redução na concentração de retinol plasmático após suplementação com ferro em lactentes da Indonésia, sugerindo uma redistribuição da vitamina A, do sangue para o fígado e/ou um aumento na necessidade de vitamina A decorrente do estímulo à eritropoiese.

- Controle de morbidades: segundo Tanumihardjo (2004), processos infecciosos, má absorção intestinal, parasitoses e síndrome nefrótica podem afetar negativamente a concentração sérica de retinol e, no presente estudo, o controle se deu de forma indireta e apenas para enfermidades mais graves, pois nestes casos as crianças não frequentaram as creches e, portanto, não participaram do estudo. O controle direto das morbidades não foi possível por se tratar de crianças institucionalizadas, em que a obtenção destes dados é dificultada, uma vez que o tempo de contato com os pais ou responsáveis pelas crianças é muito reduzido, limitando-se ao momento de chegada e saída das crianças nas creches. Com isso, uma consideração sobre os níveis de ferritina e ferro sérico e o controle de morbidades merece ser ressaltada. Assim, valores elevados de ferritina sérica podem ser observados na presença de infecções e outras morbidades, como neoplasias, doenças

hepáticas, leucemias e hipertireoidismo. O Ferro Sérico também é alterado em processos infecciosos, podendo diminuir em poucas horas após o desencadeamento de uma infecção (COOK et al.; 1992).

4.4. Avaliação Dietética

A ingestão de macro e micronutrientes foi semelhante antes e após a pesquisa (Tabela 11).

Tabela 11. Ingestão média de nutrientes em pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil, antes e após a administração do suplemento alimentar (n=62).

	<i>Antes da intervenção</i>		<i>Após a intervenção</i>		P*
	Média \pm desvio-padrão	Mediana	Média \pm desvio-padrão	Mediana	
Calorias (kcal)	860,27 \pm 95,94	833,98	853,44 \pm 96,77	832,5	0,09
Proteína (g)	17,62 \pm 2,84	18,04	17,81 \pm 2,61	17,9	0,11
Carboidrato (g)	157,57 \pm 16,55	152,0	156,38 \pm 16,80	152,0	0,20
Lipídios (g)	17,72 \pm 3,77	16,3	17,41 \pm 3,94	16,25	0,08
Vitamina A (μ g)	256,58 \pm 101,19	220,3	244,6 \pm 95,55	224,75	0,87
Vitamina C (mg)	27,25 \pm 14,02	19,1	26,0 \pm 10,36	23,0	0,74
Cálcio (mg)	179,8 \pm 69,1	160,0	175,46 \pm 61,89	154,4	0,21
Ferro (mg)	4,80 \pm 0,82	4,8	4,80 \pm 0,70	4,8	0,17
Zinco (mg)	1,97 \pm 0,45	1,9	1,95 \pm 0,41	1,9	0,81
Cobre (μ g)	459,68 \pm 109,3	500,0	433,87 \pm 110,06	400,0	0,24
Fibras (g)	6,26 \pm 1,07	6,8	6,12 \pm 1,15	6,37	0,58

* Teste de Wilcoxon

Porém, a inclusão do suplemento aumentou significativamente a ingestão de todos os nutrientes (Tabela 12) durante a realização deste trabalho. Ou seja, o perfil alimentar das crianças após o término da pesquisa manteve-se o mesmo do início (Tabela 11), mas a administração do suplemento promoveu melhora significativa no mesmo, considerando os dados de 62 crianças que completaram todos os inquéritos dietéticos aplicados.

Tabela 12. Ingestão média de nutrientes em pré-escolares de Viçosa, MG, Brasil, antes (sem o suplemento) e durante a pesquisa (com o suplemento alimentar) (n=62).

	<i>Ingestão sem o suplemento</i>		<i>Ingestão com o suplemento</i>		P*
	Média \pm desvio-padrão	Mediana	Média \pm desvio-padrão	Mediana	
Calorias (kcal)	860,27 \pm 95,94	833,98	980,46 \pm 95,94	954,18	<0,001
Proteína (g)	17,62 \pm 2,84	18,04	23,72 \pm 2,84	24,14	<0,001
Carboidrato (g)	157,57 \pm 16,55	152,0	176,57 \pm 16,55	171,0	<0,001
Lipídios (g)	17,72 \pm 3,77	16,3	19,92 \pm 3,77	18,5	<0,001
Vitamina A (μ g)	256,58 \pm 101,19	220,3	388,6 \pm 101,2	352,3	<0,001
Vitamina C (mg)	27,25 \pm 14,02	19,1	37,14 \pm 14,02	29,0	<0,001
Cálcio (mg)	179,8 \pm 69,1	160,0	278,8 \pm 69,10	259,0	<0,001
Ferro (mg)	4,80 \pm 0,82	4,8	6,8 \pm 0,82	6,8	<0,001
Zinco (mg)	1,97 \pm 0,45	1,9	3,3 \pm 0,46	3,2	<0,001
Cobre (μ g)	459,68 \pm 109,3	500,0	569,68 \pm 109,33	610,0	<0,001
Fibras (g)	6,26 \pm 1,07	6,8	9,46 \pm 1,07	10,0	<0,001

^a Teste de Wilcoxon

Quando o suplemento foi administrado, tanto a média quanto a mediana de ingestão aproximaram ou superaram os valores da recomendação nutricional (RDA) para crianças de 1 a 3 anos (Tabela 13). Como no presente estudo participaram crianças de 2 a 5 anos, comparou-se os valores com a recomendação para a faixa etária de 4-8 anos. Para estas crianças, a ingestão média de ferro e zinco foi inferior à recomendação.

Tabela 13. Comparação da ingestão de micronutrientes antes (sem) e durante a pesquisa (com o suplemento), com a recomendação nutricional (EAR) (n=62).

	<i>Sem suplemento</i>		<i>Com suplemento</i>		RDA
	Média \pm desvio-padrão	Mediana	Média \pm desvio-padrão	Mediana	
Vitamina A (μ g)	256,58 \pm 101,19	220,3	388,6 \pm 101,2	352,3	300 (1 – 3 anos) 400 (4 – 8 anos)
Vitamina C (mg)	27,25 \pm 14,02	19,1	37,14 \pm 14,02	29,0	15 (1 – 3 anos) 25 (4 – 8 anos)
Ferro (mg)	4,80 \pm 0,82	4,8	6,8 \pm 0,82	6,8	7,0 (1 – 3 anos) 10,0 (4 – 8 anos)
Zinco (mg)	1,97 \pm 0,45	1,9	3,3 \pm 0,46	3,2	3,0 (1 – 3 anos) 5,0 (4 – 8 anos)
Cobre (μ g)	459,68 \pm 109,3	500,0	569,68 \pm 109,33	610,0	340 (1 – 3 anos) 440 (4 – 8 anos)

A Tabela 14 apresenta a prevalência de inadequação da ingestão dos micronutrientes em estudo, adotando como referência os valores de EAR segundo a faixa etária (IOM, 2000; IOM, 2002).

Observa-se que o suplemento corrigiu em 100% as inadequações na ingestão dos micronutrientes vitamina A, ferro e cobre. Apenas 1 criança cuja idade era 2 anos e 5 meses não atingiu a recomendação de 13 mg de Vitamina C, porém ficou próxima (12,2 mg).

Quanto ao zinco, a prevalência de inadequação observada com a administração do suplemento refere-se a crianças de 4 a 5 anos e vale ressaltar que, como a maioria (87,1%) das crianças frequentadoras das creches encontravam-se na faixa etária de 1 a 3 anos, o suplemento foi desenvolvido visando atingir 30% das recomendações deste grupo. Assim, considerando apenas a faixa etária de 1 a 3 anos (n=54), a prevalência de inadequação na ingestão de zinco foi 88,89% (n=48), sendo a mesma corrigida em 100% com a administração do produto para o referido grupo.

Tabela 14. Prevalência de inadequação da ingestão dos micronutrientes, sem e com o suplemento (n=62).

Nutriente	EAR	<i>Prevalência de inadequação</i>		p
		<i>Sem suplemento</i>	<i>Com suplemento</i>	
Vitamina A (µg)	210 (1 – 3 anos) 275 (4 – 8 anos)	25,81% (n=16)	0	<0,0001 ^a
Vitamina C (mg)	13 (1 – 3 anos) 22 (4 – 8 anos)	11,29% (n=7)	1,61 % (n=1)	= 0,03 ^b
Ferro (mg)	3,0 (1 – 3 anos) 4,1 (4 – 8 anos)	8,06% (n=5)	0	= 0,02 ^b
Zinco (mg)	2,2 (1 – 3 anos) 4,0 (4 – 8 anos)	90,32% (n=56)	12,9 % (n=8)	<0,0001 ^a
Cobre (µg)	260 (1 – 3 anos) 340 (4 – 8 anos)	9,68% (n=6)	0	= 0,01 ^b

^a Teste qui-quadrado; ^b Teste Fisher

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados nas avaliações antropométricas, bioquímicas e dietéticas, conclui-se que o suplemento contribui para uma melhor oferta de nutrientes aos pré-escolares, o que foi refletido na melhoria dos parâmetros como estatura, peso, eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM e ferritina sérica.

Assim, o suplemento mostrou-se eficaz na melhoria do estado nutricional de uma forma geral. E a fortificação com múltiplos nutrientes bem como a adição do prebiótico podem ter contribuído na eficácia do suplemento alimentar. Porém, o estado nutricional de vitamina A permaneceu inalterado. Diante disso, outros estudos se fazem necessários a fim de se avaliar a suplementação alimentar e os fatores que podem interferir nos parâmetros bioquímicos de retinol sérico e, conseqüentemente, no estado nutricional desta vitamina.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASH, D.M; TATALA, S.R.; FRONGILLO, E.A; LATHAM, M.C. Randomized efficacy trial of a micronutrient-fortified beverage in primary school children in Tanzania. **American Journal of Clinical Nutrition** v.77, p.891–8, 2003

BAGNI, U.V; BAIÃO, M.R.; SANTOS, M.M.A.S; LUIZ, R.R.; VEIGA, G.V. Efeito da fortificação semanal do arroz com ferro quelato sobre a frequência de anemia e concentração de hemoglobina em crianças de creches municipais do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.25, n.2, p.291-302, 2009.

BLOEM, M.W.; WEDEL, M.; AGTMAAL, E.J.V.; SPEEK, A.J.; SAOWAKONTHA, S.; SCHREURS, W.H.P. Vitamin A intervention: short-term effects of a single, oral, massive dose on iron metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.51, p.76-79, 1990.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico Sobre A Ingestão Diária Recomendada (IDR) De Proteína, Vitaminas E Minerais". Diário Oficial da União, 23 de setembro de 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Carência por micronutriente**. Caderno de Atenção à Saúde, n.20. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 60p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Ministério da Saúde, 2008. 48p.

CHHAGAN, M. K; VAN den BROECK, J.; LUABEYA, K.K.A; BENNISH, M.L. Effect on longitudinal growth and anemia of zinc or

multiple micronutrients added to vitamin A: a randomized controlled trial in children aged 6-24 months. **BMC Public Health**, v. 10:145, 2010

CNS - Conselho Nacional de Saúde. **Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos**. Brasília, Conselho Nacional de Saúde, 1997. 20p

COSTA, N.M.B. Minerais. IN: COSTA, N.M.B; PELUZIO, M.C.G. **Nutrição Básica e Metabolismo**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008. 400p.

DUTRA-de-OLIVEIRA, J.E.; FERREIRA, J.B.; VASCONCELLOS, V.P.; MARCHINI, J.S. Drinking water as an iron carrier to control anemia in preschool children in a day-care center. **Journal American College Nutrition**, 13:198-202, 1994.

FERNANDES, T.F.S. Hipovitaminose A em pré-escolares de creches públicas do Recife: indicadores bioquímico e dietético. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.4, p.471-480, 2005

FISBERG, M. Utilização de suplemento alimentar enriquecido com ferro na prevenção de anemia em pré-escolares. **Revista de Pediatria Moderna**; v.32, p.753-8. 1996

GIORGINI, E; FISBERG, M; DE PAULA, R. A. C; FERREIRA, A. M. A; VALLE, J; BRAGA, J. A. P. The use of sweet rolls fortified with iron bis-glycinate chelate in the prevention of iron deficiency anemia in preschool children. **Archivos Latinoamericanos Nutrición**, 51:48-53, 2001.

GERALDO, R.R.C. Distribuição da hipovitaminose A no Brasil nas últimas quatro décadas: ingestão alimentar, sinais clínicos e dados bioquímicos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.4, p.443-460, 2003

HURREL, R. EGLI, I. Iron bioavailability and dietary reference values. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.91(suppl), p.1461S-7S, 2010

HYDER, S.M.; HASEEN, F.; KHAN, M.; JALAL, C.S.B.; MANNAR, V.; MEHANSHO, H. A Multiple-Micronutrient-Fortified Beverage Affects Hemoglobin, Iron, and Vitamin A Status and Growth in Adolescent Girls in Rural Bangladesh. **Journal of Nutrition**, v. 137, p.2147-2153, 2007

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin E, selenium and carotenoids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.

IOM - INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.

IOST, C.; NAME, J.J; JEPPSEN, R.B.; ASHMEAD, H.D. Repleting hemoglobin in iron deficiency anemia in young children through liquid milk fortification with bioavailable iron amino acid chelate. **Journal American College Nutrition**, v.17, n. 2, p.187-194, 1998.

JELLIFFE, D. B. **The assessment of the nutritional status of the community**. Geneva, WHO, 1966.

JIMENEZ, C.; LEETS, I.; PUCHE, R.; ANZOLA, E.; MONTILLA, R.; PARRA, C.; AGUILERA, A.; GARCIA-CASAL, M.N. A single dose of vitamin A improves haemoglobin concentration, retinol status and phagocytic function of neutrophils in preschool children. **British Journal of Nutrition**, v. 103, p.798–802, 2010.

MAGALHÃES, P.; ANDRÉA, R.; RAMALHO, C.C. Deficiência de ferro e de vitamina A: avaliação nutricional de pré-escolares de Viçosa (MG/Brasil). **Nutrire: Revista Sociedade Brasileira Alimentação Nutrição**, 21:41-56, 2001.

MEJÍA, L.A.; ARROYAVE, G. The effect of vitamin A fortification of sugar on iron metabolism in preschool children in Guatemala. **American Journal of Clinical Nutrition**, 36:87-93, 1982.

MEJÍA, L.A.; CHEW, F. Hematological effect of supplementing anemic children with vitamin A alone and in combination with iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, 48:595-600, 1988.

MIRANDA, S.M.; FRANCESCHINI, S.C.C.; PRIORE, S.E.; EUCLYDES, M.P.; ARAÚJO, R.M.A.; RIBEIRO, S.M.R.; NETTO, M.P.; FONSECA, M.M.; ROCHA, D.S.; SILVA, D.G.; LIMA, N.M.M.; MAFFIA, U.C.C.. Anemia ferropriva e estado nutricional de crianças com idade de 12 a 60 meses do município de Viçosa, MG. **Revista Nutrição**, v.16, n.2, p.163-169, 2003.

NETTO, MP. **Estado nutricional de ferro e vitamina a em crianças de 18 a 24 meses do município de Viçosa, Minas Gerais**. Viçosa, 2005. 113p. (Dissertação de Mestrado, UFV).

OLIVARES, M.; HERTRAMPF, E.; UAVY. Copper and zinc interactions in anemia: a public health perspective. Chapter 8. IN: Kramer, K; Zimmermann, M.B (Ed). **Nutritional Anemia**. Switzerland: Sight and Life Press., 2007. 414p.

PEE, S.; DARY, O. Biochemical Indicators of Vitamin A Deficiency: Serum Retinol and Serum Retinol Binding Protein. **The Journal of Nutrition**, suppl, p.2895-2901, 2002

PIZARRO, F.; OLIVARES, M.; HERTRAMPF, E.; MAZARIEGOS, D.I.; ARREDONDO, M.; LETELIER, A.; GIDI, V. Iron bis-glycine chelate competes for the nonheme-iron absorption pathway. **American Journal Clinical Nutrition**, v.76, p.577-581, 2002.

RAMAKRISHNAN, U.; ABURTO, N.; McCABE, G.; MARTORELL, R. Multimicronutrient Interventions but Not Vitamin A or Iron Interventions

Alone Improve Child Growth: Results of 3 Meta-Analyses. **Journal of Nutrition**. v.134, p.2592-2602, 2004

RICHARDS, N.S.P.S. Soro Lácteo – Perspectivas industriais e Proteção ao Meio Ambiente. *Food Ingredients*, 17:20-27, 2002.

RYBAIA-MERCADO, J.D.; SOLOMONS, N.W.; MEDRANO, Y.; BULUX, J.; DOLNIKOWSKI, G.G.; RUSSEL, R.M.; WALLACE, C.B. Use of the deuterated-retinol-dilution technique to monitor the vitamin A status of Nicaraguan schoolchildren 1 y after initiation of the Nicaraguan national program of sugar fortification with vitamin A. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.80, p.1291–8, 2004.

SANTOS, M.A. Hipovitaminose A em escolares da zona rural de Minas Gerais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.3, p.:331-339, 2005

SGARBIERI, V.C. Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal Food Technology**, v.8, n.1, p. 43-56, 2005

SHOLS-AHRENZ, K.E.; SCHAAFSMA, G; VAN den HEUVEL, E.G.; SCHREZENMEIR, J. Effects of prebiotics on mineral metabolism. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p.459S–64S, 2001.

SILVA, M.R. **Efeito de uma bebida láctea fermentada fortificada com ferro no estado nutricional de ferro em pré-escolares**. Dissertação de mestrado. Viçosa, UFV, 2000. 75p.

SILVA, M.R.; CASTRO, T.G.; COSTA, N.M.B.; FERREIRA, C.L.L.F.; FRANCESCHINI, S.C.C.; LEAL, P.F.G.; REIS, F.P. Efeito de uma bebida Láctea fermentada e fortificada com ferro sobre o estado nutricional de ferro em pré-escolares. Viçosa-MG. **NUTRIRE: Revista Sociedade Brasileira Alimentação Nutrição**, v.23, p.23-32, 2002.

SILVA, M.R.; DIAS, G.; FERREIRA, C.L.L.; FRANCESCHINI, S.C.C.; COSTA, N.M.B. Growth of preschool children was improved when fed an iron-fortified fermented milk beverage supplemented with *Lactobacillus acidophilus*. **Nutrition Research** v. 28, p. 226–232, 2008.

STEFANIDOU, M.; MARAVELIAS, C.; DONA, A.; SPILIOPOULOU, C. Zinc: a multipurpose trace element. **Archives of Toxicology**, v.80, p. 1–9, 2006.

TANUMIHARDJO, S. A. Assessing Vitamin A Status, Past, Present and Future. **The Journal of Nutrition**, suppl, p. 290-293, 2004.

TUMA, R.B.; YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; MARQUES, H.O. Impacto da farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato no nível de hemoglobina de pré-escolares. **Revista Nutrição**, v. 16, n.1, p.29-39, 2003.

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 níveis de hemoglobina e a antropometria em pré-escolares. **Revista de Nutrição**, v.11, p.163-71, 1998

WEST, Jr, K. Vitamin A in nutritional anemia. IN: KRAEMER, K.; ZIMMERMANN, M. B. **Nutritional Anemia**. Sight and Life Press, 2007. Chapter 10. p.133-154

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programs**. Geneva: WHO; 1996.

WHO - World Health Organization. **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005**. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency. Geneva, World Health Organization, 2009.

WHO - World Health Organization. **WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age.** Methods and development. WHO (nonserial publication). Geneva, Switzerland: WHO, 2006.

WHO - World Health Organization. **Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005 : WHO global database on anaemia.** Geneva, World Health Organization, 2008. 51p.

WIERINGA T. F., DIJKHUIZEN A. M., WEST E. C., THURNHAM I. D., MUHILAL, VAN DER MEER M. W. Redistribution of vitamin A after iron supplementation in Indonesian infants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.651-657, 2003.

YASUDA, K. Supplemental Dietary Inulin Affects the Bioavailability of Iron in Corn and Soybean Meal to Young Pigs. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 3033–3038, 2006.

ZIMMERMANN, M. B.; BIEBINGER, R.; ROHNER, F.; DIB, A.; ZEDER, C.; HURREL, R.; CHAOUKI, N. Vitamin A supplementation in children with poor vitamin A and iron status increases erythropoietin and hemoglobin concentrations without changing total body iron. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 84, p.580-586, 2006

ZINSLY, P.F.; SGARBIERI, V.C.; PEREIRA DIAS, N.F.G.; JACOBUCCI, H.B.; PACHECO, M.T.B.; BALDINI, V.L.S. Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.4, p.1-8. 2001.

CONCLUSÕES GERAIS

O suplemento alimentar em pó, à base de soro de leite, fortificado com ferro na forma de fumarato ferroso e adicionado de prebiótico apresentou boa biodisponibilidade do mineral no estudo com animais.

No estudo com humanos, a eficácia do produto foi comprovada, principalmente no que se refere ao estado nutricional de ferro. Além de seu valor nutricional, o produto em pó é viável para transporte, armazenamento e utilização na alimentação institucional, vindo ao encontro das políticas nacionais de segurança alimentar e de combate às carências nutricionais da população brasileira, especialmente a mais carente e vulnerável.

Os resultados desta pesquisa demonstram, portanto, que a utilização do soro de leite como veículo para a fortificação de ferro, vitamina A, vitamina C, cobre e zinco vem agregar valor nutricional e de mercado a este resíduo da indústria de laticínios. Porém, novas tecnologias precisam ser aperfeiçoadas visando a produção de soro de leite em pó em larga escala e a custo viável para a indústria de alimentos.