BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

**AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E DO ESTADO NUTRICIONAL EM
RELAÇÃO AO ZINCO DE PRÉ-ESCOLARES SUBMETIDOS A UM PROGRAMA DE
FORTIFICAÇÃO COM FERRO**

FERNANDA MICHELAZZO CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. **SILVIA M. F. COZZOLINO**

São Paulo
1998

L6420

DEDALUS - Acervo - CQ

30100003262

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Bibliotecas e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP

A345a Albuquerque, Fernanda Michelazzo Cavalcanti de
Avaliação do consumo alimentar e do estado nutricional em relação
ao zinco de pré-escolares submetidos a um programa de fortificação
com ferro / Fernanda Michelazzo Cavalcanti de Albuquerque. - - São
Paulo, 1998.

120 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição
Experimental.

Orientador: Cozzolino, Silvia Maria Franciscato

1. Nutrição: Ciência dos alimentos 2. Zinco: Metabolismo
I. T. II. Cozzolino, Silvia Maria Franciscato Cozzolino, orientador.

641.1. CDD

FERNANDA MICHELAZZO CAVALCANTI DE ALBUQUERQUE

AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR E DO ESTADO NUTRICIONAL EM
RELAÇÃO AO ZINCO DE PRÉ-ESCOLARES SUBMETIDOS A UM PROGRAMA DE
FORTIFICAÇÃO COM FERRO

Comissão Julgadora

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Prof. Dr. SILVIA M. F. COZZOLINO
Orientador/ Presidente

Prof. Dr. MAURO FISBERG
1º. Examinador

Prof. Dr. CÉLIA COLLI
2º. Examinador

São Paulo, 08 de julho de 1998

**“Somos responsáveis por aquilo
que fazemos, pelo que não
fazemos e pelo que impedimos
de fazer.”**

ALBERT CAMUS

**Às mães, e à minha mãe, pela
preocupação e desejo de buscar
o melhor para suas crianças.**

**Ao meu pai, um exemplo de
pecar por excesso de zelo, pelo
constante incentivo e seguro
alicerce.**

**Ao meu marido, pelo presente
que ganhei na fase final desse
trabalho, meu filho Lucca.**

**Ao Lucca, um imprevisto vivo
dos muitos ocorridos na
elaboração desse trabalho, pelo
exemplo de determinação e pela
profunda felicidade à mim
proporcionada.**

**Aos meus irmãos, cunhados,
amigos e colegas pós-
graduandos, pelas oportunas
ajudas, em especial as
temperadas com bom humor.**

**À minha orientadora, pela
compreensão singular e apoio
nos momentos mais difíceis.**

AGRADECIMENTOS

Este trabalho tornou-se viável graças a participação de várias pessoas e Instituições que, de uma forma ou outra, contribuíram para sua concretização. À elas, registro os meus profundos agradecimentos e o reconhecimento que nada é possível sem integração, humildade, dedicação e confiança:

- À Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Norte;
- À Universidade de São Paulo;
- Ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas;
- À Profa. e orientadora Sílvia Maria Franciscato Cozzolino;
- Aos colegas do Laboratório de Minerais;
- Aos técnicos e funcionários do Laboratório de Minerais e do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental;
- Aos professores e colegas do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental;
- Às secretárias do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental e do curso de pós-graduação;
- À Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina;
- Ao Prof. Mauro Fisberg e sua equipe;

- Às creches envolvidas neste estudo;
- Aos professores, funcionários e mantenedores das creches estudadas;
- Às mães das crianças investigadas;
- Ao serviço bibliotecário do Instituto de Química da USP;
- Ao INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES (IPEN) de São Paulo e seus funcionários;
- À Profa. Vera A. Maihara da Divisão de Radioquímica do IPEN/CNEN;
- Ao estatístico José Reinaldo Riscal.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Às crianças participantes deste estudo que, com a sua ingenuidade e imaturidade peculiares, contribuíram para o avanço do conhecimento científico.

Às estagiárias Patrícia Lemos Roncador e Fernanda Carla Coelho, pelo empenho e companheirismo.

Aos colegas Lila Mina Harada, Lúcia de Fátima Campos Pedrosa e Sérgio Augusto Jabali Barretto pelo trabalho em equipe.

Ao colega Gilberto Simeone Henriques pela arte final da dissertação.

À funcionária Sandra Maria M. Nascimento, pelo pronto atendimento e bom humor para suportar as dificuldades.

À Moema Rodrigues dos Santos e Ângelo Antônio Alves Correa da Cruz, pela disponibilidade e competência.

Ao Ronaldo Alexandre Durante, pelas traduções, pelo computador e outras ferramentas de trabalho, como paciência e incentivo.

À Profa. Túlia Maria Clara C. Filisetti, pela orientação e apoio nas análises da Fibra Alimentar.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1. ZINCO	04
2.2. ANEMIA X FORTIFICAÇÃO	18
2.3. INTERAÇÃO FERRO E ZINCO	29
3. OBJETIVOS	38
3.1 GERAL	38
3.2. ESPECÍFICOS	38
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	39
4.1. CASUÍSTICA	39
4.1.1. CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO	40
4.2. MÉTODOS	42
4.2.1. CRONOGRAMA DA COLETA DE DIETA E MATERIAL BIOLÓGICO	42
4.2.2. DIETAS E SUPLEMENTAÇÃO	43
4.2.3. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL	44
4.2.4. ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DA DIETA OFERECIDA E ADEQUAÇÃO NUTRICIONAL	46
4.2.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO	47
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1. POPULAÇÃO	48
5.2. DIETAS E SUPLEMENTAÇÃO	55
5.3. ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO ZINCO	76
6. CONCLUSÕES	84
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

RESUMO

SUMMARY

ANEXOS

1. INTRODUÇÃO

Os minerais têm sido cada vez mais investigados não apenas em relação às suas funções no organismo mas também visando a elucidação de um possível papel na etiologia e/ou patogênese de doenças. O zinco tem sido estudado há muito e ganhado magnitude cada vez maior, à medida que foram estabelecidas suas relações com funções vitais no organismo. Sua importância na vida humana foi de fato reconhecida por Prasad e col. em 1961, onde evidenciaram o seu papel no crescimento e demonstraram que a deficiência de zinco é um fator etiológico importante no retardo da maturação sexual e crescimento como um todo.

A partir de então, investigações sobre as funções do zinco no organismo e conseqüentemente na saúde humana foram intensificadas. Gibson (1991) e Fairweather-Tait e col. (1995), têm relatado a alta prevalência da deficiência marginal de zinco em populações, especialmente as de maior risco nutricional como crianças.

Estudos da análise de dietas de indivíduos ou de grupos populacionais têm sido conduzidos e aprofundados, na tentativa de se determinar a real ingestão dos nutrientes. Estes dados são fundamentais para o diagnóstico do estado nutricional destes indivíduos, bem como para identificação dos grupos de maior risco nutricional, passíveis de programas de intervenção e recuperação nutricional.

A fortificação de alimentos com nutrientes essenciais tem sido uma das estratégias mais utilizadas e de resultados mais satisfatórios na luta contra as deficiências nutricionais específicas em todo o mundo. Surge como alternativa mais viável em programas de intervenção nutricional para correção e manutenção do estado nutricional.

Na anemia ferropriva, uma das deficiências nutricionais de maior prevalência no mundo, a fortificação de alimentos com ferro tem sido a estratégia predominante nas últimas décadas, em diversos países do mundo, com êxito no combate a tal carência.

As investigações atuais convergem para a determinação do veículo alimentar e da fonte de ferro mais apropriados para a fortificação, bem como para as possíveis interações entre este elemento e os demais constituintes da dieta.

Dentre as possíveis interações, as de ferro e zinco têm sido cada vez mais evidenciadas, especialmente em estudos de biodisponibilidade destes minerais. Tal interação é decorrente de um fenômeno competitivo durante a absorção e/ou utilização dos mesmos, quando ocorre um desbalanço na concentração do zinco e/ou do ferro de origem alimentar ou medicamentosa. As características químicas destes elementos são similares e predizem um antagonismo biológico, competindo entre si por ligantes de transporte e por receptores (COUZY, 1993).

Portanto, torna-se de importância a avaliação do efeito da fortificação alimentar com ferro no estado nutricional relativo ao zinco em crianças pré-escolares que constituem um grupo de risco nutricional tanto para anemia ferropriva como para a deficiência de zinco.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. ZINCO

Em 1869, Raulin foi o primeiro a demonstrar a essencialidade do zinco para o crescimento de fungos como “*Aspergillus Niger*” (PRASAD, 1969).

Todd e col., em 1934, com o objetivo de determinar o efeito do zinco na nutrição de animais, desenvolveram um estudo produzindo sinais da deficiência deste elemento em ratos verificando sua importância no crescimento dos mesmos. No final dos anos 40 e início dos anos 50, estes resultados foram confirmados em porcos, com o aparecimento de dermatite grave ou paraqueratose, coincidindo com o prejuízo do crescimento, diarreia, vômitos, anorexia e morte nos casos mais graves. Estes sintomas caracterizavam uma síndrome que ocorria freqüentemente quando estes animais eram alimentados com suplementos protéicos de origem vegetal e portanto com baixa ingestão de zinco (TUCKER, 1955).

O'Dell e Savage, em 1957 e 58, demonstraram o efeito da deficiência de zinco no crescimento de aves, e estabeleceram uma recomendação de zinco para as mesmas, correlacionando-a com o tipo de proteína, conteúdo de cálcio na dieta e disponibilidade do zinco a partir de fontes não dietéticas.

Outros autores estudaram a deficiência de zinco, estabelecendo sua essencialidade para diferentes animais e sua recomendação para algumas

dessas espécies (MILLER e MILLER, 1962; ROBERTSON e col., 1963; DYNNA e col., 1963; OTT e col., 1964; BARNEY e col., 1967; MILLS e col., 1967).

Entretanto, foi no início da década de 60 que a deficiência de zinco em humanos foi reconhecida. Prasad e col. (1961) investigaram 11 adolescentes iranianos com história de geofagia prolongada, comum entre crianças daquela região. Tais pacientes apresentavam uma marcante anemia hipocrômica devido à deficiência de ferro, hepatoesplenomegalia, baixa estatura e falta de desenvolvimento dos caracteres sexuais primários e secundários frente a uma deficiência alimentar, relacionada também à má nutrição protéica. Este quadro caracterizou uma síndrome, cuja causa básica constatada por Prasad e seus col. (1961) foi a má nutrição.

A deficiência de zinco em humanos tem sido estudada em diferentes regiões do mundo. Sandstead e col., em 1967, estudaram pacientes do Egito com a mesma síndrome do Iran, avaliando a resposta ao tratamento com uma dieta adequada, suplementada com ferro e zinco. Foram analisadas as funções endócrinas e suas manifestações. Os estudos da função hepática mostraram um comprometimento em relação a enzima transaminase, cuja atividade estava aumentada, o mesmo ocorrendo com a enzima fosfatase alcalina sérica. O tratamento com zinco acentuou estes aumentos, sugerindo uma atividade osteoblástica elevada.

Com a suplementação de zinco também foi observada uma acelerada maturação sexual, com aparecimento de pêlos pubianos e aumento da

genitália, concomitante com o crescimento ósseo linear. A terapia com ferro apresentou mudanças mais lentas ou ausentes. Os autores concluíram que vários fatores contribuíram para a patogênese da síndrome, entre eles, dieta com baixa biodisponibilidade de zinco, associada ao aumento das perdas corporais devido as hemorragias (por infestação com parasitas) e transpiração excessiva, comum em climas quentes ou temperados (SANDSTEAD e col., 1967; HALSTED e col., 1972).

Na tentativa de testar a hipótese de que fornecendo zinco na quantidade adequada e biodisponível ocorre crescimento acelerado e desenvolvimento sexual, Ronaghy e col., em 1969, elaboraram um experimento piloto com rapazes de uma grande escola em Marvdasht, sul do Iran, cuja altura estava abaixo do percentil 3, de acordo com os padrões de IOWA. Os rapazes foram selecionados de acordo com a idade e distribuídos em 3 grupos diferentes de suplementação (com placebo, ferro e zinco). O efeito do zinco foi notável na aceleração do índice de maturação sexual e no aumento significativo da espessura da cortical do osso metacarpo, consolidando as evidências do papel deste nutriente no crescimento e ratificando os resultados obtidos por Prasad e col., em 1961, no Iran e por Sandstead e col., em 1967, no Egito. Tais resultados demonstraram que a deficiência de zinco em humanos é um fator etiológico importante no retardo do crescimento e atraso na maturação sexual (RONAGHY e col., 1969).

Na década de 70, os estudos sobre zinco foram intensificados e ampliados. Diversas pesquisas surgiram relatando outros aspectos da

deficiência deste mineral, correlacionando-a com doenças crônicas ou de má absorção e demonstrando os efeitos da suplementação oral de zinco (HAMBIDGE e col., 1972; FAIRWEATHER-TAIT, 1988; GIBSON e col., 1989).

Hambidge e col., em 1972, detectaram em crianças menores de 4 anos de idade e aparentemente normais, concentrações excepcionalmente baixas de zinco no cabelo que foram correlacionadas com anorexia, percentil de crescimento baixo e paladar prejudicado. Tais resultados indicaram que as reservas de zinco do organismo podem ser reduzidas para este grupo etário. Estes autores também avaliaram os efeitos da suplementação alimentar com zinco e observaram que o paladar foi normalizado, com melhora no apetite e na ingestão da dieta, além do aumento na concentração de zinco no cabelo.

O papel fisiológico do zinco na sensação do gosto normal ou paladar já havia sido demonstrado em ratos por Mills e col., em 1969, com a restauração extremamente rápida do apetite após a introdução de suplementos de zinco em animais deficientes (MILLS e col., 1969). Hambidge e col., em 1972, constataram o mesmo efeito em humanos, mas foi Brinda que, em 1986, estudando pacientes com redução do sentido do gosto e olfato e com baixas concentrações de zinco na saliva, demonstrou que o papel do zinco na percepção do paladar é mediado pela gustina, uma proteína presente na saliva e dependente de zinco.

Foi em 1978 a primeira vez que se detectou, no Brasil, concentrações baixas de zinco sérico em indivíduos empregados em fábricas na área urbana de Manaus, que estavam correlacionadas com ingestões reduzidas de zinco.

Os pesquisadores constataram que a ingestão alimentar, assim como o zinco sérico, diminuía com a idade em ambos os sexos, sendo mais elevados para os homens em todos os grupos de idade e, variavam também de acordo com a renda familiar. Entretanto, sugeriram estar havendo uma adaptação orgânica, onde a baixa concentração de zinco no soro, decorrente da baixa ingestão do nutriente, estaria facilitando o seu uso e aumentando sua absorção (SHRIMPTON e col., 1983).

Existem muitos estudos e pesquisas na tentativa de elucidar os mecanismos pelos quais o zinco desempenha suas funções fisiológicas e bioquímicas. Keilin e Mann, em 1940, foram os primeiros a demonstrar uma função biológica específica do zinco, isolando a enzima anidrase carbônica, a qual cataliza a desidratação do ácido carbônico para que possa ser transportado e eliminado como dióxido de carbono. Esta enzima, que desempenha papel fundamental na homeostase ácido-base da vida orgânica, contém 0,33% de zinco, sendo este elemento essencial para que sua atividade ocorra.

A partir de então, outras enzimas como várias desidrogenases, peptidases, fosfatases, isomerases, transfosforilases e fosfolipases foram isoladas, demonstrando a presença do zinco e sua importância no metabolismo protéico, lipídico e glicídico de diferentes espécies e, em particular, sua interação com apoenzimas, o que determina sua atividade biológica característica. Durante a deficiência de zinco muitas enzimas dependentes deste mineral têm atividade reduzida nos tecidos. Pequenas

quantidades de zinco exógeno podem ativar algumas enzimas enquanto concentrações altas podem inibi-las, desta forma o zinco desempenha um papel regulador da atividade enzimática (PARASI e VALLE, 1969; MILLS e col., 1969; PRASAD, 1969; HALSTED e col., 1972).

Estas funções biológicas ficaram bem definidas já nos anos 60, demonstrando que o zinco atua de uma forma dinâmica no metabolismo animal e humano, interferindo diretamente na concentração plasmática de ácidos graxos (metabolismo lipídico), na tolerância à glicose (metabolismo glicídico) e na forma molecular de proteínas ao se combinar com aminoácidos (metabolismo protéico). Sandstead e col. (1967), estudando ratos com dietas deficientes em zinco verificaram o aumento da degradação de gorduras, com conseqüente redução do tecido adiposo, elevação do ácido graxo plasmático e também, queda na tolerância à glicose, a qual retorna ou não ao normal, dependendo da fonte glicídica da alimentação. Os autores acreditam que estas mudanças metabólicas possam ser decorrentes da redução do apetite nos animais deficientes em zinco, bem como de uma menor ingestão nutricional total em função dos padrões de consumo alimentar e/ou por acúmulo de metabólitos não assimilados durante a deficiência, e/ou ainda pela própria liberação limitada de zinco a partir dos tecidos, devido a deficiência.

Seu papel estrutural e funcional nas moléculas de proteínas traduz sua maior importância biológica, culminando com a participação fundamental na expressão do potencial genético. O zinco, presente em quantidades significativas no RNA, desempenha papel na organização polimérica das

macromoléculas como DNA e RNA. Ratos depletados de zinco apresentam conteúdo menor de RNA no fígado quando comparados com os controles e esta deficiência parece induzir defeitos na síntese ou prejuízo da função do RNAm. O envolvimento de enzimas contendo zinco no metabolismo de ácidos nucleicos expressa o efeito imediato no crescimento e reparo celular, resultando na rápida parada desse crescimento e divisão/ multiplicação/ replicação celular frente a uma deficiência, até a ausência de células para a síntese de componentes como enzimas e hormônios, os quais regulam todo o metabolismo do organismo (SANDSTEAD e col., 1967; MILLS e col., 1969 e 1989; PRASAD, 1969; BRINDA, 1986). Os pesquisadores acreditam que a síntese de DNA é afetada antes mesmo dos estágios de desenvolvimento da deficiência de zinco e anterior a alteração do apetite.

O zinco tem igual importância na adaptação da visão noturna, pois a retinol-desidrogenase, enzima essencial para a oxidação da vitamina A-álcool (retinol) à forma ativa vitamina A-aldeído (retinaldeído), e a RBP (retinol binding protein), responsável pelo transporte da vitamina A, são dependentes de zinco. A deficiência desse mineral leva à cegueira noturna pela depleção da enzima e/ou do transportador (MILLS, 1989).

Estudos em animais de laboratório e em humanos mostraram que o zinco modula a resposta imune. Durante a deficiência, a função fagocitária, imunidade celular e humoral e suas intercomunicações ficam prejudicadas. Trabalhos sugerem que os linfócitos do timo (células T) sejam dependentes do zinco (BRINDA, 1986; MILLS, 1989).

Crianças com desnutrição protéico-energética, apresentando diarreia e infestações parasitárias tornam-se susceptíveis à deficiência de zinco durante a fase de recuperação do estado nutricional, devido a uma maior necessidade pelo rápido crescimento, associado ao aumento das perdas gastrintestinais, hiperzincúria e menor biodisponibilidade do zinco (ingestão inadequada). A suplementação com zinco tem demonstrado efeitos significativos nos mecanismos de defesa do organismo deste grupo etário (CASTILLO-DURAN e col., 1987; GIBSON e col., 1991).

Diversas condições clínicas também predis põem indivíduos à deficiência de zinco. A nutrição parenteral sem suplementação de zinco, durante tempo prolongado precipita estágios da deficiência do mineral, como lesões de pele e alopecia. Anorexia nervosa, ingestão excessiva de álcool, cirrose hepática, síndrome de má absorção, insuficiência pancreática e renal crônica e diabetes mellitus também podem levar à deficiência, por baixa captação de zinco pelos tecidos, por hiperzincúria ou por reduzida capacidade absorptiva para o zinco. Pacientes queimados têm uma grande perda de proteína corpórea e de zinco. Desordens genéticas como acrodermatite enteropática, anemia falciforme estão ligadas à deficiência de zinco e seus sintomas podem ser revertidos com a suplementação do mineral (BRINDA, 1986; FAIRWEATHER-TAIT, 1988; MILLS, 1989).

É importante citar que o zinco também está envolvido na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a oxidação e peroxidação lipídica e reduzindo a formação de radicais livres. Este papel o

torna um nutriente antioxidante, sendo ele componente estrutural da superóxido dismutase (FAIRWEATHER-TAIT, 1988).

O zinco compõe cerca de 2,0 g do total de um organismo adulto (de 1,4 à 2,3 g), dos quais 80% é encontrado em ossos, músculos voluntários, fígado e pele. É também encontrado no pâncreas, rins e em outros tecidos e fluidos corporais como próstata, espermatozóides, diversas partes do olho, cabelo, unhas e sangue. Os recém nascidos possuem 140 mg de zinco ao nascer, sendo a maioria transferido da mãe durante o primeiro trimestre de gestação (FAIRWEATHER-TAIT, 1988; SOLOMONS, 1988). No sangue, cerca de 80% do zinco é encontrado nos eritrócitos, 16% no plasma ligado principalmente à albumina e cerca de 3% em leucócitos (BRINDA, 1986). A concentração plasmática está em torno de 100 µg/dL (± 10) em indivíduos adultos, sendo que os homens possuem maior concentração que as mulheres, que por sua vez possuem maior concentração que as crianças (MILLS, 1989).

Em pré-escolares, a variabilidade do zinco plasmático é muito grande em função dos padrões de consumo alimentar em diferentes regiões do mundo. Entretanto, o ponto de corte para estado limítrofe de zinco é de 68 µg/dL (10,4 µmol/L), dado freqüentemente citado na literatura (WALRAVENS e col., 1983; GIBSON e col., 1989).

Mesmo em estado de inanição, os níveis plasmáticos podem permanecer constantes, acreditando-se que haja uma adaptação do organismo (KRAUSE e MANN, 1985; SHRIMPTON e col., 1978). Prasad e col., em 1963, já relatavam tal adaptação, em estudo do metabolismo de zinco nos pacientes

com a síndrome, demonstrando que a excreção de zinco nas fezes e urina era menor nestes pacientes quando comparados com indivíduos normais, indicando a conservação corpórea do mineral durante o estado de deficiência de zinco. A quantidade de zinco excretada pelo organismo faz parte do mecanismo homeostático de regulação (FAIRWEATHER-TAIT, 1992).

Em dietas mistas, tipicamente ocidentais, cerca de 30 à 40% do zinco é absorvido em diferentes regiões do intestino, sugerindo-se maior eficiência no duodeno (in vitro) e jejuno proximal (in vivo). Esta porcentagem e sítio de absorção podem ser alterados com mudanças na composição de alimentos e fonte de zinco ingerido, estando também relacionada com a idade e estado fisiológico/ nutricional de zinco. A fração de zinco absorvida diminui com o aumento da dose e se eleva rapidamente em resposta às reduções de ingestão (FAIRWEATHER-TAIT, 1988 e 1992; SOLOMONS, 1988).

A dieta portanto, desempenha papel importante na determinação da biodisponibilidade do zinco, como visto anteriormente. Proteína animal, histidina, leite materno, vitamina D, vinho tinto são fatores que promovem sua absorção e utilização; por outro lado, um desbalanço no índice molar entre fitato, cálcio e zinco ou ferro e zinco, cromo e cádmio podem atuar de maneira inversa devido as interações nutricionais (HAHN e EVANS, 1975; PIKE, 1984; FERGUSON e col., 1989).

No processo da passagem pelo trato gastrintestinal durante a digestão de uma refeição, o zinco torna-se livre para formar complexos com ligantes endógenos e exógenos, como por exemplo, pode se ligar à histidina e ser

absorvido como complexo histidina-zinco. Isto traduz o mecanismo por difusão mediado por carreador, onde a resposta homeostática se dá em função do suprimento dietético de zinco (FAIRWEATHER-TAIT; 1988; SOLOMONS, 1988). Em concentrações baixas de zinco, tal processo ocorre por saturação cinética. Jackson e Lowe (1992), em sua revisão, relatam que em estudos de cinética de absorção, a transferência do zinco a partir do intestino delgado se dá por mecanismo específico, onde o transporte ocorre por proteínas ligantes de zinco, cuja cinética é mediada por carreador.

Segundo Fairweather-Tait, em 1988, há 3 estágios para a absorção do zinco: 1) No lumen intestinal se liga à fatores endógenos (ligantes de zinco) e é transferido para dentro da célula; 2) Ao entrar no citoplasma, rapidamente se liga à uma proteína de baixo peso molecular para depois se transferir ativamente para a proteína de alto peso molecular; 3) Finalmente é removido da membrana basolateral das células epiteliais para entrar na circulação sistêmica.

Já Solomons, em 1988, descreveu 4 destinos para o zinco dentro da célula: 1) Ser usado no local por propósitos nutricionais da célula; 2) Continuar sua passagem pela célula; 3) Substituir outro íon de zinco no “pool”; 4) Ser capturado e mantido dentro da célula firmemente ligado à metalotioneína.

O plasma é a maior via de transporte do zinco pelo corpo. Assim que é liberado pelas células intestinais, o zinco é conduzido pela circulação portal para o fígado, onde 65% deste está associado à albumina e o restante à outras proteínas como alfa-2-macroglobulina e transferrina (FAIRWEATHER-

TAIT, 1988). Outros autores já citam que 40% está firmemente ligado a alfa-2-macroglobulina e não participa do transporte de forma relevante, e os 60% restantes ligados à albumina (55%) e à aminoácidos (5%), fornecendo o transporte e distribuição do nutriente aos tecidos. Posteriormente é redistribuído à outros tecidos, preferencialmente aos ossos e músculos.

O organismo tem desenvolvido sofisticados mecanismos que regulam a utilização do zinco, assegurando sua distribuição e concentração para a realização apropriada de suas funções; mantendo quantidades adequadas nos tecidos por período indefinido e excretando quantidades seguras. Tal mecanismo homeostático eficiente é que controla as concentrações corpóreas de zinco (MILLS, 1989; FAIRWEATHER-TAIT, 1992).

Estudos mostram o retorno do zinco à circulação frente a um aumento na ingestão de zinco com a refeição, durante a sua passagem pelo duodeno, através de sua presença na secreção pancreática. Solomons, em 1988 descreve uma importante circulação entero-hepática de zinco, responsável pela manutenção do mineral no organismo.

As necessidades do organismo para este nutriente é que parecem determinar a manutenção da homeostase, através da absorção, excreção gastrointestinal e transporte generalizado de membranas (JACKSON e LOWE, 1992).

A rota primária de excreção do zinco em indivíduos saudáveis é pelas fezes. O zinco endógeno entra no lúmen intestinal como um constituinte de metaloproteínas secretadas pela mucosa intestinal e pâncreas, pelo

catabolismo de células da mucosa intestinal descamadas e pela passagem direta através da mucosa, envolvendo um mecanismo não identificado (PIKE, 1984). Da porção não absorvida, até 1,0 mg pode ser perdido também pela transpiração em climas quentes, onde a sudorese é mais elevada. A excreção urinária de zinco não ultrapassa 600 µg/dia em adultos saudáveis. As perdas por descamação da pele, queda de cabelo, não chegam a 1,0 mg zinco/dia. Segundo Solomons, em 1988, uma ejaculação pode conter mais de 1,0 mg de zinco.

As mudanças na excreção gastrointestinal de zinco parecem responder mais rapidamente às alterações de ingestão dietética do que as mudanças na absorção. Entretanto, quando os mecanismos de homeostase são insuficientes para competir com uma grande redução ou excesso de zinco na dieta, há um “desvio” da via fisiológica. Por exemplo, quantidades de zinco depositadas no cabelo são mais susceptíveis à um aumento com a ingestão dietética desse nutriente e, inversamente, a alimentação deficiente em zinco reduz sua concentração em certos fluidos corpóreos e tecidos no primeiro momento. Isso faz parte do mecanismo homeostático desenvolvido pelo organismo para manter as concentrações de zinco nos tecidos mais susceptíveis aos sintomas da deficiência, bem como a deposição preferencial do excesso de zinco no cabelo, em resposta à prevenção de maiores danos em outros tecidos mais susceptíveis à um excesso do mineral (MILLS, 1989).

Contudo, Fairweather-Tait, em 1988, relata um estudo com ⁶⁵Zn, identificando 4 principais sítios que regulam o metabolismo de zinco: -

Absorção no intestino; - Excreção na urina; - Troca com eritrócitos e músculo; e - Secreção no interior do intestino.

A avaliação laboratorial para determinação do estado nutricional do indivíduo em relação ao zinco reúne testes bioquímicos e funcionais, que são utilizados para identificar estados subclínicos da deficiência e está se tornando de maior importância como medida preventiva para o crescimento, relativos à deficiência nutricional específica. O chamado teste bioquímico estático pode medir a concentração de zinco presente em material de biópsia, refletindo o conteúdo total do nutriente no organismo ou estoque tecidual mais sensível à depleção. Os testes funcionais podem avaliar o desempenho do organismo e da função biológica dependente do nutriente. Ambos os testes, para não serem afetados por fatores técnicos, exigem padronização da amostragem e do procedimento da coleta. Gibson, em 1990, recomenda a medida de concentração de zinco no sangue total ou frações de sangue (plasma/soro, eritrócito, leucócito e neutrófilo), urina, cabelo, saliva, unhas, além de enzimas dependentes de zinco, testes de tolerância oral do zinco e teste de intensidade do paladar. O zinco eritrocitário tem sido um parâmetro recentemente utilizado. Considerando que a meia-vida dos eritrócitos é de cerca de 120 dias, a concentração de zinco nos glóbulos vermelhos irá refletir mudanças nos estoques de zinco corpóreo por período mais longo e pode representar um bom parâmetro de estado nutricional em relação a este nutriente (GIBSON, 1990).

2.2. ANEMIA X FORTIFICAÇÃO

A anemia por deficiência de ferro, sua causa mais comum, persiste como um problema intenso e grave de saúde pública. O Comitê das Nações Unidas, no primeiro relato da situação da nutrição no mundo (1987), já divulgava a prevalência de anemia segundo região geográfica, grupo etário e sexo. Estimava que 35% das mulheres em idade reprodutiva eram levemente anêmicas, sendo 50% em países em desenvolvimento. Para as gestantes este valor foi ultrapassado, chegando ao redor de 60%, e para crianças de 0 à 12 anos, ao redor de 50% nos países em desenvolvimento (OPAS, 1990).

No Brasil, os estudos de prevalência de anemia são dispersos, feitos com amostras pequenas e regionalizadas e sob utilização de diferentes metodologias, o que dificulta traçar um perfil da evolução da anemia no país. Vannucchi e col. (1992), fazendo uma revisão sobre o assunto, relatam os estudos abrangendo o período de 1965 à 1990 apontando elevadas prevalências de anemia em crianças, adolescentes e gestantes. Estes grupos são vulneráveis à deficiência de ferro devido à necessidade de aumento rápido da massa celular vermelha e acentuado crescimento dos tecidos.

Destacando os estudos realizados com crianças pré-escolares, pode-se verificar nesta revisão de Vannucchi e col. (1992), os seguintes resultados:

Autor(es)	ano	local	% de anemia (Hb<11 g/ dL)
SIGULEM, D.M. e col.	1978	SP (SP)	22,7
MONTEIRO, C.A. e SZARFARC, S.C.*	1987	SP (SP)	53,7**
LIRA, P.I.C. e col.	1985	PE	40,0
DRICOTDANS, C.H. e col.	1984	PB	50,0
RONCADA, M.J. e col.	1984	SP (Cotia)	2,4
SICHERI, R.	1987	SP (SP)	26,0
TONE, L.G.	1983	SP (Pradópolis)	24 ,5
ARAÚJO, O.M. e col.	1987	MG (BH)	21,5
SILVA, N.B. e col.	1988	AM (Manaus)	60,5
MARIATH, J.G.R. e col.	1988	PB (Interior)	41,9
<u>ASSIS, A.M.O. e col.</u>	<u>1990</u>	<u>BA (Cansanção)</u>	<u>22,4</u>

*sete anos mais tarde, no mesmo local e grupo etário de SIGULEM e col. (1978)

**metade delas estava com anemia severa (Hb < 9,5 g/ dL)

Em 1968 a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu a anemia nutricional como o estado onde a quantidade de células vermelhas circulantes está reduzida abaixo das concentrações normais e se diagnostica medindo a concentração de hemoglobina no sangue (OMS, 1983). Segundo DeMaeyer e Adiels-Tegman (1985), este mecanismo é controlado homeostaticamente, variando levemente entre os indivíduos normais, cuja distribuição dentro do mesmo grupo etário e sexo é simétrica e Gaussiana. A própria OMS estabeleceu limites inferiores de normalidade, sendo que crianças de 6 meses

à 6 anos de idade que apresentarem concentrações de hemoglobina menores que 11 mg/ dL serão consideradas anêmicas.

A anemia é causada pela deficiência de fatores hematopoiéticos como o ferro, folato e vitamina B₁₂, sendo a deficiência de ferro responsável por 90% dos casos. Desordens genéticas com hemólises (anemia falciforme, talassemia), infecções parasitárias com aumento das perdas de sangue, baixa absorção e/ou utilização de ferro, ingestão alimentar total ou de ferro insuficientes, também podem resultar em anemia nutricional (DeMAEYER e ADIELS-TEGMAN, 1985; VANNUCCHI e col., 1992).

Os estudos de análise de dietas ocidentais apontam uma variação na absorção do ferro de 1 à 30%, em função das reservas do mineral, bem como da forma química ingerida (Fe heme ou Fe não heme). A presença de inibidores ou promotores da absorção e/ou utilização determinam a biodisponibilidade do ferro, que em dieta habitual da população brasileira está na ordem de 7%, sugerindo que a inadequação no consumo do mineral é muito mais qualitativa do que quantitativa (VANNUCCHI e col., 1992; CHAUD e FREITAS, 1994).

A anemia nutricional pode causar redução da capacidade de trabalho pela diminuição da disponibilidade de oxigênio nos tecidos e resultar em morbidade e mortalidade. Baynes e Bothewell (1990) descrevem as conseqüências biológicas da deficiência de ferro, envolvendo processos metabólicos como transporte de elétrons, metabolismo de catecolaminas, síntese de DNA e sistemas enzimáticos, com prejuízo no desempenho físico, crescimento corpóreo, função neurológica e resposta imune.

A diminuição de enzimas dependentes de ferro decorrente da deficiência deste mineral, afeta todas as células, comprometendo a respiração mitocondrial e o metabolismo energético. Produz efeitos no músculo (hipotonia e tendência à inatividade física); no sistema nervoso central (redução da síntese de catecolaminas com sintomas de irritabilidade, fadiga, atenção diminuída, apatia e falta de interesse); na pele e mucosas (estomatite angular, glossite, esofagite, unhas fracas); no sistema digestivo (anorexia, diminuição da acidez gástrica, podendo levar à síndrome de má absorção); e no sistema imunológico (redução da atividade bactericida e imunidade celular) (SZARFARC e col., 1995).

Após o nascimento, ocorre mudanças no metabolismo de ferro e na taxa de eritropoiese. A concentração de hemoglobina cai abruptamente nos primeiros 2 meses de vida independente da ingestão de ferro, e, seus estoques, tornam-se depletados aos 4 meses caso não haja suplementação exógena adequada. Depois do quarto mês, a concentração de hemoglobina aumenta levemente de seu valor médio de 11 mg/ dL e se mantém em cerca de 12,5 mg/ dL durante o restante do primeiro ano de vida, dependendo da oferta de ferro pela alimentação, necessária já aos 6 meses de idade em crianças à termo com aleitamento materno (DALLMAN e col., 1980).

A mais alta prevalência de anemia por deficiência de ferro ocorre entre os 6 meses e o terceiro ano de vida, quando a necessidade do mineral aumenta para cobrir a taxa de crescimento, e, concomitantemente, os estoques se depletam pelo desmame e pela dieta que não oferece ferro suficiente ou com boa biodisponibilidade para suprir esta demanda

aumentada. Durante o período pré-escolar, a anemia também é um problema comum, já que freqüentemente a composição da dieta é desfavorável à absorção do ferro. O consumo de cereais é geralmente alto, contendo fibras e fitatos que podem restringir a absorção do mineral. O alto consumo de leite pode prejudicar a biodisponibilidade do ferro que forma complexos insolúveis com o cálcio e fósforo. Fatores econômicos também interferem no limite de ingestão de alimentos fonte ou favoráveis à absorção do ferro, especialmente em países em desenvolvimento (VANNUCCHI e col., 1992; DeMAEYER e ADIELS-TEGMAN, 1985; SZARFARC e col., 1995).

Dada a importância do ferro e a alta prevalência de anemia em diferentes grupos populacionais e a tendência de agravamento da situação sugerida por estudos de consumo alimentar, além dos problemas sócio-econômicos que os países em desenvolvimento estão sujeitos, as políticas de prevenção da deficiência de ferro devem ser mais consistentes, direcionadas e constantemente avaliadas. Medidas de intervenção são fundamentais e emergenciais, especialmente no tocante à anemia nutricional, com a implantação e/ou reavaliação de programas institucionais ou governamentais, em nível populacional.

A prevenção, controle ou tratamento da anemia ferropriva podem ser implementados com suplementação medicamentosa de ferro e/ou fortificação de alimentos básicos com compostos de ferro, além da educação contínua associada ao aumento do consumo do nutriente. A melhoria da qualidade dos serviços de saúde e saneamento, bem com o controle das infestações

parasitárias e doenças inflamatórias, também contribuem para a solução deste problema.

Dallman e col., em 1980, descreveram conceitos para o uso do ferro, segundo as publicações do Grupo Consultivo Internacional de Anemia Nutricional da OMS: o termo suplementação refere-se ao uso do nutriente na forma líquida, em tabletes ou comprimidos, em doses farmacológicas; e o termo fortificação à adição do nutriente ao alimento (DALLMAN e col., 1980).

Mejía (1994), descrevendo o histórico da fortificação de alimentos, cita o termo nutrificação, o qual inclui dois processos que visam melhorar o valor nutricional dos alimentos: processos de enriquecimento e fortificação, onde o primeiro consiste em restaurar nutrientes perdidos durante o processamento alimentar, adicionando quantidades aproximadamente iguais ao conteúdo natural no alimento antes do processamento; e o segundo consiste em adicionar nutrientes que podem ou não estar presentes naturalmente nos alimentos, cujas quantidades adicionadas podem ser maiores àquelas presentes antes do processamento. O autor discute os princípios de se adicionar os nutrientes que são dependentes do objetivo a que se pretende, como:

- manter a qualidade nutricional do alimento;
- manter a concentração adequada do nutriente para corrigir ou prevenir deficiência específica na população ou grupos de risco;
- aumentar o valor nutricional do produto;
- prover certas funções tecnológicas no processamento alimentar.

Vários pesquisadores têm direcionado seus estudos à procura de alimentos que sirvam de veículo para o nutriente, que sejam consumidos de forma habitual pela população ou grupo a ser atingido, que sejam viáveis técnica e financeiramente para a fortificação e que atendam a demanda de ferro, sem prejudicar a demanda de outros nutrientes. Estes alimentos incluem cereais e derivados como farinha de trigo, amido de milho, biscoitos, pão; leite e produtos lácteos como formulações infantis, iogurtes; sal; açúcar, café; condimentos, curry; misturas vegetais; bebidas tipo refrescos, refrigerantes; e soluções parenteral e enteral (VANNUCCHI e col., 1992; MEJÍA, 1994).

A escolha do componente ou fonte de ferro, entretanto, constitui o maior desafio dos pesquisadores, uma vez que o ferro é altamente reativo e pode provocar mudanças organolépticas no alimento e efeitos colaterais no organismo.

O sulfato ferroso é amplamente usado em pães e produtos de padaria com breve tempo de estoque; sais de ferro também são adicionados às formulações lácteas (BAYNES e BOTHWELL, 1990). Comumente a administração de sais de ferro na forma ferrosa é preferencialmente via oral, como suplementação farmacológica no tratamento da anemia ferropriva já instalada. Apesar de ser uma das formas mais facilmente absorvida, o sulfato ferroso pode causar efeitos colaterais significantes no trato gastrointestinal, como diarreia, constipação, vômito, dores abdominais e até necrose hemorrágica intestinal (CHAUD e FREITAS, 1994).

Entretanto, Schultink e col. (1995), ao compararem a administração do sulfato ferroso (30 mg de Fe elementar) em doses diárias e em 2x/ semana, em

crianças durante 2 meses, observaram que, embora o estado hematológico de ambos os grupos suplementados tenha melhorado significativamente, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os grupos, quando os resultados foram corrigidos para concentração inicial de hemoglobina, indicando que crianças deficientes em ferro respondem à suplementação semanal comparavelmente à suplementação diária. A suplementação menos freqüente também pode ter efeitos positivos no tocante à redução do custo e dos efeitos colaterais, especialmente no que se refere a interação com outros nutrientes como por exemplo no caso do zinco.

Outros compostos de ferro também são usados no tratamento da anemia: complexos de Fe com dextrinas, citrato férrico amoniacal, sais ferrosos de ascorbato, succinato, fumarato, sacarato, aspartato e lactato; todos com propriedades similares às do sulfato ferroso (CHAUD e FREITAS, 1994). O ortofosfato de Fe, juntamente com um promotor da absorção de ferro, também tem sido utilizado. Ele apresenta uma estabilidade acima de 9 meses quando estocado e provê uma biodisponibilidade para o ferro considerada satisfatória (BAYNES e BOTHWELL, 1990).

Hurrell e col. (1989) compararam a absorção em adultos, de diversos sais de ferro encapsulados com ferro radioativo: succinato ferroso, fumarato ferroso, sacarato férrico e pirofosfato férrico (^{55}Fe) e sulfato ferroso (^{59}Fe). Dois estudos foram conduzidos: no primeiro, a absorção do ferro foi comparada a partir de cereal infantil fortificado com fumarato ferroso, com succinato ferroso ou com sulfato ferroso; no segundo estudo, a absorção do sacarato férrico, pirofosfato férrico e sulfato ferroso foram avaliadas. Todos oferecendo cerca

de 7,5 mg de Fe elementar. Os autores observaram que não houve diferença na absorção entre fumarato e sulfato ferroso, enquanto ocorreu valores distintos para o succinato ferroso, sacarato e pirofosfato férrico, quando comparados com sulfato ferroso, sendo que o fumarato e o succinato ferroso se mostraram fontes altamente disponíveis de ferro, podendo ser utilizados como agentes fortificantes em cereais infantis sem causar oxidação lipídica ou descoloração.

Datta e col. (1982) usando sal fortificado com ortofosfato férrico relata boa aceitação em crianças escolares de até 15 anos de idade, vivendo em ambiente de risco de infestação parasitária. Eles estudaram populações vivendo em áreas rurais e urbanas na Índia, suplementando-as por 18 meses. Cada quilo de sal continha 1 g de Fe. Concluíram que o programa de combate à anemia foi efetivo, com melhora do estado hematológico, mesmo na presença de infestação parasitária. O sal teve uma boa aceitação em toda população e nenhum efeito colateral foi observado.

A hemoglobina animal também tem sido investigada na fortificação de alimentos com sucesso. Crianças escolares e pré-escolares, consumindo biscoitos fortificados como merenda em escolas ou creches, tiveram elevação na concentração de hemoglobina e ferritina séricas, melhorando ou adequando o seu estado nutricional em relação ao ferro (NOGUEIRA e col., 1992; WALTER e col., 1993; BAYNES e BOTHWELL, 1990).

Compostos quelados com ferro vêm sendo estudados, com relatos de ausência de efeitos colaterais gastrintestinais ou de interação com outros nutrientes como o zinco, dado ao sistema de liberação do ferro no lúmen

intestinal. Estes quelados transferem o ferro para proteínas carreadoras ou de ligação, ou aos próprios receptores na mucosa. Sua ligação com o ferro é suficientemente forte para evitar a liberação do íon em sítios onde ele possa interagir e possuem alta solubilidade próximos aos sítios de absorção (CHAUD e FREITAS, 1994; TORRES e col., 1996).

O quelante ferroetilenodiaminotetracetato sódico (NaFeEDTA) tem sido bastante utilizado na fortificação de alimentos. Ele é estável e menos susceptível à ligantes inibidores presentes em dietas como por exemplo, à base de cereais. O íon férrico é absorvido pela via fisiológica normal de absorção do ferro, na forma dissociada do EDTA; a forma complexada absorvida, que corresponde cerca de 1%, é excretada pela via urinária; e nenhum efeito negativo foi encontrado na absorção do zinco (BAYNES e BOTHWELL, 1990; CHAUD e FREITAS, 1994).

Entretanto, razões molares EDTA/Fe são estabelecidas visando a otimização da absorção do ferro, uma vez que altas quantidades de Na₂EDTA adicionadas à refeição padrão americana inibiu a absorção do mineral. À razões molares EDTA/Fe ≤ 1 , o ferro proveniente do sulfato ferroso associado ao EDTA tem melhor índice de absorção quando comparado com o do sulfato ferroso sem EDTA. A natureza da refeição administrada conjuntamente, também influencia a absorção do ferro, onde um estudo mostrou que a refeição de batata produziu uma melhora moderada, enquanto a refeição de maçã reduziu significativamente a absorção do ferro (MacPHAIL e col., 1994).

Outros compostos de ferro complexados com proteínas e/ou peptídeos têm sido mais recentemente investigados. Eles são denominados

ferroaminoquelato (Fe-aa) ou quelatos de ferro. Pesquisas realizadas têm demonstrado uma melhor absorção do mineral e resultados nas concentrações plasmáticas mais duradouros quando comparados ao sulfato ferroso (CHAUD e FREITAS, 1994).

Fisberg e col (1995) analisaram o efeito da suplementação de ferro no controle de anemia em crianças pré-escolares, utilizando queijo “petit suisse” fortificado com Fe-aa por 90 dias, fornecendo 2 mg de Fe elementar. Os autores verificaram tolerância extremamente boa e 100% de aceitação, um aumento significativo na concentração de ferritina, mas não nas concentrações de hemoglobina e hematócrito, e nenhuma mudança nas características organolépticas do produto durante o tempo de estocagem.

Também foi verificada a eficácia da fortificação do leite fluido com Fe-aa no combate à deficiência de ferro em crianças menores de 4 anos, recebendo 1 litro do alimento/ dia, contendo 3 mg do composto, por um período de 12 meses. O quelato de ferro apresentou boa solubilidade, não provocou mudanças organolépticas no alimento e produziu redução significativa da anemia, inclusive maior quando comparada à redução produzida pelo leite em pó fortificado com sulfato ferroso. Esta redução da anemia só não ocorreu para crianças menores de 1 ano de vida, sugerindo quantidade insuficiente de ferro suplementado para cobrir as necessidades deste grupo etário. Os autores do estudo ainda relatam que, em pesquisas com ratos, o Fe-aa tem mostrado uma absorção 4 vezes superior à do sulfato ferroso, devido a ligação do íon ferro com amino-ácido, possibilitando sua absorção de forma passiva, sem

interferência com agentes inibidores do ferro presentes no lúmen intestinal (TORRES e col., 1996).

2.3. INTERAÇÃO FERRO E ZINCO

Nos sistemas biológicos, nenhum nutriente atua isoladamente. O metabolismo orgânico é constituído de ações e reações desempenhadas por substâncias das mais complexas às mais simples como um nutriente na sua forma pura, prontamente dissociado. Tudo ocorre em padrões interrelacionados, num processo regulado e controlado de maneira a prover o melhor funcionamento destes sistemas. Obviamente, estes mecanismos sofrem influências e desajustes ocasionados por diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, dependendo do meio em que o organismo está situado e seu comportamento frente a situações adversas (COUZY e col., 1993).

Um nutriente pode sofrer influência metabólica em função do comportamento de um ou mais nutrientes no mesmo plano de atuação (SOLOMONS, 1983). Esta contínua interação revela a complexidade de ação de cada nutriente e diversidade dos resultados nos diferentes organismos, produzindo com isto um crescente interesse, e desafio, por parte dos pesquisadores que buscam maiores elucidações no campo nutricional, visando a melhoria da saúde e qualidade de vida.

Couzy e col. (1993), situam possíveis mecanismos de interação de minerais e suas implicações, que podem ter significância para a saúde

humana. Eles classificam como DIRETA, a interação ocasionada pelo fenômeno competitivo que ocorre durante a absorção intestinal e/ou utilização tecidual do mineral; e INDIRETA quando a interação envolve o metabolismo propriamente dito, mediado por deficiência ou toxicidade de um dos minerais envolvidos, resultando em mudanças hormonais ou dano tecidual.

As interações entre minerais essenciais podem ter efeitos graves na saúde humana no momento em que ocorre um desbalanço nas concentrações de dois ou mais nutrientes na dieta, reduzindo ou aumentando suas biodisponibilidades. Como consequência pode-se observar síndromes de deficiência ou de toxicidade, como já detectado por Prasad e col., em 1961 (PRASAD, 1963).

O início dos estudos sobre interações de minerais deu-se nos anos 60, com experimentos realizados em animais de laboratório usando traçadores isotópicos radioativos, bem como com a manipulação das razões molares dos minerais na alimentação (SOLOMONS, 1983). Os resultados produzidos demonstravam as manifestações exacerbadas da deficiência ou da toxicidade de um mineral pela quantidade excessiva de outro.

Entretanto foram Hill e Maltrone, em 1970, que definiram os parâmetros químicos, “in vivo” e “in vitro”, das interrelações entre elementos de transição. O estudo resultou na definição clássica de que elementos possuindo propriedades físico-químicas similares atuarão antagonicamente entre si em sistemas biológicos. Os autores demonstraram o efeito do aumento de zinco na dieta interferindo no papel do cobre, no tocante à hematopoiese,

crescimento e sobrevivência de galinhas deficientes em cobre (HILL e MALTRONE, 1970).

O conceito de biodisponibilidade mais recentemente descrito por Fairweather-Tait consiste na porção do mineral presente no alimento, refeição ou dieta que é utilizada para funções normais do organismo (FAIRWEATHER-TAIT, 1992). Entretanto, no último congresso realizado na Holanda, foi proposto um novo conceito: - Biodisponibilidade é a fração de qualquer nutriente ingerido que tem o potencial para suprir demandas fisiológicas em tecidos alvos. *

Pesquisas vêm sendo realizadas e têm confirmado tais interações, evidenciando sobretudo a competição intestinal e a interferência na utilização dos minerais no organismo. Fatores dietéticos constituem os principais determinantes das interações, especialmente no caso do zinco. Igualmente importante é o estado nutricional do indivíduo em relação ao zinco na repercussão destas interações.

A nutrição de um indivíduo em relação ao zinco é determinada pelo seu consumo diário e também pela biodisponibilidade na dieta. Os fatores alimentares como ácido fítico e fibra, ácido oxálico e ascórbico, cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês, cobalto, cromo, cádmio e estanho, tipo de proteína e carboidrato, conhecidamente influenciam a biodisponibilidade de zinco (LUECKE, 1984; AVANCINI, 1988; FAIRWEATHER-TAIT, 1988 e 1992).

* BIOAVAILABILITY'97 - Wageningen, Wageningen International Conference Centre, 1997.
[Trabalho apresentado].

Estes fatores podem ganhar uma dimensão maior no estado nutricional do indivíduo, dependendo do grupo etário envolvido, como é o caso de crianças, que possuem padrão de consumo alimentar característico. Alimentos fonte de zinco freqüentemente contribuem com uma porcentagem menor no consumo de energia total, quando comparados com a dieta de adultos. O leite e produtos lácteos são os principais alimentos deste grupo etário. Tal fato pode ter importância para a biodisponibilidade deste mineral, uma vez que estas dietas também possuem um grande componente de cereais, ricos em fitatos (VANDERKOOY e GIBSON, 1987).

A razão molar entre ferro e zinco é outro fator determinante da biodisponibilidade de zinco, dada a interação muito bem estabelecida entre estes dois minerais, que possuem formas químicas similares - íons divalentes. As consequências do excesso de ferro na dieta podem acentuar a vulnerabilidade das crianças à deficiência de zinco. Considerando o papel fundamental do zinco para o rápido crescimento no início da vida, e por isso sua necessidade relativamente maior neste grupo etário; estes aspectos não devem ser ignorados (DAVIDSSON e col., 1995; FAIRWEATHER-TAIT e col., 1995).

A biologia da interação entre ferro e zinco possui efeitos diversos e a natureza dos mecanismos que envolvem esta interação tem sido amplamente estudada. Solomons (1983), em revisão, descreve as possibilidades de interação em nível de competição intestinal no processo absorvivo:

- no momento da elevação destes minerais no lúmen intestinal para a entrada na mucosa celular (= Interação intraluminal);

- no momento da passagem (transferência) destes minerais da mucosa para o interior da célula (= Interação na mucosa); e
- no momento do transporte destes minerais, que é a remoção do interior da célula intestinal para a circulação ou outros órgãos (= Interações intracelulares e na serosa ou membrana basolateral).

O autor postula vários mecanismos envolvidos em cada etapa de interação e esquematiza estes mecanismos como segue (SOLOMONS, 1983):

- Interação direta mineral-mineral, formando um complexo ou interagindo em reações de oxi-redução (lúmen);
- Competição por ligantes comuns ou agentes complexantes que formam complexos insolúveis (lúmen);
- Competição por um sítio comum ou receptor (mucosa);
- Competição por uma proteína carreadora externa comum (mucosa);
- Competição por uma proteína carreadora interna comum (enterócito);
- Competição por uma proteína de ligação intracelular comum, como a metalotioneína (enterócito);
- Indução de uma proteína de ligação intracelular (enterócito);
- Competição por um receptor comum de serosa (membrana basolateral); e
- Competição por uma proteína carreadora na circulação ou transportador comum (corrente sangüínea).

Fairweather-Tait (1992) e Couzy e col. (1993) incluem outros estágios passíveis de interação e comprometimento da biodisponibilidade do zinco, como metabolismo intermediário, elevação e estoque tecidual e rota de excreção dos minerais, todos influenciados pelas condições homeostáticas do

organismo, cujo balanço nutricional é determinado pelos fatores intrínsecos, além da composição e qualidade da dieta.

Em animais, estes efeitos há muito têm sido relatados. O aumento da absorção de zinco frente ao estado deficiente de ferro foi observado em experimentos com traçadores isotópicos radioativos “in vivo” e em segmentos intestinais isolados de ratos, tendo sido também observado um decréscimo na elevação do Zn no lúmen intestinal e transferência do ^{65}Zn pelo intestino, à medida que quantidades de ferro iam sendo gradualmente acrescentadas ao perfusado, produzindo razões molares Fe/Zn de 2,5; 5 e 10. Outros experimentos entretanto não demonstraram o mesmo efeito, mesmo à razões molares de 67 (SOLOMONS, 1986).

Em humanos, as interações entre ferro e zinco, com redução da biodisponibilidade do zinco, parecem ser evidentes em razões molares acima de 2. Os alimentos infantis fortificados com ferro geralmente possuem índices maiores. Couzy e col. (1993) relatam alguns estudos de suplementação com ferro e seu efeito na absorção do zinco, em função do tempo de suplementação. À curto prazo (14 d) e com razão Fe/Zn = 2, a suplementação não alterou a absorção do zinco em adultos; mas à longo prazo (6 m), diminuiu o zinco plasmático de gestantes.

Yip e col. (1985), investigando a suplementação de ferro durante três meses, em crianças saudáveis com um ano de idade, não encontrou diferença significativa na concentração sérica de zinco, nos períodos pré e pós tratamento e entre o grupo suplementado e o grupo placebo, embora tenha havido uma tendência de redução no grupo suplementado. Foram utilizados 30

mg Fe/ Kg peso corpóreo/ dia como suplemento e o zinco foi dado como parte da dieta, não referindo os autores a razão molar dos minerais.

O mesmo ocorreu no estudo de Ballot e col. (1989), com adultos de nível econômico baixo. A concentração sérica de zinco não variou entre o grupo suplementado e o não suplementado após dois anos de tratamento, embora somente 7,7 mg Fe/ adulto/ dia foram administrados.

Solomons (1983) também relatou um estudo onde a absorção de zinco e elevação de zinco plasmático não sofreram efeitos, em adultos recebendo suplementos de ferro à razão molar Fe/Zn = 5, por 4 dias consecutivos. Já em outro estudo longitudinal, com crianças de 0 à 6 meses de idade, recebendo formulações lácteas infantis fortificadas com ferro à razões molares Fe/Zn variando de 2 à 6, ele relata menor ganho de peso e altura e menor concentração plasmática de zinco, após 6 meses de estudo, expressando novamente o significado de índices excessivos nestes alimentos e suplementos vitamínicos-minerais e seus resultados negativos no crescimento e desenvolvimento de crianças.

As pesquisas das interações ferro e zinco em humanos também procuraram verificar as influências da fonte alimentar e da forma química destes minerais. Solomons e Jacob (1981) já previram a influência da fonte alimentar do ferro, associada à razão molar Fe/Zn, na biodisponibilidade de zinco em adultos. Eles utilizaram suplementos de zinco “orgânico” (ostras) e inorgânico (sulfato de Zn), e ferro “orgânico” (Fe-heme) e inorgânico (sulfato ferroso). A concentração plasmática de zinco foi o índice de absorção utilizado,

embora suas limitações na interpretação dos resultados tenham sido muito bem pontuadas pelos próprios autores.

Comparando os resultados entre Fe-não heme e Zn inorgânico, à razões Fe/Zn de 1, 2 e 3, todos tiveram decréscimo significativo na elevação do zinco plasmático após 2 horas de ingestão quando comparados com a administração de zinco isoladamente. Já os resultados entre Fe-heme e Zn “orgânico”, à razão Fe/Zn = 3, a absorção do zinco não diferiu significativamente. Esta falta de interação vem confirmar a existência de dois “pools” de ferro de diferentes fontes alimentares, com compartimentos distintos no trato gastrointestinal (SOLOMONS e JACOB, 1981).

Entretanto, ao se comparar os resultados entre Fe-não heme e Zn “orgânico”, à razão Fe/Zn = 2, os autores não encontraram interferência na elevação do zinco plasmático, cujo pico foi de 3 horas após a administração, sugerindo que o zinco, proveniente de alimentos frescos de origem animal, pode estar protegido de efeitos dietéticos que inibem sua biodisponibilidade, por estar na sua forma iônica solúvel (SOLOMONS e JACOB, 1981).

Solomons e col. (1983), mantendo a razão molar Fe/Zn = 2, suplementaram adultos com sulfato ferroso e cloreto férrico, e ainda um terceiro grupo com ác. ascórbico. Eles observaram que o íon férrico produziu menor inibição da absorção de zinco do que o íon ferroso, uma vez que este último é reconhecidamente mais biodisponível, levando a uma maior interação com o zinco devido à sua natureza iônica divalente, e, portanto, a uma maior competição nos sítios absorptivos (Interação intraluminal). Já com o acréscimo

do ác. ascórbico, observaram a melhora da absorção do íon férrico, acentuando a interação ferro e zinco.

Ainda no mesmo estudo, agora suplementando crianças com sulfato ferroso e mantendo a razão $\text{Fe/Zn} = 2$, observaram que a interação com zinco teve uma magnitude reduzida à medida que se melhorava o estado nutricional em relação ao ferro. A explicação relatada pelos autores foi o próprio mecanismo de regulação homeostática para a absorção de ferro, que é correlacionada com as reservas totais do mineral no organismo. Reduzindo-se a necessidade de ferro, melhora-se a passagem de zinco pela mucosa intestinal (SOLOMONS e col., 1983).

A ação combinada dos fatores envolvidos na biologia da interação ferro e zinco é que pode ocasionar inibição competitiva da absorção, retenção e utilização do zinco pelo ferro. Esta ação depende do estado nutricional de ambos os minerais, da idade do organismo e especialmente da ingestão balanceada. Manter as proporções relativas de ferro e zinco dentro da variação atingida nos alimentos naturais é recomendado para as dietas, suplementos vitamínicos-minerais e formulações lácteas e alimentos infantis consumidos, motivo pelo qual procurou-se desenvolver o presente estudo.

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL:

- Verificar o consumo alimentar e o estado nutricional em relação ao zinco de crianças pré-escolares recebendo alimento fortificado com ferro.

3.2. ESPECÍFICOS:

- Analisar quimicamente as dietas oferecidas às crianças pelas creches, segundo sua composição centesimal e teor de minerais;
- Avaliar a adequação das dietas oferecidas às crianças, segundo as recomendações para este grupo etário;
- Avaliar o estado nutricional dos pré escolares em relação ao zinco por meio das medidas de concentração de zinco nos eritrócitos, antes e após a fortificação alimentar com ferro.

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1. CASUÍSTICA:

Este estudo foi realizado com crianças na idade pré-escolar que freqüentavam creches do município de São Paulo, localizadas na periferia da cidade. Estas creches assistem crianças de baixo nível sócio-econômico e as mantêm por dez horas diárias (de 7:00 às 17:00 hr), por cinco dias da semana (de 2a à 6a feira), oferecendo cinco refeições diárias (café da manhã, lanche, almoço, merenda e jantar). O período da investigação foi de junho à dezembro de 1994.

Os pais ou responsáveis pelas crianças foram previamente informados sobre o estudo tendo dado seu consentimento por escrito. Conforme se preconiza, o trabalho foi anteriormente submetido e aprovado pela Comissão de Ética Médica da Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/ EPM) (ANEXO 1).

Esta pesquisa inseriu-se em um estudo já em andamento sob a coordenação e orientação do Prof. Mauro Fisberg, da UNIFESP/ EPM. As creches foram contatadas previamente pela equipe, tendo-se verificado condições para a implantação de um Programa de Intervenção Nutricional, com a finalidade de se corrigir a alta prevalência de anemia ferropriva. Os locais de moradia das crianças tinham saneamento básico precário e grandes chances de infestações de parasitas intestinais. A intervenção deu-se por meio

de uma suplementação de ferro com alimento fortificado com ferroaminoquelato (Fe-aa), e o veículo foi o queijo “petit-suisse”.

Esta investigação limitou-se a analisar o perfil alimentar das crianças pré-escolares e verificar o estado nutricional das mesmas em relação ao zinco, frente à suplementação com ferro. Os dados complementares (peso, altura, concentração inicial de zinco plasmático, de hemoglobina e hematócrito) fizeram parte de outros trabalhos, inseridos no mesmo projeto.

O processo da industrialização deste alimento não foi por nós acompanhado.

4.1.1. CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO:

As crianças pré-escolares tinham idade variando entre 2 e 7 anos. Não foi utilizado critério de exclusão de amostras, sendo estudadas todas as crianças selecionadas aleatoriamente, com ou sem anemia ferropriva, segundo o ponto de corte determinado pela Organização Mundial da Saúde (concentração de hemoglobina menor que 11 mg/ dL de sangue) (OMS,1983; DeMAEYER e ADIELS-TEGMAN, 1985). Os dados complementares descritos anteriormente, foram levantados com a finalidade de caracterizar a população estudada antes do período de intervenção e análise de zinco no eritrócito.

A investigação se deu em três momentos, sendo F_0 , a fase inicial do estudo, período pré suplementação; F_1 , a fase intermediária do estudo, na qual as creches foram aleatoriamente escolhidas para receberem ou não a suplementação, por três meses consecutivos; e F_2 , a fase final do estudo, na

qual as creches foram invertidas quanto à suplementação, por um período de mais quatro meses consecutivos.

O número de crianças estudadas variou de fase para fase, em função das perdas de amostra. No início do estudo, na F₀ de coleta da dieta e material biológico, 68 crianças foram submetidas aleatoriamente à suplementação de ferro (creche ST) e 82 crianças permaneceram sem suplementação (creche SM), perfazendo um total de 150 crianças. Desta, 91,3 % (137 pré-escolares) foram inicialmente caracterizados, segundo idade, sexo, peso, estatura, concentração de hemoglobina, hematócrito, zinco plasmático.

Das 68 crianças submetidas à suplementação (creche ST) no primeiro período, 45 foram analisadas ao final da F₁ para se verificar o efeito após três meses; passando estas crianças a segunda fase, F₂, sem suplementação por mais quatro meses. Ao final da F₂ apenas 35 crianças foram analisadas. Das 82 crianças que não receberam suplementação no primeiro período (creche SM), 56 foram analisadas ao final da F₁ (após 3 meses) para se comparar o efeito com as que receberam suplementação; e, em seguida, passaram a receber o suplemento por mais quatro meses. Apenas 17 crianças foram analisadas ao final da F₂.

Das 150 crianças inicialmente analisadas, 47,3 % foram do sexo masculino (71 crianças) e 52,7 % do sexo feminino (79 crianças). Nas fases 1 e 2 estas porcentagens foram 44,3 (51 crianças) e 55,7 % (64 crianças), e 46,2 (24 crianças) e 53,8 % (28 crianças) respectivamente, por fase e por sexo.

4.2. MÉTODOS:

4.2. 1. CRONOGRAMA DA COLETA DE DIETA E MATERIAL BIOLÓGICO:

4.2. 2. DIETAS E SUPLEMENTAÇÃO:

As dietas oferecidas foram analisadas segundo sua composição química e teor de minerais, constituindo três grupos distintos:

D.O.: - Dieta normal oferecida pela creche, incluindo o leite em pó servido normalmente na merenda;

Ds/Fe: - Dieta normal oferecida na creche, incluindo queijo "petit suisse" não fortificado com Fe-aa, substituindo o leite da merenda;

DFe: - Dieta normal oferecida na creche, incluindo queijo "petit suisse" fortificado com Fe-aa, substituindo o leite da merenda.

A D.O. caracterizou a fase inicial do estudo (F_0), em ambas as creches. Após a coleta do material biológico, a creche ST recebeu a DFe e a creche SM a Ds/Fe, caracterizando a fase intermediária do estudo (F_1), com duração de 3 meses (Junho, Julho e Agosto). A fase final (F_2) foi caracterizada com a creche ST recebendo a Ds/Fe e a creche SM, a DFe, com duração de aproximadamente 4 meses (Setembro, Outubro, Novembro e Dezembro).

A suplementação com ferro (Fe) foi via queijo "petit suisse", fortificado com ferroaminoquelato (Fe-aa).

Esses queijos eram oferecidos às crianças em uma porção de 90 g do alimento "in natura", contendo 2,0 mg de Fe elementar, equivalente à 20 % das recomendações para esta fase de idade (FNB/ RDA, 1989). O grupo que não foi suplementado, recebia a mesma porção do alimento, sem a fortificação.

4.2.3. AVALIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL:

O estado nutricional das crianças pré-escolares foi avaliado segundo dados antropométricos de peso e estatura. Os resultados em relação ao estado nutricional quanto ao zinco foram obtidos pela coleta de sangue e análise de zinco no eritrócito.

O material biológico (sangue) de cada fase foi coletado por meio de agulha inoxidável, estéril e descartável, introduzida em ponto central da veia periférica do braço. Este sangue foi colhido em tubos desmineralizados, devidamente identificados, contendo citrato sódico à 30 % como anticoagulante e mantido à baixa temperatura (gelo) para ser transportado. Não somente os tubos de polipropileno como toda a vidraria utilizada neste estudo foram desmineralizados, numa solução de ácido nítrico à 30 %, por no mínimo 12 horas, e enxaguados por dez vezes com água desionizada, para se reduzir a contaminação por metais (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A separação do plasma e eritrócito se deu por meio de centrifugação à 3000 x.g por 15 min. a 4°C. Em seguida, o eritrócito precipitado foi lavado por 3 vezes com solução salina isotônica tamponada, à 10000 x.g por 10 min a 4°C (SORVALL®RC5C); procedimento este padronizado pelo Laboratório de Nutrição - Minerais, do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da FCF/ USP. Plasma e eritrócito foram conservados separadamente em freezer à - 20°C para posterior análise.

Para a determinação dos minerais nas amostras biológicas foi utilizado espectrofotômetro de absorção atômica, Perkin-Elmer modelo 5000 -

Automatic Burner Control, cuja leitura para zinco se deu com comprimento de onda de 213,9 nm. No eritrócito, foram feitos lisados, diluídos em 1:4, 1:5, 1:6 ou 1:7, dependendo da viscosidade e disponibilidade das amostras, e destes retiradas alíquotas para diluição de 1:7, para a leitura de zinco de acordo com os valores da curva padrão, em solução aquosa, contendo 1 % de ácido nítrico e elaborada com solução padrão Tritisol® - MERK.

Para verificar a exatidão das leituras das amostras, utilizou-se um padrão certificado, obtido de fígado bovino liofilizado (BCR No. 185).

Para expressão dos valores de zinco no eritrócito por grama de hemoglobina, procedeu-se à dosagem da hemoglobina segundo método de Drabkin (DRABKIN, 1935), utilizando-se “kit” da Labtest. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV Hitachi modelo U-1100, à um comprimento de onda de 540 nm.

A água utilizada para o preparo das soluções e diluição das amostras foi processada pelo MILLI-Q® Water System (Continental Water System Corp. El Paso, Texas), e utilizou-se reagentes de pureza analítica (PA).

4.2.4. ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DA DIETA OFERECIDA E ADEQUAÇÃO NUTRICIONAL:

As dieta D.O., Ds/Fe e DFe foram avaliadas por meio de Inquérito Alimentar, constituído por pesagem e coleta de amostras em triplicata, registradas e separadas por refeição oferecida, e por fase de coleta e análise. (MÉTODO DE ANÁLISE DA PORÇÃO EM DUPLICATA). Foram realizados durante três dias, consecutivos ou não, durante a semana.

Todas as dietas foram analisadas quimicamente, segundo as recomendações da A.O.A.C. (1984). A secagem foi realizada em estufa ventilada a 60°C; em seguida, após a determinação da umidade, foram moídas, homogeneizadas e armazenadas em pó, no freezer à - 20°C, para posterior análise e determinação da composição centesimal e teor de minerais (A.O.A.C., 1984). Para determinação da umidade à 105°C (umidade residual), utilizou-se estufa regulada a essa temperatura (método gravimétrico); para determinação de lipídeo (extrato etéreo) utilizou-se extrator de Soxhlet e éter etílico como solvente (método gravimétrico); para determinação de proteína (conversão pelo nitrogênio) utilizou-se o método de Micro-Kjeldahl; para determinação da fração cinza (resíduo mineral fixo) utilizou-se mufla à 550°C (método gravimétrico); para determinação da fração fibra utilizou-se o método enzimático (PROSKY e col., 1988); para carboidrato (fração Nifext) a

determinação foi por diferença das frações anteriores. Os minerais foram determinados nas dietas pelo método de Ativação com Nêutrons. *

Os resultados da análise química das dietas foram comparados com os resultados teóricos, analisados por programa computadorizado NUTRI, versão1 da UFSP/ EPM.

4.2.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICO:

O método de análise estatística se deu por estimativa dos intervalos com 95 % de confiança, além dos cálculos da média, desvio-padrão e coeficiente de variação de Pearson. O teste t de students foi utilizado para comparação da variabilidade entre as creches e indivíduos durante as três fases do estudo (De GROOT, 1985; BUSSAB, 1988).

* As análises de minerais por ativação de neutrons fez parte de estudo colaborativo do Laboratório de Nutrição - Minerais com o Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares/ Comissão Nacional de Energia Nuclear (IPEN - CNEN) da Divisão de Radioquímica.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. POPULAÇÃO:

A população estudada foi caracterizada segundo idade, sexo, peso, estatura, concentração de hemoglobina e hematócrito, concentração de zinco plasmático. Chamamos estes dados de complementares, conforme mencionado anteriormente.

A **TABELA I** mostra o perfil das crianças pré-escolares investigadas, no momento inicial do estudo, denominado de FASE ZERO (F_0).

As crianças pré-escolares das creches estudadas não apresentaram deficiência de peso ou de altura, segundo os padrões de referência para estes parâmetros, com exceção de duas crianças do sexo feminino, da creche SM, com idade entre 6 e 7 anos (WHO, 1995).

Os valores normais para os parâmetros analisados, segundo o NRC/RDA (1989), são:

de 1 à 3 anos de idade, 13 Kg e 90 cm;

de 4 à 6 anos de idade, 20 Kg e 112 cm; e

de 7 à 10 anos de idade, 38 Kg e 132 cm.

TABELA I: Distribuição das crianças pré-escolares no momento inicial do estudo (F₀), por creche, segundo faixa etária, sexo, peso e estatura. São Paulo, 1994/ 95.

CRECHE	FAIXA ETÁRIA (anos)	No.TOTAL/ SEXO	PESO MÉDIO (FAIXA PONDERAL) (Kg)	ESTATURA MÉDIA (FAIXA ESTATURAL) (cm)
ST	1,09 – 2,00	T = 03 M = 0 ; F = 3	11,6 (10,1 – 13,6)	83,0 (79,0 – 88,5)
	2,01 – 3,00	T = 15 M = 6 ; F = 9	13,0 (11,0 – 17,0)	90,9 (84,5 – 96,5)
	3,01 – 4,00	T = 17 M = 7 ; F = 10	15,1 (12,4 – 19,8)	97,9 (90,0 – 112,0)
	4,01 – 5,00	T = 18 M = 9 ; F = 9	18,0 (14,0 – 23,9)	105,8 (98,0 – 115,0)
	5,01 – 6,00	T = 7 M = 4 ; F = 3	21,5 (15,0 – 31,1)	114,5 (105,0 – 125,0)
	6,01 – 7,02	T = 3 M = 3 ; F = 0	20,4 (19,6 – 21,3)	121,0 (118,0 – 126,0)
SUBTOTAL	1,09 – 7,02	T = 63	16,2 (10,1 – 31,1)	100,7 (79,0 – 126,0)
		M = 29	17,3 (11,4 – 31,1)	104,0 (86,5 – 126,0)
		F = 34	15,3 (10,1 – 23,9)	98,0 (79,0 – 125,0)
SM	2,01 – 3,00	T = 9 M = 5 ; F = 4	13,9 (12,1 – 15,5)	92,1 (84,5 – 96,0)
	3,01 – 4,00	T = 15 M = 6 ; F = 9	15,6 (13,0 – 17,7)	98,4 (86,5 – 105,0)
	4,01 – 5,00	T = 20 M = 8 ; F = 12	17,3 (14,3 – 21,6)	104,4 (97,0 – 117,0)
	5,01 – 6,00	T = 17 M = 10 ; F = 7	19,6 (14,1 – 27,4)	112,2 (104,0 – 125,0)
	6,01 – 7,02	T = 13 M = 4 ; F = 9	23,0 (17,8 – 35,0)	121,9 (106,0 – 165,0)
SUBTOTAL	2,01 – 7,02	T = 74	18,0 (12,1 – 35,0)	106,5 (84,5 – 165,0)
		M = 33	18,4 (12,1 – 26,5)	105,5 (84,5 – 125,0)
		F = 41	17,8 (13,0 – 35,0)	107,4 (86,5 – 165,0)
TOTAL	1,09 – 7,02	T = 137	17,1 (10,1 – 35,0)	103,6 (79,0 – 165,0)
		M = 62	17,9 (11,4 – 31,1)	104,8 (84,5 – 126,0)
		F = 75	16,6 (13,0 – 35,0)	102,7 (79,0 – 165,0)

Na creche ST, 50,8 % das crianças (n=32; 13M e 19F), encontravam-se dentro do recomendado para peso, e , 52,4 % (n=33; 14M e 19F) se encontravam dentro do recomendado para altura (percentil 50). As faixas etárias predominantes das crianças, tanto para peso como para altura adequados foram, de 3 à 4 anos (50 e 52%, respectivamente) e de 2 à 3 anos (22 e 30%, respectivamente). Ainda na mesma creche, 49,2 % das crianças (n=31; 16M e 15F) encontravam-se entre os percentis 25 e 50 para peso, e 47,6 % (n=30; 15M e 15F) para altura. A faixa etária predominante dentro desta faixa de adequação foi de 4 à 5 anos, (45 % para peso e 53% para altura).

Na creche SM, a faixa etária predominante para as crianças que possuem peso e altura adequados (percentil 50) é a de 3 à 4 anos (48 e 42%, respectivamente), ficando em seguida, as faixas de 2 à 3 anos (26 e 21%, respectivamente) e de 4 à 5 anos (24% somente para altura). Para as crianças que possuem peso e altura entre os percentis 25 e 50, a faixa etária predominante foi de 5 à 7 anos (51% tanto para peso como para altura), seguida da faixa 4 à 5 anos (46 e 42%, respectivamente para peso e altura). O total das crianças com peso na faixa recomendada foi de 41,9 % (n=31; 15M e 16F) e com altura adequada foi de 44,6 % (n=33; 17M e 16F) (percentil 50). Para a faixa entre os percentis 25 e 50, o total foi de 55,4 % das crianças tanto para o peso (n=41; 18M e 23F) como para a altura (n=41; 16M e 25F).

Portanto, a creche SM possui uma porcentagem maior de crianças adequadas entre os percentis 25 e 50 para peso e altura e a creche ST, uma porcentagem maior de crianças adequadas no percentil 50 quanto à estes parâmetros. Entretanto, quando se estratifica os pré-escolares por faixa etária, ambas as creches possuem maior prevalência no percentil 50 para os dois parâmetros de crianças com idade inferior à 4 anos; e maior prevalência de crianças entre os percentis 25 e 50 para peso e altura com idade superior à 4 anos de idade. Isto lhes confere semelhança sem diferença estatisticamente significativa.

A TABELA II mostra os intervalos de confiança dos valores compilados para hemoglobina, hematócrito e zinco plasmático, das crianças pré-escolares investigadas no momento inicial do estudo, FASE ZERO (F_0), segundo análise estatística.

A concentração média de hemoglobina para as crianças da creche ST foi de 12,3 g/ dL ($\pm 1,03$), sendo que para os meninos foi de 12,6 g/ dL ($\pm 0,75$) e para as meninas, 12,1 g/ dL ($\pm 1,17$). Para as crianças da creche SM, este valor foi de 11,8 g/ dL ($\pm 1,01$), sendo os meninos de 12,1 g/ dL ($\pm 0,81$) e para as meninas, 11,7 g/ dL ($\pm 1,12$).

Como pode ser observado, na fase inicial do estudo, a população apresentava valores médios para hemoglobina acima do limite inferior de normalidade, segundo os critérios estabelecidos pela OMS (1983), onde considera-se anemia nutricional $Hb < 11,0$ g/ dL.

A porcentagem média de hematócrito das crianças da creche ST foi 37,8% ($\pm 2,77$), onde os meninos tiveram 38,4% ($\pm 2,15$) e as meninas, 37,3%

($\pm 3,13$). As crianças da creche SM tiveram 35,8% ($\pm 2,84$), onde a porcentagem média para os meninos foi 36,6% ($\pm 2,54$) e para as meninas, 35,3% ($\pm 2,95$).

Segundo Wintrobe (1993), os valores para hematócrito da população estudada encontravam-se normais para este grupo etário ($32,0 > \% \text{ Ht} < 40,0$).

O intervalo de confiança das concentrações plasmáticas de zinco das crianças pode ser observado na **TABELA II**.

Gibson (1990) refere valores menores que 70,0 $\mu\text{g/dL}$ para o estado de deficiência de zinco. Portanto, segundo este critério, a população estudada apresentava concentrações plasmáticas para zinco dentro da normalidade.

TABELA II: Intervalos de confiança para os valores de hemoglobina, hematócrito e zinco plasmático das crianças pré-escolares no momento inicial do estudo (F_0), por creche e por sexo. São Paulo, 1994/ 95.

Creche	Total/ Sexo	Hb (g/dL)	Ht * (%)	Zn plasma ($\mu\text{g/dL}$)
ST	T *	12,0224 ; 12,5453	37,0983 ; 38,5050	113,1682 ; 125,8795
SM	T	11,6232 ; 12,0962	35,2179 ; 36,5515	105,2860 ; 114,3561
ST	M	12,2796 ; 12,8633	37,5928 ; 39,2572	119,2243 ; 135,9481
SM	M	11,7951 ; 12,3920	35,7711 ; 37,6418	107,6750 ; 121,6250
ST	F *	11,6390 ; 12,4552	36,1954 ; 38,3811	103,5440 ; 121,7501
SM	F	11,3332 ; 12,0326	34,3433 ; 36,1835	99,9678 ; 111,8560

* $P < 0,05$

De acordo com a análise estatística por estimativa dos intervalos, com 95 % de confiança, o hematócrito (*) foi o único parâmetro que apresentou diferença com significado estatístico entre as creches, tanto para os valores totais como para o sexo feminino (*), sendo que a creche ST apresentou valores maiores que a creche SM. Em relação à hemoglobina e zinco plasmático, pode-se dizer que as crianças pré-escolares encontravam-se similares no momento inicial da investigação, ou seja, não existe evidência estatística de diferença entre as creches.

O **QUADRO I** mostra a distribuição dos pré-escolares nos 3 momentos de estudo, de acordo com o número de amostras analisadas e separados por sexo. Observa-se uma perda total da amostra de 23,3 % da F_0 para a F_1 e de 54,8 % da F_1 para a F_2 , sendo que a perda da F_0 para a F_2 foi de 65,3 % das crianças.

QUADRO I: Distribuição das crianças pré-escolares, segundo creche e sexo, por dieta e fase de coleta/ análise química. São Paulo, 1994/ 95.

FASE DE COLETA E ANÁLISE QUÍMICA DAS DIETAS	DIETAS	No. DE CRIANÇAS
F₀	D.O.	T = 150 M = 71 F = 79 ST = 68 M = 33 F = 35
	D.O.	SM = 82 M = 38 F = 44
F₁	DFe	T = 115 M = 51 F = 64 ST = 51 M = 24 F = 27
	DFe	SM = 64 M = 27 F = 37
F₂	Ds/Fe	T = 52 M = 24 F = 28 ST = 35 M = 13 F = 22
	Ds/Fe	SM = 17 M = 11 F = 06

D.O.: Dieta normal oferecida pelas creches, contendo leite em pó na merenda;

DFe: Dieta normal oferecida pelas creches, contendo alimento fortificado com ferroaminoquelato, substituindo o leite da merenda;

Ds/Fe: Dieta normal oferecida pelas creches, contendo alimento não fortificado com ferroaminoquelato, substituindo o leite da merenda.

5.2. DIETAS E SUPLEMENTAÇÃO:

Os alimentos servidos durante os três dias (Cardápios A, B e C) nas creches ST e SM e nas F₀, F₁ e F₂ foram os seguintes:

CRECHE ST - F₀

Cardápio A:

Café da Manhã:	3 biscoitos doces.....	50 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	200 mL
Almoço:	agrião c/ tomate.....	30 g
	arroz.....	60 g
	feijão.....	55 g
	picado c/ mandioquinha.....	40 g
	1 laranja.....	200 g
	goiabada.....	40 g
Lanche:	1 copo leite c/ choco. e açu.....	150 mL
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	150 mL
	gelatina.....	157 g

Cardápio B:

Café da Manhã:	3 rosquinhas doces.....	30 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	200 mL
Almoço:	agrião c/ tomate.....	28 g
	arroz c/ cenoura.....	60 g
	feijão.....	55 g
	1 ovo cozido.....	56 g
	pure batata.....	76 g
	1 banana.....	120 g
Lanche:	1 copo leite c/ choco. e açu.....	200 mL
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	150 mL
	1 fatia bolo pronto.....	125 g

Cardápio C:

Café da Manhã:	3 rosquinhas doces.....	32 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	200 mL
Almoço:	alface c/ tomate.....	20 g
	arroz	70 g
	feijão.....	65 g
	picado c/ cenoura.....	48 g
	½ copo suco laranja.....	120 g
Lanche:	1 copo leite c/ choco. e açu.....	200 mL
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	152 mL
	goiabada.....	40 g

CRECHE ST - F₁**Cardápio A:**

Café da Manhã:	3 biscoitos doces.....	34 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	150 mL
Almoço:	agrião c/ tomate.....	20 g
	arroz.....	44 g
	feijão.....	50 g
	carne moída c/ batata.....	60 g
	gelatina.....	68 g
Lanche:	2 danones c/ ferro.....	94 g
Jantar:	pedaço torta sardinha.....	35 g
	1 fatia bolo choco.....	87 g

Cardápio B:

Café da Manhã:	3 rosquinhas doces.....	15 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	150 mL
Almoço:	agrião c/ tomate.....	13 g
	arroz.....	44 g
	feijão.....	50 g
	frango assado s/ osso.....	34 g
	1 salada de frutas.....	58 g
Lanche:	2 danones c/ ferro.....	94 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	117 mL
	½ banana.....	62 g

Cardápio C:

Café da Manhã:	2 biscoitos doces.....	17 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	150 mL
Almoço:	alface c/ tomate.....	20g
	arroz c/ vagem.....	57 g
	feijão.....	52 g
	bife.....	50 g
	1 laranja.....	133 g
Lanche:	2 danones c/ ferro.....	94 g
Jantar:	cachorro-quente.....	46 g
	sagu de uva.....	40 g

CRECHE ST - F₂

Cardápio A:

Café da Manhã:	pão doce c/ margarina.....	22 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	150 mL
Almoço:	alface c/ tomate.....	20 g
	arroz.....	44 g
	feijão.....	52 g
	bife rolê.....	43 g
	1 laranja.....	122 g
	canjica.....	49 g
Lanche:	2 danones s/ ferro.....	87 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	102 mL
	pudim pronto.....	57 g

Cardápio B:

Café da Manhã:	3 rosquinhas doces.....	15 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	150 mL
Almoço:	beterraba+couve-flor+cenoura.....	44 g
	arroz.....	38 g
	feijão.....	54 g
	carne moída	41 g
	1 laranja.....	135 g
	gelatina.....	68 g
Lanche:	2 danones s/ ferro.....	84 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	120 mL
	goiabada.....	40 g

Cardápio C:

Café da Manhã:	2 biscoitos doces.....	17 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	150 mL
Almoço:	alface c/ tomate.....	20g
	arroz.....	45 g
	feijão.....	52 g
	bife.....	50 g
	1 laranja.....	133 g
Lanche:	2 danones s/ ferro.....	84 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	150 mL
	goiabada.....	40 g

CRECHE SM - F₀

Cardápio A:

Café da Manhã:	pão c/ patê.....	35 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Almoço:	pepino.....	64 g
	frango s/ osso.....	56 g
	macarrão c/ molho.....	136 g
	pure batata.....	141 g
	pudim.....	101 g
Lanche:	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Jantar:	tomate.....	50 g
	arroz.....	94 g
	feijão.....	84 g
	salsicha.....	46 g
	banana.....	76 g

Cardápio B:

Café da Manhã:	pão c/ margarina.....	32 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Almoço:	beterraba vinagrete.....	45 g
	arroz.....	76 g
	feijão.....	63 g
	bife.....	25 g
	1 laranja.....	152 g
Lanche:	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	162 mL
	(+arroz+frango+batata+cenoura+abobrinha)	
	goiabada.....	40 g

Cardápio C:

Café da Manhã:	pão c/ margarina.....	35 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Almoço:	repolho c/ tomate.....	43 g
	arroz	87 g
	feijão.....	83 g
	frango ao molho s/ osso.....	32 g
	goiabada.....	39 g
Lanche:	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
	bolo pronto.....	90 g
Jantar:	sopa de legumes e frango.....	170 g
	1 laranja.....	144 g

CRECHE SM - F₁

Cardápio A:

Café da Manhã:	pão c/ margarina.....	22 g
	1 copo leite integral e açu.....	175 mL
Almoço:	alface c/ tomate.....	12 g
	arroz.....	73 g
	feijão.....	60 g
	picadocarne moida c/ batata.....	34 g
	couve-flor à milanesa.....	75 g
	melancia.....	151 g
Lanche:	2 danones s/ ferro.....	94 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	135 mL
	(+legumes)	
	banana.....	36 g

Cardápio B:

Café da Manhã:	pão c/ patê.....	30 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Almoço:	beterraba.....	36 g
	arroz.....	64 g
	feijão.....	50 g
	1 ovo cozido.....	43 g
	vagem.....	36 g
	suco de maracujá.....	125 mL
Lanche:	2 danones s/ ferro.....	95 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	123 mL
	(+salsicha)	
	abacaxi.....	48 g

Cardápio C:

Café da Manhã:	pão doce c/ margarina.....	25 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Almoço:	beterraba.....	35 g
	macarrão c/ molho.....	110 g
	carne moída.....	38 g
	mandioca frita.....	62 g
	bananada.....	38 g
Lanche:	2 danones s/ ferro.....	95 g
Jantar:	sopa pronta.....	157 g
	(+legumes)	
	goiabada.....	40 g

CRECHE SM - F₂**Cardápio A:**

Café da Manhã:	pão doce c/ margarina.....	20 g
	1 copo integral e açu.....	175 mL
Almoço:	tomate.....	24 g
	arroz.....	68 g
	feijão.....	61 g
	bife.....	30 g
	mamão.....	65 g
	canjica.....	49 g
Lanche:	2 danones c/ ferro.....	88 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	105 mL
	bolo pronto.....	44 g

Cardápio B:

Café da Manhã:	pão c/ patê.....	35 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Almoço:	alface+couve-flor.....	40 g
	arroz.....	50 g
	feijão.....	44 g
	lingüiça.....	30 g
	suco de maracujá.....	125 mL
	goiabada.....	40 g
Lanche:	2 danones c/ ferro.....	88 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	146 mL
	laranja.....	133 g

Cardápio C:

Café da Manhã:	pão doce.....	24 g
	1 copo leite c/ choco. e açu.....	175 mL
Almoço:	vagem c/ cenoura.....	32 g
	macarrão c/ molho.....	145 g
	carne picada c/ batata.....	42 g
	1 maçã.....	72 g
Lanche:	2 danones c/ ferro.....	88 g
Jantar:	1 concha sopa pronta.....	157 mL
	goiabada.....	40 g

Os cardápios foram analisadas quimicamente segundo sua composição centesimal e teor de minerais. Os pesos e valores da composição centesimal de cada um deles analisado estão expressos em triplicata, conforme coleta e análise (**ANEXOS 2 e 3**).

Na **TABELA III** pode-se verificar a distribuição dos macronutrientes, do resíduo mineral fixo e do valor calórico total, por creche e fase de coleta e análise das dietas (cardápios). A **TABELA IV** demonstra a adequação das dietas, segundo as porcentagens recomendadas para proteínas, lipídeos e carboidratos, relativas ao valor calórico total (VCT) e as recomendações calóricas para cada grupo etário em estudo (NRC/ RDA, 1989).

TABELA III: Distribuição dos macronutrientes, resíduo mineral fixo e valor calórico total, segundo creche e fase de coleta e análise química das dietas.

São Paulo, 1994/ 95.

DIETAS/ FASES	PROTEÍNA (g/ dia)	LIPÍDEO (g/ dia)	CARBOID. (g/ dia)	FIBRA (g/ dia)	CINZA (g/ dia)	VCT (kcal/ia)	(Kj)
F ₀	43,4	25,3	209,1	14,0	10,9	1238,0	5179,8
ST F ₁	39,5	28,3	177,4	14,0	9,2	1122,3	4695,7
F ₂	32,2	20,8	123,3	10,6	6,8	809,3	3386,1
F ₀	40,7	32,6	203,3	14,2	11,2	1269,4	5311,2
SM F ₁	37,6	32,3	177,5	14,2	10,0	1151,5	4817,9
F ₂	34,1	27,6	151,1	14,2	8,4	989,5	4140,1

Valores Normais (NRC/ RDA, 1989):

*Crianças de 1 à 3 anos = 16 g Proteína; 1300 kcal/ dia

**Crianças de 4 à 6 anos = 24 g Proteína; 1800 kcal/ dia

***Crianças de 7 à 10 anos = 28 g Proteína; 2000 kcal/ dia

O alimento, fortificado ou não, foi oferecido na merenda das crianças, no lugar do leite em pó, como mencionado anteriormente, e correspondeu respectivamente à 9,2 % e 11,9 % das dietas oferecidas pela creche ST nas F₁ e F₂; e respectivamente à 9,7 % e 9,6 % às dietas oferecidas pela creche SM nas F₂ e F₁. Da matéria seca, esses valores foram 11,1 % para o alimento fortificado e 14,5 % para o alimento não fortificado, respectivamente para as dietas oferecidas pela creche ST nas F₁ e F₂; e 11,7 % e 12,1 % respectivamente para as dietas oferecidas pela creche SM nas F₂ e F₁.

Ambos alimentos tiveram uma aceitação de 100 %, contribuindo com aproximadamente 13,7 % do Valor Calórico Total (VCT) oferecido pelas dietas da creche ST (c/ Fe) e com 13,5 % do VCT oferecido pelas dietas da creche SM (s/ Fe) na F₁ e , na F₂, com 16,9 % do VCT oferecido pela creche ST (s/ Fe) e 14,8 % do VCT oferecido pela creche SM (c/ Fe).

Isto representou, de uma maneira geral e mediana, 11,7 % das recomendações calóricas para as crianças com 1 à 3 anos de idade, 8,5 % para as com 4 à 6 anos e 7,6 % para as com 7 ou mais anos, na F₁. Na F₂ representou 10,9 % das recomendações calóricas para as crianças com 1 à 3 anos de idade, 7,9 % para as com 4 à 6 anos e 7,1 % para as com 7 ou mais anos de idade (NRC/ RDA, 1989).

TABELA IV: Porcentagem de adequação dos macronutrientes e do valor calórico total das dietas oferecidas. São Paulo, 1994/ 5.

DIETAS/ FASES	PROTEÍNA (% do VCT)	LIPÍDEO (% do VCT)	CARBOID. (% do VCT)	VCT (% de adeq.)
F ₀	14,0	18,3 ‡	67,7	*95,2 <i>f</i> **68,8 <i>f</i> ***61,9 ‡
ST F ₁	14,0	22,8	63,2	*86,3 <i>f</i> **62,4 ‡ ***56,1 ‡
F ₂	15,8	23,2	61,0	*62,3 ‡ **45,0 ‡ ***40,5 ‡
F ₀	12,8	22,9	64,3	*97,6 <i>f</i> **70,5 <i>f</i> ***63,5 ‡
SM F ₁	13,1	25,1	61,9	*88,6 <i>f</i> **64,0 ‡ ***57,6 ‡
F ₂	13,9	24,8	61,2	*76,1 <i>f</i> **55,0 ‡ ***49,5 ‡

Valores Normais (NRC/ RDA, 1989):

*Crianças de 1 à 3 anos = 16 g Proteína; 1300 kcal/ dia

**Crianças de 4 à 6 anos = 24 g Proteína; 1800 kcal/ dia

***Crianças de 7 à 10 anos = 28 g Proteína; 2000 kcal/ dia

Proteína = de 10 à 15 % do VCT

Lipídeo = até 30 % do VCT

Carboidrato = restante do VCT (~ 55 à 60 %)

f = 2/3 da recomendação até o recomendado

‡ = abaixo de 2/3 da recomendação

Como pode ser observado na **TABELA III**, as dietas de ambas as creches ultrapassaram as recomendações de proteína, para todas as faixas etárias. Para as crianças menores de 3 anos, este excesso protéico foi ainda mais acentuado, especialmente para a creche ST. Em todas as fases do estudo, embora com excesso na oferta protéica, o percentual calórico de adequação para este nutriente ficou dentro da variação considerada adequada (de 10 à 15% do VCT) (NRC/ RDA, 1989).

A oferta calórica total, entretanto, se evidenciou deficiente na maioria das dietas, especialmente para crianças com 7 anos ou mais, em ambas as creches. Para crianças entre 4 e 6 anos, a dieta foi deficiente nas F_1 e F_2 , atingindo os $2/3$ da recomendação apenas as dietas da F_0 , em ambas as creches. Para crianças de 1 à 3 anos de idade, as dietas ficaram entre os $2/3$ da recomendação e o recomendado em todas as fases, com exceção da F_2 na creche ST, que foi deficiente (**TABELA IV**).

Moreiras-Varela e col. (1988), avaliando o consumo alimentar de crianças de um abrigo para menores, na Espanha, encontraram valores nutricionais semelhantes. Verificaram uma deficiência de 21% no VCT e um consumo de até duas vezes maior do recomendado para proteína. Os autores especulam uma tendência de aumento na oferta de carnes e uma diminuição de cereais e derivados, similar às dietas oferecidas pelas creches estudadas.

A porcentagem de adequação calórica para os lipídeos ficou em sua maioria abaixo da normalidade, embora estatisticamente, os valores estão entre os 2/3 e o recomendado; sendo que na fase inicial do estudo, na creche ST, o lipídeo apresentou seu menor valor (18,3 % do VCT proveniente dos lipídeos).

Quanto aos carboidratos, pode-se observar que apresentam valores percentuais considerados adequados, (todas as fases acima de 60 %, em ambas as creches), seguindo a tendência atual de recomendação de ingestão calórica proveniente deste nutriente para completar o VCT da dieta, podendo atingir até 80% de adequação (NRC/ RDA, 1989).

Em todas as fases do estudo, os valores para a fração fibra ficaram dentro do desejável (de 10,6 à 14,2 g/ dia), em ambas as creches. Por outro lado, estes valores não oferecem riscos que possam comprometer a biodisponibilidade do zinco alimentar, já que as fibras contém fitato, um dos principais ligantes de zinco (AVANCINI, 1988).

No decorrer do estudo, observou-se claramente que os valores protéicos decaíram, tendo sido maiores na F₀ e menores na F₂, em ambas as creches. Do mesmo modo comportou-se os valores de carboidratos, resíduo mineral fixo e VCT (**TABELA III**).

Houve um declínio acentuado na oferta nutricional total das dietas, do início para o final do estudo. Para a creche ST, esta redução foi na ordem de 35% para o VCT e cinzas totais; 40% para os carboidratos; e 25% para as proteínas. Para a creche SM, esta redução nutricional foi na ordem de 25% para o VCT, cinzas totais e carboidratos; e 16% para as proteínas.

Portanto, os resultados mostram que as creches pioraram a qualidade nutricional de suas dietas oferecidas no decorrer do estudo, mesmo com a presença do alimento fortificado.

Isto deve-se ao cardápio oferecido. Em ambas as creches, as dietas na F_0 continham um porcionamento maior das preparações servidas, especialmente quanto aos cereais, hortifrutis e doces.

Na ST, os biscoitos servidos no café da manhã representavam duas vezes a quantidade dos biscoitos ou pães servidos nas outras fases, bem como o leite, com um porcionamento de 200 mL contra 150 mL nas F_1 e F_2 . As verduras e frutas eram servidas em maior quantidade na salada e sobremesa do almoço na F_0 . O arroz e feijão das dietas nas F_1 e F_2 representaram por volta de 2/3 a quantidade da F_0 .

Na SM, os pães servidos no café da manhã nas F_1 e F_2 representaram por volta de 2/3 a quantidade da F_0 . O mesmo ocorreu com o arroz e o feijão; as verduras e as frutas servidas na saladas e sobremesas da F_0 . As dietas desta creche, em todas as fases, apresentaram valores nutritivos melhores em relação as dietas da creche ST devido a presença de jantar igual ao almoço, ao acréscimo de legumes quando a sopa era servida no jantar, e a presença de alimentos fritos como couve-flor à milanesa e mandioca frita. Por isso também os lipídeos resultaram em maior porcentagem para esta creche.

Também vale ressaltar que o porcionamento das sopas servidas no jantar, em ambas as creches, era baixo e irregular (de 102 à 157 mL); e não havia qualquer orientação no sentido de educar nutricionalmente as crianças quanto a ingestão de alimentos mais adequados ou nutritivos.

A **TABELA V** mostra os resultados da análise do ferro e zinco contidos nas dietas oferecidas pelas creches, ST e SM.

O total de ferro diário oferecido pela creche SM não atingiu as recomendações em nenhuma das fases, enquanto pela creche ST elas foram ultrapassadas nas primeiras duas fases (NRC/ RDA, 1989). A F₂ apresentou os menores valores para este mineral, em ambas as creches (70 e 80 % das recomendações, respectivamente ST e SM), mesmo tendo a creche SM recebido alimento fortificado com ferro nesta fase; e a F₁, o maior valor para ferro, na creche ST, superando em 20 % as recomendações para ferro (que continha o alimento fortificado com ferro nesta fase) (**GRÁFICO I**).

Quando estes teores de ferro são expressos em função da densidade calórica das dietas oferecidas, observa-se uma similaridade quantitativa do mineral entre as creches ST e SM na F₀, com 8,4 e 7,6 mg/ 1000 kcal, respectivamente. A F₁ diferiu neste aspecto em função da fortificação, tendo 10,7 e 8,1 mg Fe/ 1000 kcal, respectivamente as creches ST (alimento com Fe) e SM (alimento sem Fe). Na F₂, as creches ST (alimento sem Fe) e SM (alimento com Fe) tiveram 8,7 e 8,1 mg Fe/ 1000 kcal, respectivamente, não ficando tão evidente a diferença pela fortificação. (**GRÁFICO II**).

TABELA V: Quantidade de ferro e zinco presentes nas dietas oferecidas pelas creches, segundo fase de coleta. São Paulo, 1994/ 95.

FASE	Fe (mg)	Zn (mg)
ST - F ₀	10,4	7,3 <i>f</i>
ST - F ₁	12,0 (2,4)	6,4 <i>f</i> (0,4)
ST - F ₂	7,0 <i>f</i> (0,2)	5,3 ‡ (0,4)
SM - F ₀	9,7 <i>f</i>	5,4 ‡
SM - F ₁	9,3 <i>f</i> (0,3)	4,6 ‡ (0,4)
SM - F ₂	8,0 <i>f</i> (2,2)	5,3 ‡ (0,3)

() = contribuição do ferro e zinco no alimento fortificado ou não, já incluído no valor total.

f = 2/3 da recomendação até o recomendado

‡ = abaixo de 2/3 da recomendação

Valores Normais para crianças de 1 à 10 anos de idade (NRC/ RDA, 1989):

Fe = 10 mg/ dia

Zn = 10 mg/ dia

GRÁFICO I: Quantidade de ferro total presente nas dietas analisadas, segundo creche e fase de análise. São Paulo, 1994/ 95.

GRÁFICO II: Densidade de ferro das dietas oferecidas, segundo creche e fase de análise. São Paulo, 1994/ 95.

Segundo as recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira (VANNUCCHI e col., 1990), a densidade de ferro relativa ao valor calórico total deve ficar em torno de 9 mg/ 1000 kcal. Observa-se que a maioria das dietas analisadas apresentou densidade inferior, e somente a dieta na F₁ da creche ST, apresentou densidade superior à 9 mg/ 1000 kcal.

O zinco foi bastante similar entre as creches estudadas, não atingindo as recomendações em nenhuma das fases, e ficando em 2/3 da recomendação apenas as F₀ e F₁, na creche ST. A F₂, assim como todas as fases da creche SM, os valores ficaram abaixo deste limite (NRC/ RDA, 1989) (**GRÁFICO III**).

GRÁFICO III: Quantidade de zinco total presente nas dietas analisadas, segundo creche e fase de análise. São Paulo, 1994/ 95.

Quanto à densidade calórica relativa ao teor de zinco na dieta, a creche ST apresentou proporções maiores de zinco em todas as fases, quando comparada com a creche SM. Na F_0 , 5,9 e 4,3 mg de Zn/ 1000 kcal; na F_1 , 5,7 e 4,0 mg de Zn/ 1000 kcal; e na F_2 , 6,5 e 5,4 mg de Zn/ 1000 kcal, respectivamente creches ST e SM. (**GRÁFICO IV**).

GRÁFICO IV: Densidade de zinco das dietas oferecidas, segundo creche e fase de análise. São Paulo, 1994/ 95.

Entretanto, se analisarmos a evolução da oferta de zinco por 1000 kcal da dieta ao longo do estudo, ambas as creches apresentam similaridade nas curvas, com uma densidade menor para o mineral na F_1 , e uma maior na F_2 , cujo aumento ultrapassa os valores da F_0 ; embora a maioria das dietas não tenha atingido a densidade recomendada para zinco relativa ao valor calórico total, de 6 à 8 mg/ 1000 kcal, segundo Vannucchi e col. (1990). Somente a dieta da creche ST, na F_2 , atingiu uma densidade de 6,5 mg de Zn/ 1000 kcal

Segundo Guthrie e Picciano (1995), a creche ST se enquadra dentro do valor de referência por eles citado, de 5,8 mg de Zn/ 1000 kcal.

As razões molares Fe/Zn das dietas analisadas foram, respectivamente por creche ST e SM, na F₀ 1,4 e 1,7; na F₁ 1,9 e 2,0 (Alimento c/ Fe-aa x Alimento s/ Fe-aa); e na F₂ 1,3 e 1,5 (Alimento s/ Fe-aa x Alimento c/ Fe-aa). A F₁ apresentou maior razão molar Fe/Zn, tanto na creche ST como na SM, e similares entre elas, em função de ser a fase que teve proporcionalmente, maior oferta alimentar de ferro e menor de zinco nas duas creches, embora a ST apresentasse o alimento fortificado nesta fase e a SM não.

5.3. ESTADO NUTRICIONAL RELATIVO AO ZINCO:

A **TABELA VI** mostra os intervalos de confiança para os valores de zinco no eritrócito analisado nos pré-escolares, na fase inicial e durante as fases com ou sem fortificação com ferro, nas creches ST e SM.

As concentrações médias de zinco no eritrócito expressos por mL foram similares entre os pré-escolares das creches ST e SM, quando comparados por fases e entre os sexos, sem qualquer diferença estatisticamente significativa.

Analisando estes dados, de acordo com os padrões de referência (BRODY, 1994; GUTHRIE e PICCIANA, 1995), fase inicial do estudo, 77% das crianças na creche ST se encontravam abaixo dos padrões de referência, enquanto que, na creche SM, 95%. Portanto, a maioria das crianças estavam deficientes em zinco segundo este parâmetro. Na F_1 , esta porcentagem se reduziu para 25,5% na creche ST e 26,5% na creche SM, ficando a maioria das crianças dentro dos padrões considerados normais. Na F_2 , ocorreu novamente um aumento na porcentagem de crianças deficientes em zinco, sendo 83% para a creche ST e 70,5% para a creche SM.

Tal fato poderia estar relacionado à alimentação fornecida nas creches durante estes períodos, pois embora a introdução do queijo “petit suisse” contribuisse com um adicional de ferro, o mesmo não ocorreu em relação ao zinco.

TABELA VI: Intervalos de confiança para os valores da concentração de zinco por mL de eritrócito e por grama de hemoglobina, em pré-escolares por sexo, segundo creche e fase de estudo. São Paulo, 1994/ 95.

CRECHE	FASE	SEXO (n)	Zn (µg/mL E)	Zn (µg/gHb)
ST	F ₀	(68)T	7,3944 : 8,4291	37,5276 : 42,0401
		(33)M	7,5913 : 8,9420	37,6780 : 43,0608
		(35)F	6,7825 : 8,3718	35,5265 : 42,9370
	F ₁	(51)T	10,9315 : 12,5822	33,0523 : 38,8131
		(24)M	10,7187 : 12,9229	31,0118 : 38,2324
		(27)F	10,4165 : 12,9835	32,5179 : 41,6777
	F ₂	(35)T	6,9469 : 8,8474	26,1032 : 33,7506
		(13)M	6,9917 : 9,1622	25,7218 : 31,5028
		(22)F	6,3532 : 9,2286	24,6596 : 36,7477
SM	F ₀	(82)T	6,4034 : 7,2430	29,0719 : 32,3188
		(38)M	5,9997 : 7,4318	27,0847 : 31,8753
		(44)F	6,4095 : 7,4223	29,4963 : 33,9937
	F ₁	(64)T	10,5424 : 11,7451	30,9012 : 34,9198
		(27)M	9,6210 : 11,5272	28,9602 : 34,5769
		(37)F	10,7755 : 12,3435	30,8536 : 36,6340
	F ₂	(17)T	6,4310 : 9,4043	28,7690 : 39,6239
		(11)M	6,0676 : 10,0778	27,4647 : 42,4953
		(06)F	4,5226 : 10,7441	22,1370 : 43,3830

(n) número de crianças.

Valores Normais: 10 à 14 µg Zn/ mL Eritrócito (BRODY, 1994)
40 à 44 µg Zn/ g Hb (GUTHRIE e PICCIANA, 1995)

A fortificação com ferro não refletiu diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) nas concentrações de zinco no eritrócito entre as crianças de ambas as creches.

As diferenças observadas nos cardápios poderiam de alguma forma ter influenciado a biodisponibilidade do zinco nestas fases, embora sem alteração da quantidade de zinco oferecida. Ressalta-se entretanto, que a maioria das crianças tanto no início como no final do estudo estavam deficientes em zinco.

Considerando o valor de zinco no eritrócito expresso por grama de hemoglobina, observa-se que este parâmetro variou em função do resultado obtido para o total de hemoglobina nos eritrócitos (**TABELA VII**). Pode-se aqui ressaltar a dificuldade do método e da própria interpretação dos resultados expressos desta maneira.

Conforme era de se esperar, na creche ST, na F_1 , houve aumento na concentração de hemoglobina no eritrócito com a presença do alimento fortificado na dieta; entretanto, na creche SM, observou-se que mesmo sem a fortificação, também houve um aumento na oferta de ferro, tendo as duas creches se comportado de forma semelhante em relação a este parâmetro. Provavelmente a absorção do ferro entre as crianças, suplementadas ou não, foi semelhante, uma vez que quelatos de ferro não sofrem interferência com agentes inibidores no lúmen intestinal (TORRES e col., 1996).

TABELA VII: Intervalos de confiança para a concentração de hemoglobina por dL de eritrócito, em pré-escolares por sexo, segundo creche e fase de estudo.

São Paulo, 1994/ 95.

CRECHE	FASE	SEXO (n)	Hb (g/dLE)
ST	F ₀	(68)T	19,1195 : 21,2464
		(33)M	19,1873 : 22,2042
		(35)F	18,1438 : 21,2551
	F ₁	(51)T	32,1111 : 34,9082
		(24)M	32,8119 : 36,3105
		(27)F	30,5237 : 34,7995
	F ₂	(35)T	25,3622 : 28,0104
		(13)M	26,1590 : 30,1794
		(22)F	24,0607 : 27,5593
SM	F ₀	(82)T	21,3285 : 23,6310
		(38)M	20,8342 : 25,3326
		(44)F	20,9582 : 22,9587
	F ₁	(64)T	33,2489 : 35,1167
		(27)M	32,1636 : 34,6061
		(37)F	33,4005 : 36,1297
	F ₂	(17)T	23,5377 : 29,9181
		(11)M	20,5821 : 28,5579
		(06)F	23,8281 : 34,7283

(n) número de crianças.

Valores Normais: 34 g/ dL Eritrócito (GUYTON e HALL, 1996)

Por outro lado, quando analisamos na F_2 , verifica-se que houve redução em ambas as creches, independentemente da presença do alimento fortificado na creche SM. Portanto, os dados obtidos são coerentes com a presença ou não destes nutrientes nas dietas.

Ressalta-se ainda, que novamente, a expressão do resultado de zinco por grama de hemoglobina, mostrou deficiência de zinco segundo este parâmetro, de 47% na F_0 , 74,5% na F_1 e 70% na F_2 para a creche ST; e 88% na F_0 , 87,5% na F_1 e 70% na F_2 para a creche SM (GUTHRIE e PICCIANO, 1995).

A análise destes dados nos permite dizer que a maioria das crianças encontrava-se deficiente em zinco.

Visando uma melhor interpretação dos resultados, na **TABELA VIII** pode-se observar os dados obtidos apenas para as crianças que participaram das três fases do estudo.

Verifica-se que em relação a concentração de zinco expressa por mL de eritrócito, o comportamento foi semelhante ao obtido para a amostra total nas creches.

Entretanto, observa-se nesta tabela que na creche ST, conforme era esperado, houve um aumento da hemoglobina no eritrócito com o alimento fortificado, seguida de uma diminuição com a suspensão da fortificação. Quando analisado o valor de zinco para este parâmetro, verifica-se que em todos os momentos estudados, as crianças encontravam-se deficientes em zinco.

Verifica-se também que a dieta oferecida nestes períodos estava deficiente neste nutriente e a razão molar na F₁ foi superior a 2,0, considerada crítica. Entretanto, tal fato não teve maior repercussão quando todas as fases são comparadas (COUSY e col., 1993; SOLOMONS, 1983).

TABELA VIII: Valores médios da concentração de zinco por mL de eritrócito e por grama de hemoglobina, e da concentração de hemoglobina por dL de eritrócito em pré-escolares, segundo creche e fase de estudo. São Paulo, 1994/ 95.

CRECHE	FASE	No. de crianças	Zn (µg/mL E)	Zn (µg/g Hb)	Hb (g/dL E)
ST	F ₀	29	7,1 (±2,0)	37,7 (±9,6)	19,3 (±4,6)
	F ₁	29	11,1 (±3,2)	34,7 (±11,5)	33,0 (±6,0)
	F ₂	29	8,0 (±2,7)	30,4 (±11,6)	26,6 (±4,0)
SM	F ₀	16	6,4 (±1,9)	26,8 (±7,0)	23,9 (±3,5)
	F ₁	16	9,7 (±2,5)	31,5 (±11,9)	33,2 (±3,4)
	F ₂	16	8,2 (±2,7)	34,5 (±10,8)	26,9 (±6,6)

() desvio-padrão.

Valores Normais: 10 à 14 µg Zn/ mL Eritrócito (BRODY, 1994)
 40 à 44 µg Zn/ g Hb (GUTHRIE e PICCIANA, 1995)
 34 g/ dL Eritrócito (GUYTON e HALL, 1996)

Na creche SM, observa-se que diferentemente do esperado, quando o alimento fortificado foi oferecido (F_2), a quantidade total de ferro total na dieta foi inferior à da F_1 , que não recebeu o alimento fortificado. Este fato influenciou o resultado obtido quanto à concentração de hemoglobina no eritrócito. Da mesma forma, em relação ao zinco, não observou-se mudanças significativas entre as F_1 e F_2 , tendo entretanto mostrado uma melhoria em relação à F_0 . Quando compara-se ambas as creches, observa-se que na F_0 houve diferença significativa entre as creches, sendo a SM mais deficiente em zinco.

Comparando os resultados de zinco no eritrócito com os obtidos para zinco no plasma no início do estudo, verifica-se que este parâmetro não é adequado para medir o estado nutricional em relação ao zinco, conforme já relatado por Gibson (1990), uma vez que não refletiu a deficiência deste mineral, observada quando da análise do zinco no eritrócito.

Apesar da concentração média de zinco plasmático no início do estudo, se encontrar dentro dos parâmetros normais, as dietas das crianças eram deficientes em zinco, em todas as fases do estudo.

Vanderkooy e Gibson (1987), também não encontraram diferença na concentração plasmática de zinco ao investigarem o consumo alimentar de pré-escolares canadenses, mesmo estando o zinco presente na dieta em quantidades abaixo do recomendado. O plasma das crianças apresentava concentrações normais de zinco, não refletindo o padrão de consumo alimentar. O mesmo ocorreu em relação a este trabalho.

A concentração de ferro em alimentos infantis fortificados com ferro, não provê alteração na absorção deste mineral entre 8 e 12 mg, segundo estudos com ^{58}Fe (FOMON e col., 1997). As dietas das creches variaram entre 7 e 12 mg de ferro total, o que pode ter causado o mesmo comportamento na absorção de ferro e na ausência de interação com zinco, em qualquer que fosse a fase ou creche.

Outro ponto a ser ressaltado é que a análise química das dietas foi feita em relação ao oferecido e não em relação ao consumo real dos alimentos. A ingestão alimentar poderia determinar as diferenças apresentadas. Sua avaliação deve ser necessária em investigações futuras com fortificação.

O nutriente adicional dado através do queijo “petit suisse” teve efeito na prevenção e controle da anemia, melhorando as concentrações de hemoglobina de crianças pré-escolares de creches em São Paulo (FISBERG e col., 1995). Entretanto, ao se comparar o estado de zinco frente à suplementação de ferro, deve-se associar a quantidade dos minerais presentes no demais alimentos do cardápio.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir:

1. As dietas oferecidas nas creches ST e SM na fase inicial (F_0) estavam deficientes em calorias e zinco, sendo também deficiente em ferro na SM.
2. Com a introdução do alimento fortificado com ferro, a creche ST apresentou valores adequados para este nutriente na fase intermediária (F_1) e a creche SM, mesmo com a fortificação na última fase (F_2) não atingiu o valor recomendado.
3. Para as crianças acima de 4 anos de idade, a adequação piorou em função do aumento das necessidades.
4. A fortificação do queijo “petit suisse” com ferro aminoquelato não interferiu no estado nutricional relativo ao zinco.
5. O estado nutricional das crianças em relação ao zinco estava deficiente, podendo ser atribuído à qualidade da dieta oferecida.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGGETT, P.J. - The assessment of Zinc status: a personal view. Proc. Nutr. Soc., Cambridge, v.50, p.9-17, 1991.
2. AHMED, F., BARUA, S., MOHIDUZZAMAN, M., SHAIHEEN, N., BHUYAN, M. A. H., MARGETTS, B. M., JACKSON, A. A. - Interactions between growth and nutrient status in school-age children of urban Bangladesh. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.58, p.334-8, 1993.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of AOAC. 14. ed. Arlington, 1984. 1141p.
4. AVANCINI, S.R.P. - Biodisponibilidade de zinco do extrato solúvel de soja suplementado com cálcio. São Paulo, 1988. 94p. [Dissertação Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP].
5. BALLOT, D.E., MacPHAIL, A.P., BOTHWELL, T.H., GILLOOLY, M., MAYET, F.G. - Fortification of curry powder with NaFe(111)EDTA in an iron-deficient population: report of a controlled iron-fortification trial. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.49, p.162-9, 1989.
6. BARNEY, G.H., MACAPINLAC, M.P., PEARSON, W.N., DARBY, W.J. - Parakeratosis in tongue of squirrel monkey. J. Nutr., Philadelphia, v.93, p.511-7, 1967.

7. BAYNES, R.D., BOTHWELL, T.H. - Iron deficiency. Annu. Rev. Nutr., Palo Alto, v.10, p. 133-48, 1990.
8. BRAGA, J.A.P., FISBERG, M. - Avaliação do estado nutricional de pré-escolares submetidos a intervenção com um suplemento lácteo fortificado com ferro. São Paulo, 1996. 151p. [Tese de Doutorado - Universidade Federal de São Paulo/ Escola Paulista de Medicina].
9. BRINDA, G. - The role of zinc in human nutrition. Nutr. Food Sci., London, v.98, p.17-8, 1986.
10. BRODY, T. - Nutricional biochemistry. San Diego: Academic Press, 1994. p.588.
11. BUSSAB, W.P. - Estatística básica. 4.ed. São Paulo: Atual, 1988. 321p.
12. CASTILLO-DURAN, C., HERESI, G., FISBERG, M., UAUY, R. - Controlled trial of zinc supplementation during recovery from malnutrition: effects on growth and immune function. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.45, p.602-8, 1987.
13. CHAUD, M.V., FREITAS, O. - Compostos alternativos para o tratamento e/ou prevenção da anemia ferropriva. Cad. Nutr., Ribeirão Preto, v.8, p.1-9, 1994.
14. COUZY, F., KEEN, C., GERSHWIN, M. E., MARESCHI, J. P. - Nutritional implications of the interactions between minerals. Prog. Food Nutr. Sci., Davis, v.17, p.65-87, 1993.

15. DALLMAN, P.R., SILMES, M.A., STEKEL, A. - Iron deficiency in infancy and childhood. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.33, p.86-118, 1980.
16. DATTA, R.N., HALDER, K., KRISHNAMURTHY, K.A., NARASINGA-RAO, B.S., NATH, L.M., SOOD, S.K., SRIKANTIA, S.G. - Use of common salt fortified with iron in the control and prevention of anemia - a collaborative study. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.35, p.1442-51, 1982.
17. DAVIDSON, L., ALMGREN, A., SANDSTROM, B., HURRELL, R.F. - Zinc absorption in adults humans: the effect of iron fortification. Br. J. Nutr., London, v.74, p.417-25, 1995.
18. De GROOT, M. - Introduction to probability analysis. Mc Graw-Hill, 1985.
19. DeMAEYER, E., ADIELS-TEGMAN, M. - The prevalence of anaemia in the world. World Health Statist. Q., Geneva, v.38, p.302-16, 1985.
20. DONANGELO, C.M., AZEVEDO, C. E. - Zinco sérico em crianças brasileiras de famílias de baixa renda. Arch. Latinoam. Nutr., Caracas, v.34, p.291-7, 1984.
21. DRABKIN, D. L., AUSTIN, J. H. - Spectrophotometric studies. II. Preparations from washed blood cells: nitric oxide hemoglobin and sulphhemoglobin. J. Biol. Chem., Baltimore, v. 112, p. 51-65, 1935.
22. DYNNA, O., HAVRE, G.N. - Interrelationship of zinc and copper in the nutrition of cattle. Acta Vet. Scand., Copenhagen, v.4, p.197, 1963.

- 23.** FAIRWEATHER-TAIT, S.J. - Bioavailability of trace elements. Food Chem., Barking, v.42, p.213-7, 1992.
- 24.** FAIRWEATHER-TAIT, S.J. - Zinc in human nutrition. Nutr. Res. Rev., Cambridge, v.1, p.23-37, 1988.
- 25.** FAIRWEATHER-TAIT, S.J., WHARF, S.G., FOX, T.E. - Zinc absorption in infants fed iron-fortified weaning food. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.62, p.785-9, 1995.
- 26.** FERGUSON, E.L., GIBSON, R.S., THOMPSON, L.U., OUNPUU, S. - Dietary calcium, phytate, and zinc intakes and the calcium, phytate, and zinc molar ratios of the diets of a selected group of East African children. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.50, p.1450-6, 1989.
- 27.** FICKEL, J.J., FREELAND-GRAVES, J.H., ROBY, M.J. - Zinc tolerance tests in zinc deficient and zinc supplemented diets. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.43, p.47-58, 1986.
- 28.** FISBERG et alli – Utilização de queijo "petit suisse" na prevenção da anemia carencial em pré-escolares. Clin. Pediatr., São Paulo, v.6, p.14-24, 1995.
- 29.** FOMON, S.J., ZIEGLER, E.E., SERFASS, R.E., NELSON, S.E., FRANTZ, J.A. - Erythrocyte incorporation of iron is similar in infants fed formulas fortified with 12 mg/ L or 8 mg/ L of iron. J. Nutr., Philadelphia, v.127, p.83-8, 1997.

30. GIBSON, R. S., HEYWOOD, A., YAMAN, C., SOHLSTROM, A., THOMPSON, L. U. - Growth in children from the Wosera subdistrict, Papua New Guinea in relation to energy and protein intakes and zinc status. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.523, p.782-9, 1991.
31. GIBSON, R. S., VANDERKOOY, P.D.S., MACDONALD, A.C., RYAN, B.A., BERRY, M. - A growth-limiting, mild zinc-deficiency syndrome in some Southern Ontario boys with low height percentiles. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.49, p.1266-73, 1989.
32. GIBSON, R. S. - Principles of nutritional assessment. New York: Oxford University Press, 1990. p. 155-62; 285-306; 511-3; 542-53.
33. GUTHRIE, H.A., PICCIANO, M.F. - Human nutrition. St. Louis: Mosby, 1995. p.351-7.
34. GUYTON, A. C., HALL, J. E. - Text book of medical physiology. 9.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p.425-33.
35. HAHN, C.J., EVANS, G.W. - Absorption of trace metals in the zinc-deficient rat. Am. J. Physiol., Bethesda, v.228, p.1020-3, 1975.
36. HALSTED, J.A., RONAGHY, H.A., ABADI, P., HAGHSHENASS, M., AMIRHAKEMI, G.H., BARAKAT, R.M., REINHOLD, J.G. - Zinc deficiency in man: the shiraz experiment. Am. J. Med., New York, v.53, p.277-84, 1972.
37. HAMBIDGE, K.M. - Assessing the trace element status of man. Proc. Nutr. Soc., Cambridge, v.47, p.37-44, 1988.

- 38.** HAMBIDGE, K.M., HAMBIDGE, C., JACOBS, M., BAUM, J.D. - Low levels of zinc in hair, poor growth and hypoguesia in children. Pediatr. Res., Baltimore, v.6, p.868-74, 1972.
- 39.** HILL, C.L., MALTRONE, G. - Chemical parameters in the study of in vivo and in vitro interactions of transition elements. Fed. Proc., Washington, v.29, p.1474-81, 1970.
- 40.** HURRELL, R.F., FURNISS, D.E., BURRI, J. WHITTAKER, P, LYNCH, S.R., COOK, J.D. - Iron fortification on infant cereals: a proposal for the use of ferrous fumarate or ferrous succinate. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.49, p.1274-82, 1989.
- 41.** INSTITUTO ADOLFO FUTZ - Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3. ed. São Paulo, 1985. v.1, 533p.
- 42.** JACKSON, M.J., LOWE, N.M. - Physiological role of zinc. Food Chem., Barking, v.43, p.233-8, 1992.
- 43.** JELLIFE, D.B. - The assessment of the nutritional status of the community. Geneva: World Health Organization, 1966. p.50 [Monograph Series, v.53].
- 44.** KEILIN, D., MANN, J. - Carbonic anhydrase. Purification and nature of the enzyme. Biochem. J., London, v.34, p.1163-76, 1940.
- 45.** KRAUSE, M.V., MAHAN, L.K. - Alimentos, nutrição e dietoterapia. 6.ed. São Paulo: Roca, 1985. p.152-4, 332, 813-21.

46. LUECKE, R.W. - Domestic animals in the elucidation of zinc's role in nutrition. Fed. Proc., Washington, v.43, p.2823-28, 1984.
47. MacPHAIL, A.P., PATEL, R.C., BOTHWELL, T.H., LAMPARELLI, R.D. - EDTA and the absorption of iron from food. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.59, p.644-8, 1994.
48. MAIHARA, V.A. - Análise por ativação com nêutrons: fundamentos e aplicações gerais. São Paulo: IPEN/CNEN - Divisão de Radioquímica, 1988. 33p.
49. MEJÍA, L.A. - Fortification of foods: historical development and current practices. Food Nutr. Bull., Tokyo, v.15, p.278-81, 1994.
50. MILLER, J.K., MILLER, W.J. - Experimental zinc deficiency and recovery of calves. J. Nutr., Philadelphia, v.76, p.467-74, 1962.
51. MILLS, C.F., DALGARNO, A.C., WILLIAMS, R.B., QUARTERMAN, J. - Zinc deficiency and the zinc requirement of calves and lambs. Br. J. Nutr., London, v.21, p.751-68, 1967.
52. MILLS, C.F., ed. - Zinc in human biology. London: Springer, 1989. 388p.
53. MILLS, C.F., QUARTERMAN, J., CHESTERS, J.K., WILLIAMS, R.B., DALGARNO, A.C. - Metabolic role of zinc. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.22, p.1240-9, 1969.

54.MOREIRAS-VARELA, O., ORTEGA, R.M., CARBAJAL, A., VARELA, G.

- Estado nutritivo de una poblacion infantil marginal de la comunidad autonoma de Madrid, España. Arch. Latinoam. Nutr., Caracas, v.38, p.803-14, 1988.

55. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Food and Nutrition Board.

Recommended dietary allowances. 10. ed. Washington: National Academy of Science, 1989. 284p.

56.NOGUEIRA, N.N., COLLI, C., COZZOLINO, S.M.F. - Controle da

anemia ferropriva em pré-escolares por meio da fortificação de alimento com concentrado de hemoglobina bovina. (Estudo preliminar). Cad. Saúde Publica, São Paulo, v.8, p.270-86, 1992.

57.O'DELL, B.L. - Effect of dietary components upon zinc availability. Am.

J. Clin. Nutr., Bethesda, v.22, p.1315-22, 1969.

58.O'DELL, B.L. - History and status of zinc in nutrition. Fed. Proc.,

Washington, v.43, p.2821-2, 1984.

59.O'DELL, B.L., NEWBERNE, P.M., SAVAGE, J.E. - Significance of

dietary zinc for the growing chicken. J. Nutr., Philadelphia, v.65, p.503-23, 1958.

60.O'DELL, B.L., SAVAGE, U.E. - Symptoms of zinc deficiency in the chick.

Fed. Proc., Washington, v.16, p.394, 1957. [Resumo 1690].

61.ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) - Medicion del

cambio del estado nutricional. Ginebra: OMS, 1983. 105p.

- 62.** ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). Primer informe sobre la situacion de la nutricion en el mundo. Washington, 1990. 52p. [Cuaderno Técnico, n. 28].
- 63.** OTT, E.A., SMITH, W.H., STOB, M., BEESON, W.M. - Zinc deficiency syndrome in the young lamb. J. Nutr., Philadelphia, v.82, p.41-50, 1964.
- 64.** PARISI, A.F., VALLE, B.L. - Zinc metalloenzymes: characteristics and significance in biology and medicine. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.22, p.1222-39, 1969.
- 65.** PIKE, R.L. – Nutrition: an integrated approach. 3. ed. New York: Wiley, 1984. 1068p.
- 66.** PRASAD, A.S. - A century of research on the metabolic role of zinc. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.22, p.1215-21, 1969.
- 67.** PRASAD, A.S., MIALE JR., A., FARID, Z., SANDSTEAD, H.H., SCHULERT, A.R. - Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism, and hypogonadism. J. Lab. Clin. Med., St. Louis, v.61, p.537-49, 1963.
- 68.** PRASAD, A.S., WASTED, J.A., NADINI, M. - Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hipogonadism, dwarfism and geophagy. Am. J. Med., New York, v.31, p.532-8, 1961.

69. PROSKY, L., ASP, N.-G., SCHWEIZER, T. F., DEVRIES, J.W., FURDA, I. - Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products. Interlaboratory study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., Washington, v.71, p.1017-23, 1988.
70. ROBERTSON, B.T., BURNS, M.J. - Zinc metabolism and the zinc deficiency syndrome in the dog. Am. J. Vet. Res., Chicago, v.24, p.997-1002, 1963.
71. RODRIGUES, M.P., DEMCZYLO, V., CID, A. - A simpler method for the determination of zinc human plasma levels by flame atomic absorption spectrophotometry. At. Spectrosc., Norwalk, v.10, n.2, p.68-70, 1989.
72. RONAGHY, H., SPIVEY FOX, M.R., GARN, S.M., HARP, A., MOE, P.G., HALSTED, J.A. - Controlled zinc supplementation for malnourished school boys: A pilot experiment. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.22, p.1279-89, 1969.
73. SANDSTEAD, H.H., PRASAD, A.S., SCHULERT, A.R., FARID, Z., MIALE Jr, A., BASSILLY, S., DARBY, W.J. - Human zinc deficiency, endocrine manifestation and response to treatment. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.20, p.422-42, 1967.
74. SCHULTINK, W., GROSS, R., GLIWITZKI, M., KARYADI, D., MATULESSI, P. - Effect of daily vs twice weekly iron supplementation in Indonesian preschool children with low iron status. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.61, p.111-5, 1995.

- 75.** SHRIMPTON, R., FRANÇA, T.S., ROCHA, Y.R., GOLDEN, M.H.N. -
Estudo sobre o estado nutricional em relação a zinco na Amazônia.
Acta Amazônica, Manaus, v.13, p.73-94, 1983.
- 76.** SOLOMOMS, N.W. - Competitive interaction of iron and zinc in the diet:
consequences for human nutrition. J. Nutr., Philadelphia, v.116,
p.927-35, 1986.
- 77.** SOLOMOMS, N.W., PINEDA, O., VITERI, F., SANDSTEAD, H.H. -
Studies on the bioavailability of zinc in humans: mechanism of the
intestinal interaction of nonheme iron and zinc. J. Nutr.,
Philadelphia, v.113, p.337-49, 1983.
- 78.** SOLOMONS, N.W. - Competitive mineral-mineral interaction in the
intestine. In: INGLET, G.E., ed. Nutritional bioavailability of zinc.
Washington: American Chemical Society, 1983. p.245-71.
- 79.** SOLOMONS, N.W. - Zinc and copper. In: SHILS, M.E., YOUNG, V.R.,
eds. Modern nutrition in health and disease. 7.ed. Philadelphia: Lea
& Febijer, 1988. p.238-49.
- 80.** SOLOMONS, N.W., JACOB, R.A. - Studies on the bioavailability of zinc
humans: effects of heme and nonheme iron on the absorption of
zinc. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.34, p.475-82, 1981.
- 81.** SOMMER, A.L., LIPMAN, C.B. - Evidence on the indispensable nature of
zinc and boro for higher green plants. Plant Physiol., Bethesda, v.1,
p.231-49, 1926.

- 82.** SZARFARC, S.C., STEFANINI, M.L., LERNER, B.R. - Anemia nutricional no Brasil. Cad. Nutr., Ribeirão Preto, v.9, p.5-24, 1995.
- 83.** TODD, W.R., ELVEHJEM, C.A., HART, E.B. - Zinc in rat nutrition. Am. J. Physiol., Bethesda, v.107, p.146-56, 1934.
- 84.** TORRES, M.A.A., LOBO, N.F., SATO, K., QUEIROZ, S.S. - Fortificação do leite fluido na prevenção e tratamento da anemia carencial ferropriva em crianças menores de 4 anos. Rev. Saúde Publica, São Paulo, v.30, p.350-7, 1996.
- 85.** TUCKER, H.F., SALMON, W.D. - Parakeratosis on zinc deficiency disease in the pig. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., New York, v.88, p.613-6, 1955.
- 86.** VANDERKOOY, P.D.S., GIBSON, R.S. - Food consumption patterns of Canadian preschool children in relation to zinc and growth status. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.45, p.609-16, 1987.
- 87.** VANNUCCHI, H., FREITAS, M.L.S. e SZARFARC, S.C. - Prevalência de anemias nutricionais no Brasil. Cad Nutr, Ribeirão Preto, v.4, p.7-26, 1992.
- 88.** WALRAVENS, P.A., KREBS, N.F., HAMBIDGE, K.M. - Linear growth of low income preschool children receiving a zinc supplement. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.38, p.195-201, 1983.

- 89.**WALTER, T., HERTRAMPF, E., PIZARRO, F., OLIVARES, M., LLAGUNO, S., LETELIER, A., VEGA, V., STEKEL, A. - Effect of bovine-hemoglobin-fortified cookies on iron status of schoolchildren: a nationwide program in Chile. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.57, p.190-4,1993.
- 90.**WINTROBE, M.M. – Wintrobe's clinical hematology. 9.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 2v.
- 91.**WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) - The use and interpretation of anthropometry. Geneva, 1995. [Technical Report Series, n. 854].
- 92.**YIP, R., REEVES, J.D., LONNERDAL, B., KEEN, C.L., DALLMAN, P.R.- Does iron supplementation compromise zinc nutrition in healthy infants? Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, v.42, p.683-7, 1985.

RESUMO

Com o objetivo de verificar o consumo alimentar e o estado nutricional em relação ao zinco de crianças submetidas a um programa de suplementação com ferro, foram estudadas 150 crianças com idade entre 2 e 7 anos, que pertenciam a por 2 creches do município de São Paulo. O período de estudo foi de 7 meses, dividido em três fases (F_0 , F_1 e F_2), onde avaliou-se em cada fase a dieta oferecida e a concentração de zinco no eritrócito das crianças. Na fase inicial do estudo (F_0) avaliou-se a dieta normal oferecidas nas creches e o estado nutricional inicial das crianças; na F_1 , a creche ST recebeu o alimento fortificado com ferro e a creche SM recebeu o mesmo alimento porém sem a fortificação. Já na F_2 , a creche ST recebeu o alimento sem fortificação e a SM o alimento fortificado. Pelos resultados obtidos pode-se concluir que: as dietas se apresentaram deficientes em caloria e zinco para a creche ST e também em ferro para a creche SM, não estando adequada especialmente para as crianças acima de 4 anos; a fortificação do queijo "petit suisse" com ferro aminoquelato não causou mudança na concentração de zinco nos eritrócitos das crianças analisadas ao longo do estudo, embora o estado nutricional das mesmas em relação a este mineral encontrava-se deficiente podendo ser atribuído à qualidade da dieta.

SUMMARY

Aiming to value the food consumption and the nutritional status of zinc on infants submitted to an iron supplementation program, were studied 150 pre-schollars aged 2 to 7 years old of two nurseries (ST e SM) in the city of São Paulo. Studies were seven month, based on three stages (F_0 , F_1 e F_2), where was assessed the diets offered and the erythrocyte zinc on infants, in the each stage. In the initial stage (F_0) were assessed the regular diets offered by the nurseries and the initial nutritional status on infants; in the F_1 the diets from nursery ST had meals supplemented with iron and the diets from nursery SM had the same meals although without the supplementation. In F_2 , the diets from nursery ST had meals without the supplementation and the diets from nursery SM the meals supplemented with iron. According with the results we can conclude: the diets were calories and zinc deficient to nursery ST and iron deficient to nursery SM, also; the iron supplementation in the “petit suisse” cheese with aminoquell - iron did not cause any change in the erythrocyte zinc concentration of the children being studied although the nutritional status were zinc deficient due to a quality of the diets.

ANEXO 1

INICIAIS DA CRIANÇA: _____
NÚMERO DA CRIANÇA: _____

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

USO DE ALIMENTO "QUEIJO PETIT SUISSE" FORTIFICADO COM FERRO EM CRIANÇAS DE 1 À 6 ANOS DE IDADE

Está sendo solicitada a participação de seu filho (filha), em um estudo para verificar o valor nutricional de um alimento fortificado com ferro ("queijo petit suisse"). Leia com atenção as informações a seguir, faça ao médico ou à nutricionista as perguntas que desejar e, após ter certeza de haver entendido tudo o que lhe foi explicado, dê seu consentimento, se estiver de acordo, assinando no final deste formulário.

Este estudo será realizado pela Disciplina de Nutrição e Metabolismo do Departamento de Pediatria da Escola Paulista de Medicina, nas creches de São Paulo-SP, em aproximadamente 150 crianças.

O alimento contém ferro, e foi desenvolvido para auxiliar o combate à anemia nutricional, ou para complementar a alimentação habitual de crianças com idade entre 01 e 07 anos. Durante o estudo, por aproximadamente 06 meses, as crianças dessas creches, cujos pais consentirem, receberão o "queijo petit suisse" como lanche na merenda da creche. Com isto procura-se melhorar a alimentação habitualmente dada nessas creches e procura-se melhorar o crescimento e desenvolvimento dessas crianças.

O uso deste alimento não traz riscos às crianças, pois é apenas um alimento produzido, com qualidade e cuidados higiênicos. O único desconforto possível é a coleta de amostras de sangue. Essas coletas serão feitas por técnico habilitado, de forma a causarem o mínimo desconforto, e as amostras de sangue serão muito pequenas, para não causar problemas às crianças.

A possível vantagem que as crianças terão neste estudo é um melhor estado nutricional, com crescimento e desenvolvimento melhores.

Não haverá qualquer despesa extra para as famílias das crianças que participarem deste estudo. O alimento será dado gratuitamente e todos os exames médicos e laboratoriais serão cobertos pela Disciplina de Nutrição e Metabolismo e pelo fabricante do produto.

A participação neste estudo é voluntária. Se você aceitar que sua criança participe deste estudo, terá direito de fazer perguntas aos médicos e nutricionistas, agora ou a qualquer momento durante o estudo. Se a qualquer momento durante o estudo você quiser retirar sua criança do mesmo, terá todo o atendimento normal, apenas deixará de receber o alimento e de fazer os exames informados.

Se concordar em que sua criança participe do estudo, você tem a garantia de que seus dados individuais serão mantidos confidenciais e de que ela não será identificada quando os dados totais do estudo forem apresentados em congresso médico, ou publicados em revistas científicas. Para qualquer informação durante o estudo, você poderá consultar o pessoal da creche, ou falar com o Dr. Mauro ou Dra. Josefina, através dos telefones 544.1246 e 576.4462.

Eu, _____, responsável legal pelo
menor _____, declaro que li e entendi o
que me foi explicado e concordo voluntariamente em que participe do estudo
nutricional de que trata este formulário.

São Paulo, _____ de _____ de 199

Assinatura do responsável pela criança

Assinatura do médico responsável

ANEXO 2

ST	F ₁	A	3131,9	910,8	62,1	5,6	60,4	78,2	20,4	122,9	14,3	2,9	26,7	59,4	563,4	65,3	3448,8	1149,6
		Danone c % da die	281,4 9,0	95,3 10,4	66,1	6,0	5,7	21,5	42,1	12,4	10,8	2,1	1,4		54,2	47,1	460,3	153,4 13,3
ST	F ₁	B	3284,8	785,4	76,1	5,8	45,7	88,2	25,0	100,7	12,7	4,1	26,8	28,7	495,3	62,4	3177,5	1059,2
		Danone c % da die	281,4 8,5	95,3 12,1													153,4 14,4	
ST	F ₁	C	2759,8	866,4	68,6	4,8	41,6	88,5	22,9	131,4	15,1	4,0	29,4	37,5	538,1	62,0	3474,3	1158,1
		Danone c % da die	281,4 10,1	95,3 10,9													153,4 13,2	
ST	F ₂	A	2377,9	630,9	73,5	6,7	42,3	49,1	18,7	91,1	15,4	3,8	20,4	39,1	388,8	65,9	2361,5	787,2
		Danone s % da die	259,2 10,9	89,2 14,1	65,6	5,6	5,0	16,4	36,0	12,5	12,2	3,2	2,1		53,1	51,8	410,3	136,8 17,3
ST	F ₂	B	1962,5	556,4	71,6	5,3	29,4	80,0	30,1	75,6	12,7	3,9	17,4	12,0	342,0	57,2	2390,7	796,9
		Danone s % da die	261,5 13,3	89,7 16,1													412,6	137,5 17,2
ST	F ₂	C	2263,8	668,6	70,5	6,1	41,1	58,3	20,7	122,9	19,4	4,1	23,2	44,3	378,9	59,9	2531,8	843,9
		Danone s % da die	261,5 11,5	89,7 13,4													412,6	137,5 16,2

ANEXO 3

[illegible]