UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos

**UTILIZAÇÃO DE BISCOITO FORTIFICADO COM
CONCENTRADO DE HEMOGLOBINA BOVINA NA
DIETA DE PRÉ-ESCOLARES. EFEITO NO ESTADO
DE NUTRIÇÃO EM FERRO**

NADIR DO NASCIMENTO NOGUEIRA

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Profa. Dra. SILVIA MARIA FRANCISCATO COZZOLINO

12137
São Paulo
1990

**Aos meus pais, que à distância,
incentivaram e participaram
desta conquista.**

**Aos meus irmãos, cunhados
e sobrinhos.**

Ao Tota.

**Aos pré-escolares da creche
"Tia Belisa", por viabilizarem
o desenvolvimento deste estudo.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder este momento.

A todos que participaram no desenvolvimento deste trabalho, expresso os especiais agradecimentos:

À Prof^a. Dra. SILVIA MARIA FRANCISCATO COZZOLINO, pela orientação segura, confiança e carinho com que sempre me tratou;

Ao Prof. Dr. FRANCO MARIA LAJOLO, pela atenção e por ter me despertado para a importância da Ciência dos Alimentos;

À Prof^a. Dra. MARILENE DE VUONO CAMARGO PENTEADO, pelo apoio à nossa formação;

A todos os professores do DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO EXPERIMENTAL DA FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA USP;

Ao Prof. Dr. MÁRIO HIROYURI HIRATA e Prof^a. ROSÁRIO DOMÍNGUEZ CREPO HIRATA do Laboratório de Bioquímica Clínica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelo interesse e colaboração;

Ao Prof. Dr. ANTONIO ALTAIR MAGALHÃES OLIVEIRA e funcionários do Laboratório de Hematologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pela receptividade e atenção;

Às nutricionistas MARIA DO ROSÁRIO AIRESMORAIS e MARIA DE FÁTIMA BEZERRA SILVA, da DIVISÃO DE SAÚDE E NUTRIÇÃO do Serviço Social do Estado do Piauí - SERSE, pela colaboração e interesse que sempre demonstraram por este trabalho;

Ao Dr. JOSÉ DA SILVA FONTES, do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí - HEMOPI, e Dr. FRANCISCO MOURA, do Laboratório Central de Saúde Pública Dr. COSTA ALVARENGA, pela atenção e inestimável colaboração;

Ao Dr. LEONILSON SERRÃO ARAÚJO, do Frigorífico de Timon LTDA FRIGOTIL, pela inestimável colaboração;

Ao Sr. FIRMINO, da MAPIL - PRODUTOS ALIMENTÍCIOS S.A., pela atenção e por ter viabilizado a realização deste trabalho;

Ao Coordenador e Funcionários da Creche "TIA BELISA", pelo apoio e dedicação;

Aos funcionários da Companhia Produtora de Alimentos do Piauí - COPA, pela disponibilidade e atenção que sempre me dispensaram;

Aos funcionários JOÃO DA PENHA, TERESA CRISTINA COSTA BARETTO e SANDRA MESQUITA DO NASCIMENTO, pelos auxílios técnicos prestados e forma carinhosa com que sempre me trataram;

Às secretárias BENEDITA C. S. DE OLIVEIRA, LOANDA D EURYDICE e CLÁUDIA REGINA R. DENANI, pela dedicação e auxílios técnicos;

Aos colegas da Universidade Federal do Piauí, que, a distância, apoiaram e incentivaram o desenvolvimento deste trabalho;

Ao PROGRAMA DE INCENTIVO À CAPACITAÇÃO DOCENTE - MEC, pela bolsa de estudo concedida durante a realização do curso de Mestrado;

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pelo convívio agradável, amizade e confiança;

Às bibliotecárias da Biblioteca do Conjunto das Químicas da Universidade de São Paulo, pelas orientações bem conduzidas;

À FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS e a todo seu corpo docente, pela oportunidade concedida e colaboração para meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Prof^ª. Dra. CÉLIA COLLI, pela co-orientação segura, disponibilidade ilimitada, confiança, e pela participação efetiva no desenvolvimento deste trabalho;

Ao Dr. ALBERTO TAVARES SILVA, Governador do Estado do Piauí, pelo apoio e incentivo, sem os quais este trabalho não teria sido realizado;

Ao Dr. PERY MOREIRA DE CARVALHO, pela paciência e apoio constante, que em muito contribuíram para a realização deste trabalho;

À amiga ROSEANNE PORTO DANTAS MAZZA, pela amizade, convívio e inestimável participação para o meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Dr. ANTONIO CÉSAR DE OLIVEIRA, pela atenção e inestimável ajuda nas correções do texto deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	12
2.1. Geral	12
2.2. Específicos	12
3. PLANEJAMENTO	13
4. MATERIAL	14
4.1. População estudada	14
4.1.1. Creche	14
4.1.2. Dieta	14
4.1.3. Coleta de sangue das crianças	15
4.1.4. Exame Parasitológico de Fezes	15
4.2. Biscoito	15
4.2.1. Concentrado de Hemoglobina Bovina	15
4.2.2. Formulação do Biscoito Fortificado	16

5. MÉTODO	17
5.1. Protocolo	17
5.2. Preparo das dietas para análise	17
5.3. Confecção dos biscoitos fortificados	17
5.4. Análise Química da dieta e do biscoito	18
5.4.1. Umidade	18
5.4.2. Cinza	18
5.4.3. Proteína	18
5.4.4. Extrato etéreo	18
5.4.5. Fibra	19
5.4.6. Fração Nifext	19
5.4.7. Energia	19
5.4.8. Ferro total.....	19
5.5. Análise Hematológica	20
5.5.1. Determinação da Hemoglobina e Hematócrito	20
5.5.2. Determinação do Ferro Sérico e da Capacidade Total de Fixação do Ferro	20
5.5.3. Cálculo do Percentual de Saturação da Transferrina	20
5.6. Pesquisa Parasitológica nas Fezes	21

5.7. Análise microbiológica do concentrado de Hemoglobina	21
5.8 Análise estatística	21
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6.1 Composição da dieta	22
6.2. Composição Química e Adequação do consumo da dieta	24
6.3. Análise Microbiológica do Concentrado de Hemoglobina	25
6.4. Análise Química do Biscoito Fortificado com 3% do Concentrado de Hemoglobina Bovina	26
6.5. Análise Comparativa da Dieta Acrescida ou não do Biscoito Fortificado com Ferro Hemoglobínico	27
6.6. Análise da Pesquisa Parasitológica	29
6.7. Análise dos Parâmetros Hematológicos	30
7. CONCLUSÕES	35
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
RESUMO	48
SUMMARY	49

1. INTRODUÇÃO

O ferro é um elemento de importância vital no metabolismo humano. Desempenha papel central na eritropoiese, participa de muitos outros processos intracelulares em todos os tecidos do corpo e sua deficiência está associada à desordem nutricional, anemia (2).

A deficiência de ferro é reconhecidamente o distúrbio nutricional mais comum no ser humano e, ao contrário de outras deficiências nutricionais, não está diretamente relacionada ao nível sócio econômico, sendo altamente prevalente nos países em desenvolvimento, e, em menor extensão, nas nações industrializadas (21).

Lactentes e pré-escolares são os grupos mais vulneráveis à anemia por deficiência de ferro, devido ao aumento das necessidades deste mineral imposto pelo crescimento rápido e em virtude das dietas infantis conterem quantidades limítrofes daquele mineral (28,54).

Segundo a Organização Mundial de Saúde-1989 (110), a prevalência de anemia no mundo chega a aproximadamente 30%, o que representa 1,5 bilhão de pessoas. Entretanto, diferenças significativas na incidência têm sido observadas entre regiões desenvolvidas e em desenvolvimento, com prevalência de anemia de 8% e 36%, respectivamente.

No Brasil, os dados sobre prevalência de anemia, embora restritos a alguns estudos regionalizados, colocam a anemia nutricional, ao lado da desnutrição protéico calórica, no quadro das mais sérias deficiências nutricionais (37).

Estudo realizado por SIGULEM, D.M. et al-1978 (92), no município de São Paulo, demonstra que a anemia é um importante problema de saúde pública, principalmente para a população constituída de crianças menores de 5 anos de idade, inclusive para aquelas pertencentes às famílias de nível sócio-econômico mais alto.

Estudos de prevalência e distribuição da anemia, realizados por MONTEIRO, C.A. e SZARFAC, S.C. (1984/1985), no estado de São Paulo, mostraram uma prevalência de anemia nas crianças, de 35,6%, dos quais, 14,7% são casos severos ($hb < 9,5g/dl$), concentrando-se os maiores índices na faixa etária de 6 a 24 meses (77).

Em outro estudo também realizado por SZARFAC, S.C., no ano de 1985, a prevalência de anemia nas crianças, de 7 a 9 meses e de 49 a 60 meses de idade, foi de 80% e 28%, respectivamente (21).

SALZANO, C.A. et al-1985 (88), estudando a prevalência de anemia em crianças atendidas em serviço de saúde de Recife, mostraram que, da mesma forma como ocorre no município de São Paulo, valores mais baixos de hemoglobina predominavam nas crianças menores de 2 anos de idade, variando entre 41% e 77%. Observaram, também, correlação entre a ocorrência de anemia, estado nutricional e renda per capita das famílias das crianças examinadas.

Em países desenvolvidos, como os Estados Unidos, por exemplo, a deficiência de ferro também é o principal distúrbio nutricional. Dados da SECOND NATIONAL HEALTH EXAMINATION SURVEY (NHANES II) indicam que as crianças de 1 a 2 anos de idade também são as mais atingidas, com prevalência de 9,2% (26).

Segundo SOOD, S. K.-1967 (96), GANDRA, Y. R.-1969 (35) e FLORENTINO, R. F. et al. - 1984 (33), os dados sobre a prevalência de anemia em diferentes partes do mundo são numerosos, mas de difícil comparação. A razão prende-se fundamentalmente às diferenças na metodologia usada, desde a coleta das amostras até a determinação da concentração de hemoglobina.

Em 1975, a Organização Mundial de Saúde, já evidenciava que ao mesmo tempo em que cresceu o número dos dados sobre a prevalência de anemia, também aumentou o conhecimento sobre os efeitos deletérios desta deficiência nutricional (81).

Dentro deste contexto, a consequência funcional mais claramente definida é a da associação entre a concentração de hemoglobina e a capacidade de trabalho (56,10,32). A deficiência de ferro também está associada à diminuição da função imunitária (27,48,49,51,57) e ao comprometimento do desenvolvimento cognitivo (55,64,95,106). No entanto, revisões neste sentido demonstram que existe necessidade de maiores investigações sobre o papel do ferro no mecanismo destas reações (28,89).

Embora a anemia possa resultar de diferentes causas, a baixa biodisponibilidade do ferro é um dos fatores mais significantes na etiologia da deficiência deste mineral (7).

BAKER, S. J. et al.-1979 (8) ressaltam que, sobretudo em regiões tropicais, a biodisponibilidade do ferro na dieta é frequentemente muito baixa, devido principalmente ao reduzido conteúdo de fatores facilitadores da

absorção do ferro não heme, tais como, carnes e o ácido ascórbico. Por outro lado, a ingestão do ferro é geralmente alta, sendo parte deste proveniente da contaminação do alimento, por exemplo, pela poeira do solo, e, portanto, de baixa biodisponibilidade.

Outras causas de deficiência do ferro, nas referidas regiões, são as gravidez frequentes com inadequada suplementação com ferro, o aumento das perdas do referido mineral, em virtude de infestação parasitária, especialmente por *Ancylostoma duodenale*, e a lactação prolongada não complementada com outros alimentos ricos em ferro (103).

HALLBERG, L.,-1982 (41) descreve que uma ingestão adequada de ferro é difícil, notadamente, durante os períodos em que as necessidades estão mais altas, tais como, na infância, adolescência, gestação e lactação. Neste sentido, MONSEN, E. R.,-1988 (75) aponta a associação entre crescimento e alto risco de deficiência de ferro.

Quanto à recomendação para o ferro, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação e a Organização Mundial de Saúde - FAO/OMS-1970 (82) consideram que a capacidade de absorção do ferro pode variar de 10 a 20%, estando na dependência da porcentagem do ferro proveniente de produtos animais. Com base nessas observações, dependendo da qualidade da dieta, a ingestão de 10 a 20 mg de ferro/dia deveria atingir as necessidades de 1 mg de ferro absorvido.

O International Nutritional Anemia Consultive Group (INAG) (54), por sua vez, propõe que se avalie as recomendações de ferro em função especialmente do consumo de carne, uma vez que os derivados de leite e ovos não melhoram a absorção do mineral.

Por outro lado, ROSSANDER, L. et al.-1979 (87) e HALLBERG, L.-1982 (41) ressaltam que a absorção do ferro dietético é limitada, estando na dependência da quantidade e forma do ferro ingerido, do estado de nutrição em ferro, bem como de outros constituintes dietéticos presentes numa mesma refeição.

Estudos realizados por LAYRISSE, M. et al.-1973 (59), HALLBERG, L.-1981 (83) e 1984 (42) e MONSEN, E. R.-1978 (76) demonstraram que existem, no mínimo, dois tipos de ferro na dieta com relação ao mecanismo de absorção, ferro heme e não heme, constituindo dois "pools" distintos.

Segundo MONSEN, E. R.-1982 (74) e 1988 (75), do ferro dietético, o ferro heme constituinte da hemoglobina, da mioglobina, e presente na

carne, peixes e aves, representa pequena fração da ingestão total do ferro. A absorção desta forma de ferro ocorre de maneira eficiente, não interagindo com constituintes da dieta. Dependendo dos estoques de ferro, 15 a 35% do ferro heme são absorvidos.

Vários pesquisadores são unânimes ao descreverem que o ferro heme é absorvido intacto pelas células da mucosa, como um complexo ferro-porfirina. No interior do enterócito, este sofre hidrólise e o ferro pode então ser transferido para a circulação. Este comportamento sugere a provável explicação para sua maior biodisponibilidade (17,39,42).

Quanto à hidrólise da metaloporfirina absorvida, WHEBY, M. et al-1970 (107) e RAFFIN, S. B. et al-1974 (85) sugerem ser a mesma catalisada pela heme-oxigenase duodenal. Existe ainda evidência de que a atividade desta enzima esteja aumentada no estado de deficiência de ferro.

O ferro não heme é a principal forma de ferro nas dietas, sendo encontrado em diferentes concentrações nos alimentos de origem vegetal. Sua absorção, além de ser mais baixa do que na forma heme, 2 a 20%, é marcadamente afetada pelos estoques de ferro e pelo consumo concomitante de outros componentes dietéticos (75,87).

A absorção do ferro não heme, segundo HALLBERG, L.-1984 (42), ocorre na forma iônica, por receptores nas células da mucosa intestinal, ou por uma proteína de transporte presente na superfície luminal daquelas células.

O mecanismo de transporte do ferro através da célula da mucosa intestinal é, ainda, a área de maior controvérsia no estudo da absorção do mineral (12). No entanto, são fortes as evidências de que há uma correlação direta entre o aumento da absorção e deficiência do ferro e as de que existe relação entre saturação da transferrina e absorção do ferro pela mucosa (3,25,63,93).

Estudos feitos com animais e humanos, objetivando avaliar a biodisponibilidade do ferro da dieta, resultaram em grandes avanços, a partir das demonstrações da validade da técnica de marcação extrínseca para monitorar a absorção do ferro (9,13,14,39,107). Estes estudos baseiam-se na descoberta de que o ferro, num alimento, pode ser uniformemente marcado, por meio de um traçador inorgânico radioativo. Com o advento desta técnica, foi possível estudar até que ponto a biodisponibilidade do ferro é influenciada pela composição de uma refeição. Anteriormente, esses estudos foram conduzidos com alimentos bio sinteticamente marcados (marcação intrínseca) e os alimentos analisados de forma isolada.

Inicialmente com os trabalhos de LAYRISSE, M. et al-1969 (58) e, mais recentemente, com os de COOK, J. D.-1981 (22), HALLBERG, L. et al-1983 (45) e ACOSTA, A. -1984 (1), demonstrou-se uma grande variação na absorção estimada do ferro na dependência da composição da dieta.

A hemoglobina marcada tem sido utilizada para estimar a absorção do ferro heme, contudo, há muita controvérsia nos resultados desses estudos.

TURNBULL, A. et al-1962 (104), num estudo comparativo de absorção do sulfato ferroso e ferro hemoglobínico, verificaram que tanto nos indivíduos normais, quanto nos com estoques subótimos de ferro, a hemoglobina marcada foi melhor absorvida do que o sulfato ferroso, o mesmo não foi observado em indivíduos anêmicos. Por outro lado, em indivíduos anêmicos ou normais, a presença ou a ausência de alimentos não afetou a absorção do ferro hemoglobínico (15,8% e 15,2%), não se constatando o mesmo para o sulfato ferroso (0,9% e 2,9%).

Estudos conduzidos em animais (9,18,107) e humanos (39,104) têm mostrado existir uma maior absorção do ferro do sulfato ferroso que do ferro da hemoglobina. HALLBERG, L. e SÖLVELL, L.-1967 (39) sugerem que a diferença, na quantidade absorvida, possa se dever a um retardo na transferência do ferro hemoglobínico, através das células da mucosa a partir do lúmen intestinal, ou pela degradação do heme nas células da mucosa. BANNERMAN, R.M.- 1965 (9) sugere que as discrepâncias de resultados podem ser atribuídas aos métodos utilizados em cada pesquisa.

Em pesquisa mais recente, STEKEL, A. et al- 1983 (98), estudando a absorção do ferro de fortificação com concentrado de hemoglobina, no leite, arroz e biscoito, demonstraram que a biodisponibilidade do ferro hemoglobínico foi uniformemente boa, relativamente constante e completamente independente da composição do alimento.

COLLI, C.-1985 (16) avaliando, em adultos normais, a absorção de ferro hemoglobínico de boi e de coelho, adicionados a biscoitos, obteve com relação à dose referência, índices de 21% e 24%, respectivamente. No tocante à biodisponibilidade da hemoglobina submetida a tratamento térmico, a autora não observou efeito importante do processamento industrial sobre a biodisponibilidade da hemoglobina incorporada ao biscoito.

HALLBERG, L.-1982 (41), em extensa revisão sobre os fatores que influenciam a absorção do ferro, demonstram que o ferro não heme presente numa refeição, forma um "pool" comum. As propriedades desse "pool", e

assim a absorção do ferro a partir de uma refeição, podem ser marcadamente afetadas por um número de fatores facilitadores e inibidores. Ácido ascórbico, carne e peixe, por exemplo, aumentam a absorção, ao passo que chá, farelo e algumas fibras a inibem.

LAYRISSE, M. et al-1968 (62) foram os primeiros a demonstrar o efeito facilitador da carne e do peixe na absorção do ferro contido em alimentos de origem vegetal. Estes achados estão em concordância com os de outros autores (19,44,60,66,68). O mecanismo exato, através do qual a carne exerce aquele efeito, não está devidamente esclarecido. Alguns autores sugerem que tal mecanismo se dê pela presença de produtos intermediários da digestão de proteínas (94) ou determinados aminoácidos, como cisteína e metionina (61,67,69), agindo como ligantes na formação de complexos de ferro solúveis.

O efeito do ácido ascórbico, como facilitador na absorção do ferro não heme, é hoje indiscutivelmente reconhecido. A absorção do ferro de uma refeição pode ser aumentada em duas ou três vezes pela adição daquela vitamina (41,44,90). O mecanismo de ação, para tal efeito, pode estar relacionado ao seu caráter redutor, prevenindo a formação de hidróxido férrico insolúvel e também formando complexos solúveis com íons férricos, os quais mantêm o ferro solúvel mesmo no pH alcalino do duodeno (47).

Os fatores dietéticos inibidores da absorção do ferro ainda não foram tão bem definidos quanto os facilitadores.

Chá e café, presentes numa refeição, reduzem marcadamente a absorção do ferro não heme dos alimentos. DERMAN, D. et al-1977 (29) registraram uma redução na absorção do ferro, de 34 para 6,7%, pelo chá, e efeito menos pronunciado para o café, de 38,3 para 24,1%.

Num estudo para avaliar o efeito de várias bebidas na absorção do ferro não heme, HALLBERG, L. et al mostraram que o chá reduziu a absorção em 61% e o café em 33%. Tal redução pode ser atribuída à ação inibidora dos taninos presentes nestes alimentos.

O efeito da fibra e do farelo na inibição da absorção do ferro é ainda bastante controvertido. COOK, J. D. et al-1983 (24) demonstraram, em bolinhos, que a média de absorção variou de 0,35%, com farelo, 0,93%, com pectina e 1,27%, com celulose. Constataram, ainda, que a absorção do ferro, numa refeição com elevado e baixo conteúdos de fibra natural, variou de 2,96 e 6,07%, respectivamente. Tais resultados sugerem que a inibição da absorção do ferro não é uma propriedade universal de todas as fontes de fibra.

CHAUSOW, D.G. et al-1988 (15) evidenciaram que, apesar do farelo e da semente de sésamo serem fontes ricas em ácido fítico, a biodisponibilidade relativa do ferro, de ambos, foi maior do que a das fontes de origem animal. Por outro lado, HALLBERG, L. et al-1989 (46), investigando o efeito inibidor do fitato na absorção do ferro, encontraram uma média de 10 e 26,5%, em pães, com e sem fitato, respectivamente.

Levando em conta a complexidade do estudo sobre o ferro, HALLBERG, L.-1982 (41) considera que a sua biodisponibilidade, numa refeição, não consiste de uma simples soma da absorção isolada do ferro de cada alimento, mas sim do efeito final da quantidade e propriedades químicas do composto ferro presente nos alimentos e dos fatores que aumentam ou diminuem a absorção do mineral.

Dados de revisão apresentados por este mesmo autor apontam que os efeitos da deficiência do ferro, especialmente a redução da capacidade de trabalho e da produtividade, têm estimulado medidas para combater a referida deficiência. Neste sentido, a Organização Mundial de Saúde (109) e o International Nutritional Anemia Consultive Group-INAG (53) têm incentivado a troca de informações entre vários órgãos internacionais e nacionais, engajados em trabalhos que visem reduzir a deficiência de ferro e outras anemias nutricionais.

Assim, consideram que em saúde pública, podem ser empregadas uma ou mais das seguintes técnicas de intervenção :

- * Suplementação terapêutica com o ferro;
- * Alteração do hábito alimentar, por meio de consumo de alimentos estimulantes da absorção do ferro ou da redução na ingestão de inibidores; e
- * Diminuição das necessidades do ferro, via erradicação do *Ancylostoma duodenale*, e adequado programa de planejamento familiar.

A escolha das técnicas de intervenção dependerá da extensão e da severidade da deficiência do ferro na população, bem como da disponibilidade de veículos adequados para fortificação com o mencionado mineral (41,42).

O termo fortificação, segundo a FAO/OMS-1971 (109), é o processo pelo qual um ou mais nutrientes são adicionados a alimentos, para manter

ou melhorar a qualidade da dieta de um grupo, uma comunidade ou uma população.

Conforme COOK, J. D. et al-1983 (20) e a Organização Mundial de Saúde-1989 (110), a técnica de fortificação de alimentos com ferro é uma excelente forma de reduzir altas prevalências de deficiência do referido mineral.

Diversos compostos de ferro têm sido pesquisados na busca de uma forma biodisponível que garanta o aporte adequado do elemento e seja economicamente viável (23,28,34,93).

Dentro deste contexto, o INAG (53) e a OMS-1975 (81) ressaltam a importância de se rever, não somente as propriedades químicas e físicas daqueles compostos, mas também o veículo a ser fortificado. Tecnicamente, a fortificação com o ferro é muito mais difícil do que com outros nutrientes. Muitos compostos de ferro e, em especial, os mais facilmente absorvidos, são altamente reativos e produzem uma variedade de mudanças indesejáveis nos alimentos aos quais foram adicionados.

As formas de ferro mais utilizadas para enriquecimento de alimentos são: ferro reduzido, sulfato ferroso, ortofosfato de ferro e o pirofosfato sódico de ferro. Entretanto, apesar do sulfato ferroso ser considerado a forma de maior absorção e uma das mais baratas, é também quimicamente mais reativa do que as outras.

DALLMAN, P.-1980 (28) evidencia que compostos de ferro menos reativos, tais como, pirofosfato férrico, ortofosfato férrico e ferro reduzido de partículas grandes, vêm sendo utilizados em fortificação de cereais infantis e farinhas, por não provocarem mudanças na cor e flavor destes alimentos. Contudo, esses compostos têm mostrado ser pobremente absorvidos.

O uso de um "facilitador" na absorção do ferro, como por exemplo, o ácido ascórbico, tem sido proposto. Pesquisas nesse sentido têm demonstrado que esta vitamina pode aumentar de forma considerável a biodisponibilidade de numerosos compostos de ferro (50,90,98,100).

Em 1988, STEKEL, A. et al (99), num estudo longitudinal com crianças de 3 a 15 meses de idade, utilizando leite fortificado com 15 mg de sulfato ferroso e 100 mg de ácido ascórbico, demonstraram que a anemia estava presente em 25,7% das que receberam leite sem fortificação, comparado com somente 2,5% nas que consumiram leite fortificado.

Vários países industrializados têm introduzido programas, a nível nacional, de fortificação de alimentos com ferro. Diferentes alimentos têm sido propostos como veículos, tais como: a farinha de trigo, na Noruega, Suécia, Estados Unidos e Grã-Bretanha; o sal, na Índia, Indonésia, Filipinas e Tailândia; o açúcar, na Guatemala; o molho de peixe, na Tailândia; e o monoglutamato de sódio, nas Filipinas (50,81,93).

Uma outra forma de ferro não convencional tem sido proposta para fortificação de alimentos, como é o caso do concentrado de ferro hemoglobínico obtido a partir do abate de animais. Neste sentido, trabalhos mais avançados vêm sendo conduzidos no Chile, onde biscoitos com essência de chocolate, preparados com 6% de hemoglobina bovina, foram introduzidos em programas de alimentação escolar. Resultados de estudo piloto nesta área têm demonstrado melhoras significativas nas concentrações de hemoglobina (20).

Embora a técnica de fortificação com o ferro tenha sido proposta desde a década de quarenta, com o advento do primeiro padrão de referência para adição de ferro em produtos de grãos de cereais (72), e a literatura apresente dados consistentes quanto ao efeito benéfico desta intervenção, existem poucas tentativas no sentido de avaliar a eficácia desta medida.

Em trabalho de revisão sobre a técnica de fortificação de alimentos com o ferro, COOK, J. D.-1983 (20) aponta que os estudos de campo podem fracassar na tentativa de demonstrar o efeito benéfico da fortificação, por razões como: quantidade do ferro adicionado e sua biodisponibilidade, os efeitos inibidores da dieta regional, baixo consumo do alimento fortificado por não ser bem aceito, duração do teste, deficiência na avaliação laboratorial do estado do ferro e presença de parasitos, entre outras.

Em avaliação mais ampla sobre a estratégia de fortificação, TORÚN, B.-1988 (103) ressalta que a eficácia desta para erradicar, corrigir ou prevenir deficiências nutricionais, é amplamente reconhecida. Todavia, os programas de fortificação deveriam ser postos em prática juntamente com outras ações que levassem a uma situação nutricional adequada. Dentro de tal contexto, a transitoriedade e eventual eliminação de programas de fortificação poderiam ser consideradas um indicador do êxito de medidas adotadas, para melhorar a alimentação de uma população.

Tendo em vista a validade da técnica de fortificação de alimentos com o ferro no combate à anemia, e, também, a proposta de vários pesquisadores no sentido de se utilizarem fontes alternativas para combater doenças

carenciais, tais como, a desnutrição protéica calórica e a anemia nutricional, propusemo-nos a realizar um estudo para avaliar o efeito da introdução do biscoito fortificado com concentrado de hemoglobina bovina como fonte de ferro heme, no estado de nutrição em ferro de pré-escolares.

Aproveitamento do Sangue Bovino na Alimentação Humana

O sangue bovino do abate de animais pode ser uma excelente fonte de ferro hemínico e de proteínas para o enriquecimento de alimentos e, desta forma, atender a programas que visem reduzir a prevalência de anemia em nosso meio (86).

Em extensa revisão sobre o assunto, PISK, D.-1982 (84) e DOMENE, S. M. A.-1988 (30) demonstraram ser grande a quantidade de sangue de grau alimentício disponível, visto que o volume coletado por animal representa aproximadamente 3,5% do seu peso vivo.

Com base nestes dados, o potencial estimado para os abates de suínos e bovinos, sob inspeção federal no Brasil, em 1984, foi cerca de 130 milhões de litros de sangue, quase que totalmente descartados na maioria dos matadouros do país, sendo um poluente em potencial dos mananciais de águas e responsável pelo alto custo do tratamento dos efluentes dos abatedouros (86).

BATES, R.P. et al-1974 (11) citam que, em diversas regiões, é comum o uso do sangue animal na alimentação humana. Pudins e salsichas com sangue são bem aceitos em muitos países da Europa e Ásia, sendo o seu consumo no estado fresco, uma prática observada em algumas tribos da África.

No Brasil, somente uma pequena quantidade de sangue do abate de animais é utilizada para consumo humano. As maiores limitações devem-se às dificuldades tecnológicas para secagem do produto e também às alterações organolépticas provocadas quando adicionado a alimentos. Desta forma, as melhores opções de uso ocorrem nas indústrias químicas, farmacêuticas, de fertilizantes e de nutrição animal (84).

Atualmente, em alguns países, tem sido praticada a inclusão de plasma na confecção de produtos cárneos e análogos, bem como de derivados de proteína de soja, para melhorar sua textura e seu valor nutritivo. O isolado protéico

preparado a partir do sangue animal, por representar uma fonte em potencial de grandes quantidades de proteína dietética, com importantes propriedades funcionais, tem sido a área de maiores investigações (30,83,105).

No Brasil, várias técnicas de secagem de sangue vêm sendo desenvolvidas, a fim de que este possa ser usado na alimentação humana. A inclusão deste produto, em dietas, poderia eliminar as dificuldades encontradas quando da utilização de outras fontes de ferro de baixa biodisponibilidade (84).

Neste sentido, a técnica de secagem de sangue em "leito de jorro" (86) tem mostrado ser de baixo custo e alternativa ao "spray drying", obtendo-se da mesma, produto de excelente qualidade nutricional, sobretudo quanto ao teor de ferro e proteínas.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL :

- Avaliar o impacto da introdução, na dieta, de biscoito fortificado com ferro hemoglobínico, no estado de nutrição do ferro em pré-escolares.

2.2. ESPECÍFICOS :

- Verificar a prevalência de anemia em pré-escolares, bem como o papel da dieta e o grau de infestação parasitária neste quadro;
- Viabilizar a utilização do concentrado de hemoglobina bovina (CHB), obtido pela técnica de secagem de sangue em "leito de jorro", na fortificação de biscoitos e a introdução deste em dieta de pré-escolares;
- Estimar a biodisponibilidade do ferro na dieta acrescida do biscoito fortificado com concentrado de hemoglobina bovina e;
- Avaliar, após intervenção, o grau de recuperação hemoglobínico na população estudada.

3. PLANEJAMENTO

Para execução deste estudo, foi desenvolvida uma sistemática de trabalho para se obter o perfil do grupo etário pesquisado no tocante a: dieta, parâmetros hematológico e parasitológico, para posterior intervenção e avaliação, como mostra os seguintes diagramas:

4. MATERIAL

4.1. População Estudada

A amostra inicial foi de 30 crianças de ambos os sexos, na faixa etária de 2 a 4 anos incompletos, atendidas numa creche no Estado do Piauí.

No decorrer do trabalho, 14 das crianças estudadas saíram da creche por terem atingido a idade máxima permitida pelo serviço de atendimento, ficando, portanto, a amostra reduzida a 16 crianças.

4.1.1. Creche

A creche "Tia Belisa", pertencente à rede do Serviço Social do Estado do Piauí (SERSE), atende a crianças de 3 meses a 4 anos de idade, filhos de mães operárias, que lá permanecem, das 7:15 às 17:30 horas, de segunda a sexta-feira.

As refeições oferecidas foram constituídas de **desjejum, lanche, almoço, lanche e jantar**, sendo os cardápios elaborados por nutricionista. A creche conta ainda com técnicos para atendimentos médico, social, psicológico e pedagógico.

4.1.2. Dieta

Os alimentos oferecidos na creche foram coletados e identificados por refeição, durante uma semana, armazenados em recipientes de plástico hermeticamente fechados e congelados em freezer doméstico no próprio local.

4.1.3. Coleta de Sangue das Crianças

Utilizando-se material descartável, foram coletados 10 ml de sangue venoso das crianças em jejum, entre 8 e 10 horas da manhã. Três ml foram colocados em frascos de vidro, com EDTA a 8%, para posterior análise da hemoglobina e hematócrito, sendo o restante transferido para tubos de ensaio desmineralizados. Os tubos foram colocados em banho maria, a 37°C por 30 minutos, seguido de resfriamento e centrifugação, a 3.000 rpm por 15 minutos, para posterior determinação da concentração de ferro sérico e da capacidade total de fixação do ferro.

4.1.4. Exame Parasitológico de Fezes

Amostras de fezes foram coletadas usando-se recipientes apropriados, durante três dias consecutivos, e, em seguida, encaminhadas ao laboratório para pesquisa de helmintos e protozoários.

4.2. Biscoito

4.2.1. Concentrado de Hemoglobina Bovina

Para obtenção do concentrado de hemoglobina bovina, adotou-se a técnica de secagem de sangue em "leito de jorro" (86). A coleta do sangue foi realizada em abatedouro de animais, sob inspeção do médico veterinário responsável pelo setor.

4.2.2. Formulação do Biscoito Fortificado

Os biscoitos foram fortificados com concentrado de hemoglobina em concentrações de 3 e 5%. Os ingredientes básicos utilizados para a confecção dos biscoitos encontram-se no quadro 1.

Quadro 1. Formulação do Biscoito fortificado com 3 e 5% de concentrado de Hemoglobina Bovina.

Composição (%)	3%	5%
Farinha de trigo	70	60
Gordura hidrogenada	1,5	5
Açúcar cristalizado	21	17
Açúcar caramelizado	5	4
Lecitina	0,5	0,6
Bicarbonato de amônia	0,7	0,24
Bicarbonato de sódio	0,25	0,4
Bissulfito	0,04	0,03
Benzoato de sódio	0,02	0,02
Sal	0,5	0,5
Essência de chocolate	0,15	0,1
Antioxidantes (BTH:BHA)	0,01	0,01

5. MÉTODO

5.1. Protocolo

Anteriormente à realização do estudo, as mães ou responsáveis pelas crianças foram esclarecidas quanto ao objetivo da pesquisa, bem como sobre os efeitos deletérios provocados pela anemia nutricional. Na oportunidade, as mesmas assinaram um termo de ciência e concordância com o estudo.

Mediante os resultados da pesquisa parasitológica de fezes, todas as crianças foram submetidas a tratamento específico, recebendo dose reforço após 15 dias do tratamento.

As crianças que participaram do estudo, passaram a consumir, diariamente, 5 biscoitos fortificados com ferro hemoglobínico, aportando aproximadamente 5 mg de ferro. Após 90 dias do início da intervenção, foi avaliado o efeito do biscoito fortificado adicionado à dieta, utilizando-se, como parâmetro, a concentração de hemoglobina.

5.2. Preparo das Dietas para Análise

Os alimentos que fizeram parte das refeições, depois do descongelamento, foram pesados e secos em estufa ventilada a 60°C. Após desidratação, foram pesados e homogeneizados. O armazenamento foi feito em recipiente de plástico e conservado em geladeira até o momento das análises.

5.3. Confeção dos Biscoitos Fortificados

Os biscoitos foram confeccionados numa indústria de alimentos no Estado do Piauí, onde utilizou-se a temperatura de 100°C, na entrada do maquinário, 200°C, na etapa intermediária, e 100°C, na saída do mesmo. No

primeiro e segundo lotes de biscoito, à mistura dos ingredientes básicos foram acrescentados 5 e 3% do concentrado de hemoglobina, respectivamente.

5.4. Análise Química da Dieta e do Biscoito

A dieta e o biscoito fortificado foram analisados em triplicata, segundo os métodos descritos pela ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS (6), para os seguintes componentes alimentares :

5.4.1. Umidade

A determinação da umidade foi realizada por gravimetria em estufa ventilada, regulada a 105°C, até se obter peso constante.

5.4.2. Cinza

A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada por gravimetria, após incineração em mufla a 550°C, até peso constante.

5.4.3. Proteína

O teor de proteína foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl para nitrogênio total, utilizando-se o fator 6,25, para transformação em proteína. A digestão foi feita em bloco digestor para 40 provas micro, a 300°C, até o clareamento.

5.4.4. Extrato etéreo

A fração extrato etéreo foi determinada em extrator intermitente de Soxhlet, usando-se éter etílico P. A. como solvente.

5.4.5. Fibra

A fração fibra foi determinada pelo método enzimático, segundo ASP, N.G. et al (5).

5.4.6. Fração Nifext

A fração nifext foi determinada por diferença, após determinação das frações anteriores.

5.4.7. Energia

O valor energético da dieta e o do biscoito foram calculados a partir dos teores da fração protéica, lipídica e nifext, utilizando-se os coeficientes específicos que levam em consideração o calor de combustão, 4, 9 e 4 Kcal, respectivamente.

5.4.8. Ferro Total

O teor de ferro total na dieta e no biscoito foi determinado pelo método de espectrofotometria de absorção atômica, por leitura direta, em solução de amostras oxidadas a 200°C, por via úmida, com ácido nítrico concentrado e ácido perclórico, e diluídas com água desionizada, segundo método preconizado pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (52).

A leitura foi realizada em espectrofotômetro PERKIN ELMER, modelo 373, e lâmpada de catodo oco, calibrado nas seguintes condições:

- Região ultra violeta
- Comprimento de onda: 248,3 nm
- Fenda: 0,2
- Mistura de gases: ar / acetileno
- Tipo de chama: Oxidante

Como padrão foi utilizado cloreto férrico, Tritizol (MERCK), diluído em água desionizada nas concentrações de 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 5,0 $\mu\text{g/ml}$.

Os resultados obtidos em absorbância, após três leituras de cada triplicata, foram expressos em mg/g de produto.

5.5. Análise Hematológica

5.5.1. Determinação da Hemoglobina e Hematócrito

As concentrações de hemoglobina e o volume hematócrito foram determinados utilizando-se os métodos da cianometahemoglobina e do macro-hematócrito, respectivamente (71).

O critério usado para caracterização de anemia foi o proposto pela Organização Mundial de Saúde (111), que adota 11 g de hemoglobina por 100 ml de sangue, como limite inferior da normalidade para a faixa etária estudada.

5.5.2. Determinação do Ferro Sérico (FS) e Capacidade Total de Fixação do Ferro (CTFF)

Os valores para ferro sérico e capacidade total de fixação de ferro foram obtidos mediante à utilização de KIT da MERCK, e a leitura feita no espectrofotômetro COLLEMAN Jr. II, modelo 6/20, em comprimento de onda de 540 nm.

5.5.3. Cálculo do Percentual de Saturação da Transferrina

Para o cálculo do percentual de saturação da transferrina, foi utilizado a relação Ferro Sérico/Capacidade total de Fixação do ferro x 100.

5.6. Pesquisa Parasitológica nas Fezes

A pesquisa de helmintos e protozoários nas fezes foi realizada segundo as técnicas de Hoffman, Willis e Richtie (73).

5.7. Análise Microbiológica do Concentrado de Hemoglobina

A análise microbiológica do concentrado de hemoglobina foi realizada segundo o método descrito por SPECK, M. L. (97).

5.8. Análise Estatística *

Para análise dos resultados hematológicos foi utilizado o teste "T-Student" pareado. Estabeleceu-se 5% como nível de significância.

*A análise estatística dos resultados foi realizada no setor de Estatística Aplicada do Instituto de Matemática e Estatística da USP.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Composição da Dieta

No quadro 2 constam as preparações fornecidas na creche durante uma semana.

Quadro 2. Composição básica da dieta fornecida na creche.

REFEIÇÕES	PREPARAÇÕES	QUANT. PER CAPITA (g)
DESJEJUM	Mingau de maizena	137
	ou	
	Leite com	100
	beiju de tapioca	31
LANCHE	K - suco de fruta	127
	ou	
	polenta	148
ALMOÇO	Arroz com feijão	193
	carne bovina	12
JANTAR	Sopa de merenda escolar	
	suplementada com verduras	262
	e carne	

A análise desta dieta mostra uma notória monotonia, sobretudo nas refeições principais. Verifica-se, ainda, baixo consumo de verduras e hortaliças, bem como ausência de frutas, o que pode comprometer o aporte de vitaminas e minerais. Dos alimentos de origem animal, somente foram consumidos o leite e a carne bovina, e, assim mesmo, em pequenas quantidades.

Os resultados da análise química da dieta foram comparados com o padrão de referência da National Academy of Sciences (80), Tabela 1.

Tabela 1 Composição e adequação do consumo da dieta oferecida numa creche no Estado do Piauí, de acordo com o padrão de referência da National Academy of Sciences (RDA-1989) (80).

COMPONENTES DA DIETA		TOTAL [*] DIÁRIO	INGESTÃO RECOMENDADA PARA O GRUPO ETÁRIO E PERCENTUAL DE ADE- QUAÇÃO %	
			Pré- Escolares (2-4 anos)	Percentual de Adequação (%)
ENERGIA	(Kcal)	540	1300	42
PROTEÍNA	(g)	23	16	**
LIPÍDIO	(g)	16,5	-	-
CARBOIDRATO	(g)	75	-	-
FIBRA	(g)	19,0	-	-
MINERAIS	(g)	13,0	-	-
<hr/>				
FERRO	(mg)	4,0	10	40

* Para uma ingestão média diária de 760g

** Composição que satisfaz mais de 100% das necessidades.

6.2. Composição Química e Adequação do Consumo da dieta

De acordo com os resultados apresentados, as calorias totais da dieta estão abaixo das necessidades do grupo etário estudado, observando-se que os carboidratos forneceram 66% das calorias ingeridas, os lipídios 19% e as proteínas 14%. Resultados semelhantes foram verificados quanto ao déficit calórico e à adequação quantitativa de proteínas em duas creches no município de São Paulo, com atendimento semelhante ao que estudamos (31).

Vale ainda ressaltar que em estudos realizados em outras regiões, e sob condições de atendimento diferentes das deste trabalho, também foi encontrado déficit calórico e adequação quantitativa de proteínas (65,70,79,108).

Com base nestes resultados, é importante salientar que quantidades elevadas de proteínas na dieta, principalmente quando a ingestão calórica é deficiente, podem interferir no metabolismo normal do organismo, havendo um desvio de sua função plástica para fins energéticos. Observa-se, ainda, que grandes proporções dessa proteína são de origem vegetal e, portanto, de menor valor biológico.

FERRO

O resultado da análise química mostrou inadequação de ferro da ordem de 60%. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos feitos no Brasil com pré-escolares (31,70,91). É oportuno destacar novamente que o ferro não heme constitui a forma mais frequente de ferro nos alimentos, estimando-se sua absorção em 3 a 8%, estando na dependência de facilitadores ou inibidores na dieta (76).

Há de se considerar também que, em condições normais, o pré-escolar raramente alcança suas necessidades de ferro somente com a dieta, o que se tornará ainda mais difícil quando existir déficit calórico como o encontrado.

Trabalho realizado por SZARFARC, S. C. et al-1988 (102) demonstrou que apenas 13,7% das dietas infantis pesquisadas atingiram o requerimento de 10 mg de ferro/dia e 48% delas foram deficientes no mineral.

Para os pré-escolares, a alimentação desempenha papel decisivo devido ao processo de maturação biológica e ao desenvolvimento sócio

psicomotor por que passam (36). Considerando estes fatos e os resultados de avaliação de adequação de dietas de pré-escolares no Brasil, fica evidente a necessidade imperiosa de um estudo mais aprofundado sobre esta questão e de se propor, a nível governamental, sugestões para que este quadro possa vir a ser modificado.

6.3. Análise Microbiológica do Concentrado de Hemoglobina

A técnica de secagem de sangue em "leito de jorro", segundo RÉ et al (86), garante a obtenção de um produto desidratado adequado, sob o aspecto microbiológico, de acordo com os padrões legais previstos no ofício circular nº 1 GT/14, de 26/01/81, e na resolução nº 80, que permitem em média 10^3 unidades formadoras de colônias por grama de produto (UFC/g) nos alimentos. A análise microbiológica do concentrado de hemoglobina usado na confecção dos biscoitos mostrou resultados concordantes com os encontrados pela autora (tab. 2), assegurando-nos, quanto a este aspecto, o seu uso em alimentos.

Tabela 2. Valores encontrados na análise microbiológica do concentrado de hemoglobina.

GRUPOS	VALOR (UFC/g) *
Mesófilos	$1,5 \times 10^4$
Bolores	$5,5 \times 10^3$
Termófilos	$< 10^3$

* UFC/g : Unidade formadora de colônias por grama do produto

6.4. Análise Química do Biscoito Fortificado com 3% de Concentrado de Hemoglobina Bovina (CHB)

Tomando-se por base o trabalho com biscoito fortificado com ferro heme realizado por ASENJO, J. A. et al, no Chile (4), confeccionou-se biscoitos com dois níveis de fortificação, a saber: 3 e 5%. Como mostra o quadro 1, o teor de lipídios foi maior na formulação com 5% de CHB, fato este que favoreceu a ocorrência de oxidação de lipídeos, causando fortes alterações nas propriedades organolépticas do biscoito, inviabilizando o seu consumo, o que nos levou a optar pelo nível de 3% de fortificação. Os resultados da análise química deste biscoito encontram-se na tabela 3.

Outro aspecto considerado para escolha de 3% de fortificação, está fundamentado no fato de que, partindo de uma média de 20% de absorção para o ferro heme, o consumo de 5 biscoitos/dia estaria atendendo à necessidade do ferro absorvível (1 mg) da faixa etária estudada.

Tabela 3 - Análise química do biscoito fortificado com 3% de concentrado de hemoglobina (CHB)

COMPONENTES *	QUANTIDADES
Energia (Kcal)	127
Proteína (g)	5
Lipídio (g)	1
Carboidrato (g)	24,5
Cinza (g)	0,3
Umidade (g)	4
Ferro (mg)	4,2

* Para uma ingestão média diária de 35 g de biscoito.

6.5. Análise Comparativa da Dieta Acrescida ou não do Biscoito Fortificado com Ferro Hemoglobínico

O acréscimo do biscoito fortificado à dieta da creche mostramos (Tab. 4) que o déficit calórico ainda se mantém em 49%, o mesmo não sendo observado para o ferro total, verificando-se, assim, um aumento na adequação de 40 para 83%. Além disso, se considerarmos o valor de concentração de 7,7 mg de Fe/1000 Kcal recomendado para o pré-escolar (80), a dieta sem adição do biscoito estaria adequada neste elemento. Estes dados nos permitem sugerir um aumento quantitativo desta dieta para alcançar adequação de ferro e de calorias.

No entanto, o aumento quantitativo da dieta nem sempre é factível e a introdução do biscoito fortificado poderá minimizar o déficit calórico e adequar a dieta em ferro.

Uma avaliação mais aprofundada dessa adequação de ferro pode ser feita estimando-se a densidade de ferro biodisponível. De acordo com HALLBERG, L.-1981 (40), a densidade de ferro biodisponível é a relação entre a quantidade de ferro (mg) absorvível/1000 Kcal por indivíduos limítrofes (40% de absorção da dose de referência de ascorbato ferroso). Esse dado permite-nos conhecer o que poderíamos chamar de potencial de biodisponibilidade do ferro, o que é importante quando se pretende implantar um programa de fortificação de alimentos.

O modelo proposto por MONSEN, E. R.-1978 (76) foi usado para o cálculo do ferro absorvível. Para efeito do mesmo, somente a carne foi utilizada como fator facilitador da absorção do ferro, visto que alimentos fontes de ácido ascórbico aparecem em quantidades negligenciáveis na dieta.

Pelos resultados apresentados na tabela 5, podemos verificar que tanto do ponto de vista quantitativo (ferro total), quanto sob o enfoque qualitativo (ferro absorvível e densidade do ferro biodisponível), a dieta, sem acréscimo do biscoito, apresenta-se inadequada. No entanto, embora o valor encontrado para o ferro total na dieta acrescida do biscoito (8,3 mg) esteja quantitativamente inferior ao recomendado pelo RDA-1989 (10 mg), o requerimento para o ferro absorvível fica suprido em mais de 100%.

Tabela 4 - Consumo médio de calorias e de ferro e densidade do ferro total (DFeT) da dieta sem e com adição do biscoito fortificado.

	Dieta s/ biscoito	Dieta c/biscoito
	$\bar{X}$	$\bar{X}$
Calorias (Kcal/dia)	540	667
Ferro Total (mg)	4	8,3
DFeT *	7,4	12

* DFeT : Densidade do ferro total.

Tabela 5 - Indicadores de ferro na dieta sem e com adição do biscoito fortificado.

INDICADORES	Dieta s/ biscoito	Dieta c/biscoito
	$\bar{X}$	$\bar{X}$
Ferro Total (mg)	4	8,3
Ferro absorvível (mg) *	0,3	1,2
D Fe B **	0,4	1,8

* Cálculo segundo o modelo sugerido por MONSEN, E. R. et al. JADA, 80: 307-10, 1982.

** Cálculo a partir do proposto por HALLBERG, L. Am. J. Clin. Nutr, 34: 2242-7, 1981.

No Brasil, há poucos estudos aplicando estes modelos para verificar a biodisponibilidade do ferro em dieta de pré-escolares. Dos dados disponíveis, SICHIERI, R.-1987 (91) também demonstrou, quanto a este aspecto, inadequação na dieta de crianças menores de 5 anos, no município de São Paulo.

6.6. Análise da Pesquisa Parasitológica

São múltiplas as causas que determinam o aparecimento da anemia por deficiência de ferro. Neste sentido, durante décadas em nosso país e na literatura mundial, discutia-se o papel da parasitose intestinal, principalmente dos ancilostomídeos na etiopatogenia da anemia por deficiência de ferro (38).

Neste estudo, nas 25 crianças que fizeram parte da amostra inicial, procurou-se conhecer o grau de infestação parasitária das mesmas. Os resultados encontrados na tabela 6 demonstram infestação de pelo menos uma espécie de parasito em 76% das crianças, dos quais, *A. lumbricoide* e *G. lamblia* aparecem igualmente com 47%, seguida por *E. coli*, 32%, *H. nana*, 21%, *E. histolítica*, 10% e *T. trichiura* 5%. Vale evidenciar a total inexistência de crianças infectadas por ancilostomídeos. Estes dados estão em concordância com os de outros estudos realizados em pré-escolares (38,78).

Tabela 6 - Prevalência (%) de enteroparasitas em exames coprológicos realizados em crianças de 4 a 48 meses de idade numa creche no Estado do Piauí (1989).

Presença de enteroparasitas	N. de casos	Prevalência (n=25)
NEGATIVA	6	24
POSITIVA	19	76
<i>A. lumbricoides</i>	9	47
<i>G. lamblia</i>	9	47
<i>E. coli</i>	6	32
<i>H. nana</i>	4	21
<i>E. histolítica</i>	2	10
<i>T. trichiura</i>	1	5

6.7. Análise dos Parâmetros Hematológicos

Para a realização de diagnóstico laboratorial da deficiência do ferro em crianças, especial atenção deve ser dada à escolha do padrão de referência. Neste estudo, para efeito de diagnóstico da anemia, foi adotado o critério estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (81), que considera anêmicas, crianças de 6 a 60 meses de idade, com menos de 11 g de Hb por 100 ml de sangue.

Os resultados do diagnóstico apresentado na tabela 7 mostram-nos que a média de concentração de hemoglobina foi de 10 g/dl, com valores mínimos de Hb de 9g/dl e máximos de 11,3g/dl. A determinação do hematócrito também foi feita, obtendo-se um valor médio de 31,5%, com valores mínimos de 28% e máximo de 35%.

Utilizando a concentração da hemoglobina como único parâmetro para o diagnóstico da anemia, encontramos a prevalência de 75%, dos quais, 41% apresentaram Hb menor que 9,3g/dl.

Embora as baixas concentrações de hemoglobina encontradas sejam fortes indicadores de deficiência de ferro, avaliou-se também as concentrações de ferro sérico (FeS), a capacidade total de fixação do ferro (CTFF) e a saturação da transferrina, as quais apresentaram valores médios para FeS de 23 μ g/dl, CTFF de 326 μ g/dl e, saturação da transferrina de 7%, o que confirma estágio de depleção do ferro, caracterizando o quadro de anemia ferropriva, tabela 7.

Com base nestes achados e no conhecimento do potencial de biodisponibilidade do ferro do biscoito fortificado, foi que o introduzimos na dieta dessas crianças, a fim de minimizar ou erradicar a deficiência de ferro. Os resultados desta intervenção estão apresentados na tabela 8 e figuras 1 e 2.

Tabela 7 - Valores hematológicos de crianças de 2 a 4 anos de idade, de ambos os sexos, de uma creche no Estado do Piauí, antes da intervenção com biscoito fortificado com ferro.

Crianças	Hb g/dl	Htc %	Fe S. µg/dl	CTFF µg/dl	Sat. Trans. %
1.AMRB	10,3	32,0	29,0	323,0	9,0
2.AMS	9,6	30,0	47,0	333,0	14,1
3.AFS	10,0	31,0	-(*)	-	-
4.CJS	11,3	35,0	18,0	313,0	5,8
5.FCL	11,3	35,0	12,0	311,0	3,8
6.FCS	9,0	28,0	14,0	328,0	4,3
7.LM	10,6	33,0	12,0	311,0	3,8
8.JFS	9,0	28,0	41,0	324,0	12,6
9.LCSP	10,0	31,0	-	-	-
10.PP	11,0	34,0	-	-	-
11.MTAC	9,3	29,0	-	-	-
12.MAS	10,3	32,0	-	-	-
13.MAC	9,3	29,0	23,0	342,0	6,7
14.AAS	10,0	31,0	14,0	332,0	4,2
15.TN	11,0	34,0	36,0	388,0	9,3
16.WD	9,0	28,0	12,0	285,0	4,2

Valores limites: Hb= 11g/dl, Htc=33 % Fe. sérico= 50 µg/dl,

CTFF= 400 µg/dl, Sat. transf.= 15%

(*) Material hemolisado.

Tabela 8 - Valores das concentrações de hemoglobina (Hb) e hematócrito (Htc), de crianças de uma creche no Estado do Piauí, antes e após intervenção com biscoito fortificado com ferro.

Criança	Pré-Intervenção		Pós-Intervenção	
	Hb (g/dl)	Htc. (%)	Hb (g/dl)	Htc (%)
1.AMRB	10,3	32,0	13,1	38,0
2.AMS	9,6	30,0	13,0	39,0
3.AFS	10,0	31,0	13,5	39,0
4.CJS	11,3	35,0	14,0	40,0
5.FCL	11,3	35,0	13,0	35,0
6.FCS	9,0	28,0	13,0	35,0
7.LN	10,6	33,0	11,0	36,0
8.JFS	9,0	28,0	12,0	35,0
9.LCSP	10,0	31,0	12,5	37,0
10.PP	11,0	34,0	12,0	37,0
11.MTAC	9,3	29,0	14,0	40,0
12.MAS	10,3	32,0	15,0	40,0
13.MAC	9,3	29,0	12,5	35,0
14.AAS	10,0	31,0	13,5	39,0
15.TN	11,0	34,0	13,5	39,0
16.WD	9,0	28,0	12,5	39,0

Parâmetros *		Significância
Hb (g/dl) (to x t90)	t = -10.009 p < 0,0001	***
Htc (%) (to x t90)	t = -8.887 p < 0,0001	***

* Teste "t-Student" pareado

*** altamente significativo.

Figura 1 - Concentrações de hemoglobina de crianças de uma creche no estado do Piauí, antes ($\Delta t = 0$) e após intervenção ($\Delta t = 90$ dias) com biscoito fortificado com ferro hemoglobínico.

Figura 2 - Volume hematócrito de crianças de uma creche no estado do Piauí, antes ($\Delta t = 0$) e após a intervenção ($\Delta t = 90$ dias) com biscoito fortificado com ferro hemoglobínico.

Embora a quantidade de ferro acrescida à dieta por meio do biscoito fortificado tenha sido de somente 5 mg/dia, os resultados de repleção hemoglobínica foram altamente significativos ($p < 0,0001$) não sendo identificada qualquer concentração inferior a 11g/dl. Estes resultados confirmam a forte correlação existente entre a absorção e o estado de nutrição em ferro e, ainda, a alta biodisponibilidade do ferro heme. Segundo MONSEN, R. et al-1988 (75), a absorção do ferro heme por indivíduos anêmicos pode se dar em até 35% do mesmo.

Diante destes resultados e dos encontrados por STEKEL, A. et al-1983 (98) e COLLI, C.-1985 (16), fica demonstrada a alta biodisponibilidade do ferro heme do concentrado de hemoglobina bovina.

Por outro lado, se considerarmos a alta prevalência de anemia em nosso meio, o número de pré-escolares no Brasil sem benefício de qualquer assistência alimentar e a importância da estratégia de fortificação de alimentos com o ferro para o combate da anemia, o resultado deste estudo poderá em muito contribuir para o desenvolvimento de programa, a nível nacional, para a solução deste problema.

7. CONCLUSÕES

O estudo sobre a utilização do biscoito fortificado com concentrado de hemoglobina bovina em dieta de pré-escolares de uma creche no Estado do Piauí, permitiu as seguintes conclusões :

- A prevalência de anemia nos pré-escolares foi de 75%, sendo 41% dos casos, de grau severo ($hb < 9,3$);
- A dieta fornecida pela creche apresentou déficit calórico e de ferro, da ordem de 50 e 60%, respectivamente, bem como adequação quantitativa de proteínas ;
- Embora nesta dieta a concentração do ferro (mg) por 1000 Kcal esteja compatível com a recomendada para a faixa etária estudada, a mesma, apresenta-se inadequada quanto ao ferro absorvível estimado para este grupo de risco ;
- A dieta acrescida do biscoito fortificado com ferro hemoglobínico ainda apresentou déficit calórico, porém, foi qualitativamente adequada em relação ao ferro ; e
- Houve repleção da hemoglobina em 100% dos casos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ACOSTA, A.; AMAR, A.; CORNBLUTH-SZARFARC, SC; DILLMAN, E.; FOSIL, M.; BIACHI, R.G.; GREBE, G.; HERTRAMPF, E.; KREMENCHUZKY, S.; LAYRISSE, M.; MARTÍNEZ-TORRE, C.; MORÓN, C.; PIZARRO, F.; REYNAFARJE, C.; STEKEL, A.; VILLAVICENCIO, D.; ZUNIGA, YH. Iron absorption from typical latin american diets. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 39: 953-962, 1984.
- 2 - AISEN, P. - Current concepts in iron metabolism In: JACOBS, A. et al., eds. Clinics in haematology, Oxford, 1982. p. 241-257.
- 3 - ARON, J.; BAYNES, R.; BOTHWELL, T.H.; LYONS, G.; GRAHAM, B.; TORRANCE, J.D. - Does plasma transferrin regulate iron absorption? Scand. J. Haematol., Copenhagen, 35: 451-454, 1985.
- 4 - ASENJO, J.A.; AMAR, M.; CARTAGENA, N.; KING, J.; HICHE, E.; STEKEL, A. Use of a bovine heme iron concentrate in the fortification of biscuits. J. Food Sci., Chicago, 50: 795-799, 1985.
- 5 - ASP, N.G.; JOHANSSON, C.G.; HALLMER, H.; SILJESTROM, M. - Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. J. Agric. Food Chem., Washington, 31: 476-482, 1983.
- 6 - ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 14. ed. Arlington, 1984. 1141 p.
- 7 - BAKER, S.J. - Nutritional anaemia - a major controllable public health problem. Bull. Who, Geneva, 56: 659-675, 1978.
- 8 - BAKER, S. J.; DeMAEYER, E.M. - Nutritional anemia: its understanding control with special reference to the work of the world health organization. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 32: 368-417, 1979.
- 9 - BANNERMAN, R.M. Quantitative aspects of hemoglobin-iron absorption. J. Lab. Clin. Med., St. Louis, 65: 944-950, 1965.

- 10 - BASTA, S.S.; SOEKIRMAN, D. Sc.; KARYADI, D.; SCRIMSHAW, N.S. - Iron deficiency anemia and the productivity of adult males in Indonesia. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 32: 916-925, 1979.
- 11 - BATES, R.P.; WU, L.C.; MURPHY, B. Use of animal blood and cheese whey in bread: nutritive value and acceptance. J. Food Sci., Chicago, 39: 585-587, 1974.
- 12 - BJORN-RASMUSSEN, E. - Iron absorption: Present knowledge and controversies. Lancet, London, 23: 914-918, 1983.
- 13 - BJORN-RASMUSSEN, E.; HALLBERG, L.; ROSSANDER, L. - Food iron absorption in man-applications of the two pool extrinsic tag method to measure heme and nonheme iron absorption from the whole diet. J. Clin. Invest., New York, 53: 247-255, 1974.
- 14 - CAMPEN, D.V. Iron bioavailability techniques: an overview. Food Technol., Chicago, 37: 127-132, 1983.
- 15 - CHAUSOW, D.G. & CZARNECKI-MAULDEN, G.L. The relative bioavailability of iron from feedstuffs of plant and animal origin to the chick. Nutr. Res., New York, 8: 175-185, 1988.
- 16 - COLLI, C. - Determinación de la biodisponibilidad de hierro em alimentos. Informe a La Universidad de Las Naciones Unidas. Santiago, INTA, 1985.
- 17 - CONRAD, M.E.; CORTELL, S.; WILLIAMS, H.L.; FOY, A.L. Polymerization and intraluminal factors in the absorption of hemoglobin-iron. J. Lab. Clin. Med., St. Louis, 68: 659-668, 1966.
- 18 - CONRAD, M.E.; WEINTRAUB, L.R.; SEARS, D.A.; CROSBY, W.H. Absorption of hemoglobin iron. Am. J. Physiol., Bethesda, 211: 1123-1130, 1966.
- 19 - COOK, J.D. & MONSEN, E.R. Food iron absorption in human subjects-III. Comparison of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 29: 859-867, 1976.

- 20 - COOK, J.D. & REUSSER, M.E. Iron fortification: an update. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 38: 648-659, 1983.
- 21 - COOK, J.D. Absorption of food iron. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., Washington, 2028-2032, 1977.
- 22 - COOK, J.D.; MORCK, T.A.; LYNCH, C.R. - The inhibitory effect of soy products on nonheme iron absorption in man. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 34: 2622-2629, 1981.
- 23 - COOK, J.D.; MINNICH, V.; MOORE, C.V.; RASMUSSEN, A.; BRADLEY, W.B.; FINCH, C.A. Absorption of fortification iron in bread. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 26: 861-872, 1973.
- 24 - COOK, J.D.; NOBLE, N.L.; MORCK, T.A.; LYNCH, S.R.; PETERSBURG, S.J. Effect of fiber on nonheme iron absorption Gastroenterology, New York, 85: 1354-1358, 1983.
- 25 - COX, T.M.; PETER, T.J. Cellular mechanisms in the regulation of iron absorption by the human intestine: Studies in patients with iron deficiency before and after treatment. Br. J. Haematol., Oxford, 44: 75-86, 1980.
- 26 - DALLMAN, P.R.; YIP, R.; JOHNSON, C. Prevalence and causes of anemia in United States, 1976 to 1983. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 39: 437-445, 1984.
- 27 - DALLMAN, P.R. Iron deficiency and the immune response. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 46: 329-334, 1987.
- 28 - DALLMAN, P.R.; SIIMES, M.A.; STEKEL, A. Iron deficiency in infancy and childhood. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 33: 86-118, 1980.
- 29 - DERMAN, D.; SAYERS, M.; LYNCH, S.R.; CHARLTON, R.W.; BOTHWELL, T.H. Iron absorption from a cereal-based meal containing cane sugar fortified with ascorbic acid. Br. J. Nutr., London, 38: 261-269, 1977.

- 30 - DOMENE, S.M.A. - Utilização do sangue bovino para alimentação humana. Rev. Nutr. Puccamp, Campinas, 1: 163-179, 1988.
- 31 - FERRARO, V.M.A. - Avaliação nutricional das dietas consumidas por pré-escolares, em duas creches do município de São Paulo. São Paulo, 1988. 86 p. (Dissertação-Mestrado-Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP).
- 32 - FINCH, C.A.; MILLER, L.R.; INAMDAR, A.R.; PERSON, R.; SEILER, K.; MACKLER, P. - Iron deficiency in the rat physiological and biochemical studies of muscle dysfunction. J. Clin. Invest., New York, 58: 447-453, 1976.
- 33 - FLORENTINO, R.F.; GUIRRIEC, R.M. - Prevalence of Nutritional Anemia Infancy and childhood with emphasis on Developin Countries, In: STEKEL, A. Iron nutrition in infancy and childhood., New York, Raven Press, 1984, p. 61-74.
- 34 - FRITZ, J.C.; PLA, G.W.; ROBERTS, T.; BOEHNE, J.W.; HOUE, E.L. Biological availability in animals of iron from common dietary sources. J. Agr. Food Chem., Washington, 18(4): 647-651, 1970.
- 35 - GANDRA, Y.R. - Deficiency anemia in latin american and Caribbean populations. In iron metabolism and anemia. Pan American Health Organization, 1969.
- 36 - GANDRA, Y.R. - O pré-escolar de dois a seis anos de idade e o seu atendimento. Rev. Saúde Pública, São Paulo, 15(supl.): 3-8, 1981.
- 37 - GANDRA, Y.R.; SALZANO, A.C. Seminário sobre anemias nutricionais no Brasil: relatório final, Brasília, INAN, 1977.
- 38 - GUERRA, C.C.C. - Anemia e verminose. Bol. Rev. Soc. Bras. de Hematol. Hemoter., São Paulo, 10: 134-136, 1988.
- 39 - HALLBERG, L. & SOLVELL, L. - Absorption of hemoglobin iron in man. Acta Méd. Scand., Stockholm, 181: 335-354, 1967.

- 40 - HALLBERG, L. - Bioavailable nutrient density: a new concept applied in the interpretation of food iron absorption data. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, **34**: 2242-2247, 1981.
- 41 - HALLBERG, L. - Iron absorption and iron deficiency. Hum. Nutr. Clin. Nutr., London, **36C**: 259-278, 1982.
- 42 - HALLBERG, L. - Iron In: OLSON, R.E. et al., eds. Present Knowledge in nutrition 5. ed., Washington, Nutrition Foundation, 1984. p. 459-478.
- 43 - HALLBERG, L. Bioavailability of dietary iron in man. Annu. Rev. Nutr., Palo Alto, **1**: 123-147, 1981.
- 44 - HALLBERG, L.; ROSSANDER, L. - Improvement of iron nutrition in developing countries: comparison of adding meat, soy, protein, ascorbic acid, citric acid, and ferrous sulphate on iron absorption from a simple latin american type of meal. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, **39**: 577-583, 1984.
- 45 - HALLBERG, L.; BJÖRN-RASMUSSEN, E.; ROSSANDER, L.; SUWANIK, R.; PLEEHACHINDA, R.; TUNTAWIROON, M. - Iron absorption from some Asian meals containing contamination iron. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, **37**: 272-277, 1983.
- 46 - HALLBERG, L. et al. - Iron absorption in man: Ascorbic acid and dose-dependence inhibition by phytate. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, **49**: 140-144, 1989.
- 47 - HALLBERG, L.; BRUNE, M.; ROSSANDER, L. "Effect of Ascorbic Acid on iron Absorption from Different Types of meals." Studies with ascorbic-acid given in different amounts with different meals. Hum. Nutr. Appl. Nutr., London, **40A**: 97-113, 1986.
- 48 - HALLQUIST, N.A.; SHERMAN, A.R. - Effect of iron deficiency on the stimulation of natural killer cells by macrophage. Produced interferon. Nutr. Res., New York, **9**: 282-292, 1989.

- 49 - HERCBERG, S.; GALAN, P.; CHAULIAC, M.; ZOHOUN, I.; MASSE-RAIMBAULT, A.M. - Iron status and inflammatory processes in anaemic children. J. Trop. Pediatr., London, 33: 168-172, 1987.
- 50 - HERCBERG, S.; ROUAUD, C. - Nutritional anaemia. Child. Tropics., Paris, 133: 5-27, 1981.
- 51 - HERESI, G.; OLIVARES, M.; PIZARRO, F.; CAYAZZO, M.; STEKEL, A. - Effect of an iron fortified milk on morbidity in infancy. A field trial. Nutr. Res., New York, 7: 915-922, 1987.
- 52 - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3. ed., São Paulo, 1985. v.1, 533 p.
- 53 - INTERNATIONAL NUTRITIONAL ANEMIA CONSULTATIVE GROUP (INACG). Guidelines for eradication of iron deficiency anemia. [apresentado ao meeting, Goteborg, Sweden. June, 1977].
- 54 - INTERNATIONAL NUTRITIONAL ANEMIA CONSULTATIVE GROUP (INAG). Iron deficiency in infancy and childhood. Washington, 1979.
- 55 - KASHYAP, P.; GOPALDAST, T. - Impact of hematinic supplementation on cognitive function in underprivileged school girls (8-15 yrs of age). Nutr. Res., New York, 7: 1117-1126, 1987.
- 56 - KOKIOL, B.J.; OHIRA, Y.; EDGERTON, R.; SIMPSON, D.R. - Changes in work tolerance associated with metabolic and physiological adjustment to moderate and severe iron deficiency anemia. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 36: 830-839, 1982.
- 57 - KUVIBIDILA, S. - Iron deficiency, cell-mediated immunity and resistance against infections: Present knowledge and controversies. Nutr. Res., New York, 7: 989-1003, 1987.
- 58 - LAYRISSE, M.; COOK, J.D.; MARTINEZ, C.; ROCHE, M.; KUHN, I.N.; WALTER, R.B.; FINCH, C.A. - Food iron absorption. A comparison of vegetable and animal foods. Blood, New York, 33: 430-443, 1969.

- 59 - LAYRISSE, M.; MARTÍNEZ-TORRES, C.; COOK, J.D.; WALKER, R.; FINCH, C.A. - Iron fortification of food: Its measurement by the extrinsic tag method. Blood, New York, 41: 333-352, 1973.
- 60 - LAYRISSE, M.; MARTÍNEZ-TORRES, C.; GONZÁLEZ, M. - Measurement of the total daily dietary iron absorption by the extrinsic tag model. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 27: 152-162, 1974.
- 61 - LAYRISSE, M.; MARTÍNEZ-TORRES, C.; LEETS, I.; TAYLOR, P.; RAMÍREZ, J. Effect of histidine, cysteine, colutazione or beef an iron absorption in humans. J. Nutr., Philadelphia, 114: 217-223, 1984.
- 62 - LAYRISSE, M.; MARTÍNEZ-TORRES, C.; ROCHE, M. - Effect of interaction of various foods an iron absorption. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 21: 1175-1183, 1968.
- 63 - LINDER, M.C. e MUNRO, H.N. - The mechanism of iron absorption and its regulation. Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., Washington, 36: 2017-2023, 1977.
- 64 - LOZOFF, B. et al. - Iron deficiency anemia and iron therapy effects on infant developmental test performance. Pediatrics, Evanston, 79, 1987.
- 65 - MANOEL, N.J.; TUDISCO, E.S.; SIGULEM, D.M. - Avaliação nutricional em pré-escolares da comunidade infantil do Jardim Sabiá. Trabalho apresentado no 1º Congresso da SBAN, São Paulo, 1987.
- 66 - MARTINEZ-TORRES, C.; LEETS, I.; RENZI, M.; LAYRISSE, M. - Iron absorption from veal liver. J. Nutr., Philadelphia, 104: 983-993, 1974.
- 67 - MARTÍNEZ-TORRES, C. & LAYRISSE, M. - Effect of amino acids on iron absorption from a staple vegetable food. Blood, New York, 35: 669-682, 1970.
- 68 - MARTÍNEZ-TORRES, C. & LAYRISSE, M. - Iron absorption from veal muscle. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 24: 531-540, 1971.

- 69 - MARTÍNEZ-TORRES, C.; ROMANO, E.; LAYRISSE, M. - Effect of cysteine on iron absorption in man. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 34: 322-327, 1981.
- 70 - MAZZILLI, R.N. - Valor nutricional da merenda escolar e sua contribuição para as recomendações nutricionais do pré-escolar, matriculados em CEAP. Rev. Saúde Pública, São Paulo, 21: 246-254, 1987.
- 71 - MIALE, J.B. Laboratory medicine hematology. 5. ed. Saint Louis, Mosby, 1977. p. 414-432; 527-30.
- 72 - MILLER, S.A.; STEPHENSON, M.G. - Food fortification the need for scientific contribution. Biol. Nutr. Dieta, Basel, 40: 82-95, 1987.
- 73 - MINAMI, P.S. Coletânea de técnicas parasitológicas. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 1983. (Apostila).
- 74 - MONSEN, E.R.; BALINTFY, J.L. - Calculating dietary iron bioavailability: Refinement and computerization. J. Am. Diet. Assoc., Chicago, 80: 307-311, 1982.
- 75 - MONSEN, E.R. - Iron nutrition and absorption: Dietary factors which impact iron bioavailability. J. Am. Diet. Assoc., Chicago, 88: 786-789, 1988.
- 76 - MONSEN, E.R.; HALLBERG, L.; LAYRISSE, M.; HEGSTED, D.M.; COOK, J.D.; MERTZ, W.; FINCH, C.A. - Estimation of available dietary iron. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 31: 134-141, 1978.
- 77 - MONTEIRO, C.A.; SZARFARC, S.C. - Estudo das condições de saúde das crianças no município de São Paulo, SP (Brasil), 1984-1985. V-anemia. Rev. Saúde Pública, São Paulo, 21: 255-260, 1987.
- 78 - MONTEIRO, C.A.; CHIEFFI, P.P.; BENÍCIO, M.H.D.; DIAS, R.M.S.; TORRES, D.M.A.G.V.; MANGINI, A.C.S. - Estudo das condições de saúde das crianças do município de São Paulo (Brasil), 1984/1985. VII- Parasitoses intestinais. Rev. Saúde Pública, São Paulo, 22: 8-15, 1988.
- 79 - MOURA, E.C. - Perfil nutricional de crianças de creches particulares do município de Campinas/SP. Aliment. Nutr., 26: 39-42, 1986.

- 80 - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Recommended dietary allowances. 10: ed. Washington, National Academy Press, 1989. 284 p.
- 81 - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE LA SALUD. Lucha contra la anemia nutricional, especialmente contra la carencia de hierro. Geneve, 1975. 71 p. Informe de uma reunion mixta ADI/OIEA/OMS. [série de informes técnicos, 580].
- 82 - ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD. Necesidades de ácido ascórbico, vitamina D, vitamina B₁₂, folato y hierro. Geneva, 1970. [Informe de um grupo mixto FAO/OMS-série do informe técnicos, 452].
- 83 - PENTEADO, M.D.V.C.; LAJOLO, F.M.; SANTOS, N.P. - Functional and nutritional properties of isolated bovine blood proteins. J. Sci. Food Agric., London, 30: 809-815, 1979.
- 84 - PISKE, D. - Aproveitamento de sangue de abate para alimentação humana. I. Uma revisão. Bol. Inst. Tecnol. Aliment., Campinas, 19: 253-308, 1982.
- 85 - RAFFIN, S.B.; WOO, C.H.; ROOST, K.T.; PRICE, D.C.; SCHMID, R. - Intestinal absorption of hemoglobin iron-heme cleavage by mucosal heme oxygenase. J. Clin. Invest., New York, 54: 1344-1352, 1974.
- 86 - RÉ, M.I. - Secagem de sangue animal em leito de jorro. São Carlos, 1986. 73 p. (Dissertação-Mestrado-Centro de Ciências e Tecnologia-UFSCar.).
- 87 - ROSSANDER, L.; HALLBERG, L.; BJORN-RASMUSSEN, E. - Absorption of iron from breakfast meals. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 32: 2484-2489, 1979.
- 88 - SALZANO, A.C.; TORRES, M.A.A.; FILHO, M.B.; ROMANI, S.A.M. - Anemias em crianças de dois serviços de saúde de Recife, Pe (Brasil). Rev. Saúde Pública, São Paulo, 19: 499-507, 1985.
- 89 - SCRIMSHAW, N.S. - Functional consequences of iron deficiency in human populations. J. Nutr. Sci. Vitaminol., Berlin, 30: 47-63, 1984.

- 90 - SESHADRI, S.; SHAH, A.; BHADE, S. - Haematologic response of anaemic preschool children to ascorbic acid supplementation. Hum. Nutr. Appl. Nutr., 39A: 151-154, 1985.
- 91 - SICHIERI, R. - Anemia nutricional em crianças menores de 5 anos do município de São Paulo: Papel da dieta na determinação de sua prevalência. São Paulo, 1987. 91 p. (Tese-Doutorado-Faculdade de Saúde Pública da USP).
- 92 - SIGULEM, D.M.; TUDISCO, E.S.; GOLDENBERG, P.; ATHAIDE, M.M.M.; VAISMAN, E. - Anemia ferropriva em crianças do município de São Paulo. Rev. Saúde Pública, São Paulo, 12: 168-178, 1978.
- 93 - SKIKNE, B.S. - Current concepts in iron deficiency anemia. Food. Rev. Int., 4: 137-173, 1988.
- 94 - SLATKAVITZ, C.A.; CLYDESDALE, F.M. - Solubility of inorganic iron as affected by proteolytic digestion. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 47: 487-495, 1988.
- 95 - SOEMANTRI, A.G.; POLLITT, E.; KIM, I. - Iron deficiency anemia and educational achievement. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, 42: 1221-1228, 1985.
- 96 - SOOK, S.K.; BANERJI, L.; RAMALINGASWAMI, V. Occurrence of nutritional anaemia in tropical countries in symposia of the Swedish nutrition foundation VI Occurrence, causes and prevention of nutritional anaemias, p. 36-49, 1967.
- 97 - SPECK, M.L. - Compendium of methods for the microbiological examination of foods-sec ed., American Public Health Association, Washington, D.C., 1984.
- 98 - STEKEL, A.; AMAR, M.; CALVO, E.; CHADUD, P.; HERTRAMPF, E.; LLAGUNO, S.; OLIVARES, M.; PIZARRO, F. - Nutritional significance of interactions between iron and food components. Arch. Latinoam. Nutr., Caracas, 33: 33-41, 1983.

- 99 - STEKEL, A.; OLIVARES, M.; CAYAZZO, M.; CHADUD, P.; LLAGUNO, S.; PIZARRO, F. - Prevention of iron deficiency by milk fortification II a field trial with a full fat acidified milk. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, **47**: 265-69, 1988.
- 100 - STEKEL, A.; OLIVARES, M.; PIZARRO, F.; CHADUD, P.; LOPEZ, I.; AMAR, M. - Absorption of fortification iron from milk formulas in infants. Am. J. Clin. Nutr., Bethesda, **43**: 917-22, 1986.
- 101 - SZARFARC, S.C. - Diagnóstico de deficiência de ferro na infância. Rev. Saúde Pública, São Paulo, **19**: 278-284, 1985.
- 102 - SZARFARC, S.C.; MONTEIRO, C.A.; MEYER, M.; TUDISCO, E.S.; REIS, I.M. - Estudo das condições de saúde das crianças do município de São Paulo, SP (Brasil), 1984/1985. X-Consumo Alimentar. Rev. Saúde Pública, São Paulo, **22**: 266-272, 1988.
- 103 - TORÚN, B. - Fortificacion y enriquecimiento de alimentos: Consideraciones sobre su uso para alcanzar las metas nutricionales. Arch. Latinoam. Nutr., Caracas, **38**: 647-655, 1988.
- 104 - TURNBULL, A.; CLETON, F.; FINCH, C.A. - Iron absorption. IV The absorption of hemoglobin iron. J. Clin. Invest., New York, **41**: 1897-1907, 1962.
- 105 - TYBOR, P.T.; DILL, C.W.; LANDMANN, W.A. - Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process. J. Food Sci., Chicago, **40**: 155-159, 1975.
- 106 - WALTER, T.; KOVALSKYS, J.; STEKEL, A. - Effect of mild iron deficiency on infant mental development scores. J. Pediatr., St. Louis, **102**: 519-522, 1983.
- 107 - WHEBY, M.S.; SUTTLE, G.E.; FORD III, K.T. - Intestinal absorption of hemoglobin iron. Gastroenterology, New York, **58**(5): 647-654, 1970.

- 108 - WILSON, D.; RONCADA, M.J.; MAZZILLI, R.N.; CAVALCANTE, M.L.F.;
PATTOLI, D.B.G. - Nutritional status of children, inmates of a small
institution for homeless children in the capital of the state of S. Paulo,
Brazil. Rev. Saúde Pública, São Paulo, 14: 300-309, 1980.
- 109 - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Food fortification protein - calorie
malnutrition. Geneva, 1971. [Joint FAO/WHO expert committee on
nutrition - technich report series, 477].
- 110 - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Preventing and controlling iron
deficiency anaemia Through primary health care. [A guide for health
administrators and programme managers] Geneva, 1989. p.
- 111 - WORLD HEALTH ORGANIZATION - Nutritional anaemias. Report of a
who group of Experts. Technical Report. Series, 503, 1972.

RESUMO

Biscoitos à base de farinha de trigo foram preparados com a adição de 3% de concentrado de hemoglobina bovina, obtido pela técnica de secagem de sangue animal em "leito de jorro", e introduzidos na dieta de pré-escolares de uma creche em Teresina, Estado do Piauí, Brasil. O estado de nutrição em ferro foi avaliado antes e após a intervenção

A análise da dieta consumida mostrou déficit calórico e de ferro de 60 e 40%, respectivamente, bem como adequação quantitativa de proteína.

A prevalência de anemia por deficiência de ferro foi de 75% ($Hb < 11$ g/dl), sendo 41% destes de grau severo ($Hb < 9,3$ g/dl). Com a introdução na dieta de 5 biscoitos/dia (5mg Fe), durante 90 dias, houve repleção hemoglobínica ($Hb > 11$ g/dl) em 100% das crianças.

SUMMARY

Wheat flour biscuits were prepared with the addition of 3% bovine hemoglobin concentrate obtained by the drying of animal blood in a spouted bed and were introduced in the diet of pre-school children from a kindergarten of Teresina, Piauí state, Brazil. Iron nutriture was evaluated before and after the intervention.

The analysis of the diet consumed by the children showed energy and iron deficiencies of 40% and 60% respectively and a quantitative protein adequacy.

The prevalence of iron deficiency anemia was 75% ($Hb < 11$ g/dl), 41% of these, of severe degree ($Hb < 9,3$ g/dl). With the introduction in the diet of 5 biscuits a day (5 mg Fe) for 90 days, there was hemoglobin repletion ($Hb > 11$ g/dl) in 100% of the children.