



ANA ALICE ANDRADE OLIVEIRA

**DETERMINAÇÃO DE FERRO EM MASSAS E BOLOS
ELABORADOS COM FARINHA FORTIFICADA E AVALIAÇÃO DA
QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DURANTE ESTOCAGEM**

Campinas
2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANA ALICE ANDRADE OLIVEIRA

**DETERMINAÇÃO DE FERRO EM MASSAS E BOLOS
ELABORADOS COM FARINHA FORTIFICADA E AVALIAÇÃO DA
QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DURANTE ESTOCAGEM**

Orientador(a): Profa. Dra. Juliana Azevedo Lima Pallone

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para o título de Mestra em Ciência de Alimentos.

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação defendida pela aluna Ana Alice Andrade Oliveira e orientada pela Prof^a Dra. Juliana Azevedo Lima Pallone

Assinatura do Orientador

Campinas
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

OL4d Oliveira, Ana Alice Andrade, 1986-
Determinação de ferro em massas e bolos elaborados
com farinha fortificada e avaliação da qualidade físico-
química durante estocagem / Ana Alice Andrade Oliveira.
-- Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Juliana Azevedo Lima Pallone.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Ferro. 2. Espectrometria de absorção atômica
com chama. 3. Fortificação. 4. Alimentos. 5. Farinha
de trigo. I. Lima-Pallone, Juliana Azevedo. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Determination of iron in pasta and cake made with fortified
flour and physical-chemical evaluation during storage

Palavras-chave em Inglês:

Iron

Flame atomic absorption spectrometry

Fortification

Food

Wheat flour

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestra em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Juliana Azevedo Lima Pallone [Orientador]

Alessandra Borin-Nogueira

Fabiola Manhas Verbi Pereira

Data da defesa: 22-03-2013

Programa de Pós Graduação: Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Dra. Juliana Azevedo Lima Pallone

Orientadora

Dra. Alessandra Borin-Nogueira

Membro Titular

Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Dra. Fabíola Manhas Verbi Pereira

Membro Titular

Embrapa Instrumentação Agropecuária

Dr. Roger Wagner

Membro Suplente

Universidade Federal de Santa Maria

Dr. Marcelo Alexandre Prado

Membro Suplente

FEA - UNICAMP

*“Nada é suficientemente bom.
Então vamos fazer o que é certo,
dedicar o melhor de nossos esforços para atingir o inatingível,
desenvolver ao máximo os dons que Deus nos concedeu,
e nunca parar de aprender.”*

Ludwig Von Beethoven

*Dedico este trabalho aos meus pais,
André (in memoriam) e Silvia, e aos meus irmãos
Guilherme, Ana Luisa e Ana Teresa.*

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo amor, dedicação, paciência e incentivo, me apoiando em todos os momentos e tornando possível a finalização deste trabalho.

À Universidade Estadual de Campinas e ao Departamento de Ciência de Alimentos, pela oportunidade de ingressar no programa de pós-graduação e realizar este trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo financiamento do projeto de pesquisa (Processo Fapesp nº 2009/50730-0) e pela concessão da bolsa de mestrado (Processo Fapesp nº 2010/12020-8).

À Prof^a Juliana Pallone pela orientação, apoio e amizade.

Aos membros da banca examinadora, Dra. Alessandra Borin-Nogueira, Dra. Fabíola Manhas Verbi Pereira, Dr. Roger Wagner e Dr. Marcelo Alexandre Prado pela atenção e pelas contribuições feitas a este trabalho.

Aos amigos da FEA e do Laboratório de Análise de Alimentos, que colaboraram para o desenvolvimento do trabalho e tornaram este período mais divertido.

Às estagiárias, Letícia e Cristiane, pela imensa ajuda na realização dos experimentos.

Ao Sr. Dirceu, à Miriam, à Renata e à Marcela pela atenção e apoio, fundamentais para o desenvolvimento do meu projeto.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUÇÃO GERAL	1
1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	2
CAPÍTULO 1 - MASSAS E BOLOS ELABORADOS COM FARINHA DE TRIGO FORTIFICADA COM FERRO	5
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
1.1 Importância do Ferro	6
1.2 Fortificação de farinhas	7
1.3 Consumo de massas e bolos	9
1.4 Ferro e oxidação.....	10
1.5 Ferro e qualidade físico-química	11
1.6 Métodos para determinação de ferro.....	12
1.7 Validação de métodos analíticos	13
2. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	14
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO DE FERRO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA EM MASSAS E BOLOS ELABORADOS COM FARINHA DE TRIGO FORTIFICADA	23
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1 Equipamentos.....	26
2.2 Reagentes	27
2.3 Amostras	27

2.4	Limpeza das vidrarias.....	27
2.5	Mineralização das amostras	27
2.6	Validação da metodologia para determinação de ferro por FAAS.....	28
2.7	Determinação de ferro por FAAS	29
2.8	Determinação de carbono residual por ICP-OES	30
2.9	Avaliação do efeito do cozimento no teor de ferro presente em macarrão	30
2.10	Tratamento estatístico	31
3.	<i>RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	31
3.1	Determinação de carbono residual por ICP-OES	31
3.2	Validação da metodologia para a determinação de ferro por FAAS	32
3.2.1	Avaliação da linearidade e sensibilidade.....	32
3.2.2	Avaliação da exatidão e precisão com Material de Referência Certificado (MRC NIST 1567a)	34
3.2.3	Avaliação da precisão da metodologia para determinação do teor de ferro	36
3.2.4	Avaliação da recuperação de ferro nas amostras	39
3.3	Limites de detecção e quantificação.....	40
3.4	Determinação de ferro	42
3.5	Avaliação do efeito do cozimento no teor de ferro em macarrão	49
4.	<i>CONCLUSÃO</i>	50
5.	<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	51

CAPÍTULO 3 - QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE MASSAS E BOLOS ELABORADOS COM FARINHA DE TRIGO FORTIFICADA COM FERRO 57

1.	<i>INTRODUÇÃO</i>	59
2.	<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	61
2.1	Equipamentos.....	61
2.2	Reagentes	61

2.3	Amostras	62
2.4	Determinação de umidade (AOAC, 2006)	62
2.5	Determinação de acidez álcool solúvel	63
2.6	Extração de lipídeos (Bligh-Dyer, 1959)	63
2.7	Determinação do índice de peróxido (AOCS, 1997; IAL, 2008)	64
2.8	Determinação de ferro	65
2.9	Análise estatística.....	65
2.10	Avaliação dos métodos analíticos	65
3.	<i>RESULTADOS E DISCUSSÃO</i>	65
3.1.1	Avaliação da precisão da metodologia para determinação de umidade	65
3.1.2	Avaliação da precisão da metodologia para determinação de acidez álcool solúvel.....	66
3.1.3	Avaliação da precisão para determinação de índice de peróxido	67
3.2	Determinação de umidade, acidez álcool solúvel e índice de peróxido nas amostras.....	68
3.2.1	Determinação do teor de umidade em amostras.....	69
3.2.2	Determinação de acidez álcool solúvel das amostras.....	73
3.2.3	Determinação do teor de lipídeos.....	76
3.2.4	Determinação do índice de peróxido das amostras.	80
3.3	Determinação de ferro	82
4.	<i>CONCLUSÃO</i>	86
5.	<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	87
	CONCLUSÃO GERAL	91
	ANEXOS	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Curvas analíticas para determinação da faixa linear de trabalho e equação para quantificação do Ferro nas amostras.	33
Figura 2.2: Gráfico dos resíduos (resíduos: valor estimado –valor encontrado) ...	34
Figura 2.3: Curva analítica para determinação dos limites de detecção e quantificação	41
Figura 2.4: Teor médio de ferro. Médias seguidas pela mesma letra, para cada tipo de produto, não diferem entre si pelo Teste de Tukey (95%).....	45
Figura 3.1: Teor de umidade nas amostras de macarrão massa seca e macarrão instantâneo.....	70
Figura 3.2: Teor de umidade nas amostras de bolo de laranja, massa de pastel, massa de pizza e massa fresca para lasanha.....	71
Figura 3.3: Acidez álcool solúvel em macarrão massa seca e macarrão instantâneo.....	74
Figura 3.4: Acidez álcool solúvel em bolo de laranja, massa fresca para lasanha, massa de pastel e massa de pizza.	75
Figura 3.5: índice de peróxido em macarrão instantâneo	81

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1: Teor de carbono residual nas amostras	31
Tabela 2.2: Curvas analíticas para determinação de ferro	32
Tabela 2.3: ANOVA da regressão	34
Tabela 2.4: Determinação de ferro em amostras de MRC por FAAS.....	35
Tabela 2.5: Avaliação da repetitividade para determinação de ferro nas amostras	37
Tabela 2.6: Análise de variância para avaliação da precisão intermediária	38
Tabela 2.7: Porcentagem de recuperação nas amostras	40
Tabela 2.8: Teor de ferro em massas alimentícias e bolos.	42
Tabela 2.9: Massa de ferro por porção e porcentagem da Ingestão Diária Recomendada.	48
Tabela 2.10: Consumo de massas e bolos para todas as classes de renda, para famílias com renda até R\$830 e famílias com renda acima de R\$6225.	49
Tabela 2.11: Teor de ferro do macarrão antes e após cozimento.	50
Tabela 3.1: Avaliação da repetitividade do método de determinação de umidade	66
Tabela 3.2: Avaliação da precisão para a determinação de acidez álcool solúvel	67
Tabela 3.3: Avaliação da precisão para a determinação de índice de peróxido ...	68
Tabela 3.4: Teor de lipídeos em massas e bolos.	76
Tabela 3.5: Teor de ferro em massas alimentícias e bolos.	83

RESUMO

A partir da Resolução Nº 344, de 13 de dezembro de 2002, publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a fortificação de farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico tornou-se obrigatória. No entanto, para garantir a eficiência do programa de fortificação, é importante obter dados sobre o consumo de ferro a partir dos alimentos fortificados e assegurar a qualidade destes produtos. Neste trabalho foi validada e aplicada uma metodologia para determinação de ferro por espectrometria de absorção atômica com chama em massas e bolos elaborados com farinha de trigo fortificada. Também foram realizadas determinações de umidade, acidez álcool solúvel e índice de peróxido, a fim de verificar a qualidade destes produtos. O teor de carbono residual nas amostras, após mineralização, foi determinado por espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). Os resultados revelaram que a digestão foi eficiente e que o método para determinação de ferro apresenta precisão, exatidão, linearidade e limites de detecção e quantificação adequados para aplicação em massas e bolos. Os resultados da determinação de ferro mostraram que, entre as amostras de macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massa de pizza, massa de pastel, bolo e massa de lasanha o teor de ferro variou de 2,5 a 7,1 mg 100 g⁻¹ (em média 5,0 mg 100 g⁻¹), de 2,4 a 5,5 mg 100 g⁻¹ (em média 4,3 mg 100 g⁻¹), de 2,0 a 5,5 mg 100 g⁻¹ (em média 3,8 mg 100 g⁻¹), de 1,0 a 4,9 mg 100 g⁻¹ (em média 2,9 mg 100 g⁻¹), de 1,1 a 3,1 mg 100 g⁻¹ (em média 2,1 mg 100 g⁻¹) e de 0,7 a 4,7 mg 100 g⁻¹ (em média 2,9 mg 100 g⁻¹), respectivamente. Para o macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massa de pizza, massa de pastel, massa de lasanha e bolo o teor de umidade variou de 9,5% a 12,3%, de 3,3% a 7,1%, de 19,5% e 29,6%, de 25,7% a 31,3%, de 26,6% a 33,1% e de 16,3% a 26,5%, respectivamente. Nas amostras de macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massa de pizza, massa de pastel, massa de lasanha e bolo a acidez variou de 1,4 a 3,2 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹, de 0,3 e 1,0 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹, de 2,9 e 4,6 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹, de 0,9 e 6,6 mL de

solução 1 mol L^{-1} de NaOH 100 g^{-1} , de 1,7 e 3,7 mL de solução 1 mol L^{-1} de NaOH 100 g^{-1} e de 1,3 a 2,5 mL de solução 1 mol L^{-1} de NaOH 100 g^{-1} . Nas amostras de macarrão instantâneo o índice de peróxido variou, em média, de $5,9 \text{ mEq kg}^{-1}$ de gordura a $8,4 \text{ mEq kg}^{-1}$ de gordura. Os resultados revelam que as amostras apresentam boa qualidade físico-química, entretanto, notou-se grande variação no teor de ferro nas amostras analisadas.

ABSTRACT

Brazilian Health Surveillance Agency (ANVISA) established, by resolution RDC N°344, mandatory fortification of wheat flour and corn flour with iron and folic acid. However, to ensure the efficiency of the fortification program, it is important to get information about iron consumption from fortified food and guarantee the quality of the products. The aim of this study was to validate and apply a methodology for iron determination by flame atomic absorption in pasta and cake produced with wheat flour fortified with iron. In addition, humidity, acidity and peroxide index were determined to check the quality of the products. In order to assess the efficiency of the mineralization, residual carbon was determined by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry. The results revealed that the mineralization was efficient and the method demonstrated accuracy, precision, linearity and adequate detection limit and quantification limit. The results of iron determination showed that the iron content of dried pasta, instant noodle, pizza dough, samosa dough, orange cake and fresh lasagna sheets ranged from 2,5 to 7,1 mg 100 g⁻¹ (on average 5,0 mg 100 g⁻¹), from 2,4 to 5,5 mg 100 g⁻¹ (on average 4,3 mg 100 g⁻¹), from 2,0 mg 100 g⁻¹ to 5,5 mg 100 g⁻¹ (on average 3,8 mg 100 g⁻¹), from 1,0 to 4,9 mg 100 g⁻¹ (on average 2,9 mg 100 g⁻¹), from 1,1 to 3,1 mg 100 g⁻¹ (on average 2,1 mg 100 g⁻¹) and from 0,7 to 4,7 mg 100 g⁻¹ (on average 2,9 mg 100 g⁻¹), respectively. The humidity of dried pasta, instant noodle, pizza dough, samosa dough, pizza dough, fresh lasagna sheets and orange cake ranged from 9,5% to 12,3%, from 3,3% to 7,1%, from 19,5% e 29,6%, from 25,7% to 31,3%, from 26,6% to 33,1% e from 16,3% to 26,5%, respectively. The acidity of dried pasta, instant noodle, pizza dough, samosa dough, fresh lasagna sheets and orange cake ranged from 1,4 to 3,2 mL of 1 mol L⁻¹ NaOH solution 100 g⁻¹, from 0,3 to 1,0 mL of 1 mol L⁻¹ NaOH solution 100 g⁻¹, from 2,9 to 4,6 mL 1mol L⁻¹ NaOH solution 100 g⁻¹, from 0,9 to 6,6 mL 1mol L⁻¹ NaOH solution 100 g⁻¹, from 1,7 to 3,7 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹ and from 1,3 to 2,5 mL 1mol L⁻¹ NaOH solution 100 g⁻¹, respectively. The peroxide index of instant noodle ranged from 4,0 mEq

kg⁻¹ to 12,0 mEq kg⁻¹. The results reveal that samples had good physicochemical quality, however there was a wide variation in the products.

INTRODUÇÃO GERAL

A deficiência de ferro é o problema nutricional com maior prevalência no mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, há cerca de 1,62 bilhões de anêmicos no mundo e estima-se que 50% dos casos sejam de anemia ferropriva (BENOIST, 2008; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001). Uma das estratégias mais adotadas na tentativa de corrigir este problema é a fortificação de farinhas. No Brasil, a Resolução Nº 344, de 13 de dezembro de 2002, publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, tornou obrigatória a fortificação de farinhas de trigo e milho com ácido fólico ($150 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) e ferro ($4,2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (BRASIL, 2002). Porém, existem poucos dados sobre o teor de ferro nas farinhas e seus derivados comercializados no Brasil.

Por outro lado, a ingestão do ferro tem sido associada ao estresse oxidativo, aumentando no organismo a concentração de espécies oxidantes capazes de causar danos aos lipídeos de membrana, ao DNA e às proteínas (HUANG, 2003). Vários trabalhos publicados relacionam o ferro a problemas cardíacos, câncer, diabetes e mal de Alzheimer, entre outros problemas de saúde (HUANG, 2003; JAKSZYN *et al.*, 2012; LOEF; WALACH, 2012; MASCITELLI *et al.*, 2010). Além disso, estudos indicam que a suplementação com ferro pode comprometer a absorção de outros nutrientes (PEDROSA; COZZOLINO, 1993).

Outro problema decorrente da fortificação com ferro é a capacidade deste metal de provocar alterações indesejadas nos alimentos, como sabor metálico, alterações de cor, precipitação de proteínas e, principalmente, reações de oxidação (CHAVASIT *et al.*, 2003; HURRELL, 2002; KHOSHGOFTARMANESH *et al.*, 2008; MARTÍNEZ-NAVARRETE *et al.*, 2002; RICHINS *et al.*, 2008).

Portanto, é preciso obter dados sobre a concentração de ferro nos alimentos elaborados com farinhas fortificadas e monitorar a qualidade destes produtos. Garantir o acesso da população a alimentos com suprimento adequado de ferro e assegurar a qualidade destes produtos é fundamental para o sucesso dos programas de fortificação.

1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. **Diário Oficial da União**, 2002.

BENOIST, B. DE; MCLEAN, E.; EGLI, I.; COGSWELL, M. Worldwide prevalence of anaemia 1993 - 2005. **World Health Organization**, 2008. Disponível em: <whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf> Acessado em: 05/02/2013.

CHAVASIT, V.; NOPBURABUTR, P.; KONGKACHUICHA, R. Combating iodine and iron deficiencies through the double fortification of fish sauce , mixed fish sauce , and salt brine. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 24, n. 2, p. 200-207, 2003.

HUANG, X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 533, n. 1-2, p. 153-171, 2003.

HURRELL, R. How to Ensure Adequate Iron Absorption from Iron-fortified Food. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 7, p. S7-S15, 2002.

JAKSZYN, P.; AGUDO, A.; LUJAN-BARROSO, L. *et al.* Dietary intake of heme iron and risk of gastric cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition study. **International journal of cancer.**, v. 130, n. 11, p. 2654-2663, 2012.

KHOSHGOFTARMANESH, A. H.; ROOHANI, N.; DARA, A.; KADIVAR, M.; SCHULIN, R. Some nutritional quality and sensory attributes of wheat flours fortified with iron and zinc. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 34, n. 2010, p. 289-301, 2008.

LOEF, M.; WALACH, H. Copper and iron in Alzheimer's disease: a systematic review and its dietary implications. **The British journal of nutrition**, v. 107, n. 1, p. 7-19, 2012.

MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CAMACHO, M. M.; MARTÍNEZ-LAHUERTA, J.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. Iron deficiency and iron fortified foods — a review. **Food Research International**, v. 35, p. 225-231, 2002.

MASCITELLI, L.; PEZZETTA, F.; GOLDSTEIN, M. R. Diabetes, cancer and iron. **Diabetologia**, v. 53, n. 9, p. 2071-2072, 2010.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Efeito da suplementação com ferro na biodisponibilidade de zinco em uma dieta regional do nordeste do Brasil * Effects of supplementation with iron on the bioavailability of zinc in the regional diet of northeastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 27, n. 4, p. 6-10, 1993.

RICHINS, A. T.; BURTON, K. E.; PAHULU, H. F.; JEFFERIES, L.; DUNN, M. L. Effect of Iron Source on Color and Appearance of Micronutrient-Fortified Corn Flour Tortillas. **Cereal Chemistry**, v. 85, n. 4, p. 561-565, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Iron Deficiency Anemia. Assessment, Prevention and Control. A guide for programme managers. **World Health Organization**, 2001. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf> Acessado em: 05/02/2013.

Capítulo 1

MASSAS E BOLOS ELABORADOS COM FARINHA DE TRIGO FORTIFICADA COM FERRO

Ana Alice Andrade Oliveira, Juliana Azevedo Lima Pallone

**Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de
Alimentos, UNICAMP, 13083-862, Campinas, SP, Brasil.**

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Importância do Ferro

O ferro é o metal mais abundante e quarto elemento mais comum na crosta terrestre (HUNT, 2005). Em sistemas biológicos está presente quase que exclusivamente em forma de quelatos com anéis porfíricos ou com proteínas. O organismo de um homem apresenta cerca de 4 g de ferro, enquanto no corpo de uma mulher há em torno de 2,5 g. Aproximadamente dois terços deste ferro é funcional, participa ativamente do metabolismo. Um terço, em indivíduos sem carência de ferro, está armazenado, principalmente no fígado, baço e medula óssea (FENNEMA, 1996). O ferro está envolvido no funcionamento dos glóbulos vermelhos, mioglobina e enzimas. Por conta da sua habilidade de participar de reações de oxidação e redução, o ferro está ligado ao transporte de oxigênio e dióxido de carbono e é um componente ativo dos citocromos envolvidos na respiração celular e geração de energia. Este metal também parece estar envolvido na função imune e performance cognitiva (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998).

A anemia é o distúrbio nutricional com maior prevalência no mundo, afetando cerca de 1,6 bilhões de pessoas, em especial mulheres e crianças em idade pré-escolar (BENOIST *et al.*, 2008). No Brasil, a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher (BRASIL, 2009) revelou que a prevalência de anemia entre crianças e mulheres é de 20,9% e 29,4%, respectivamente. Em geral, estima-se que 50% dos casos de anemia sejam decorrentes da deficiência de ferro (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001). A deficiência de ferro está associada à baixa resistência a infecções, ao desenvolvimento físico e psicomotor comprometido, à diminuição da produtividade e da capacidade de aprendizagem (BEARD, 2001; HAAS; BROWNLIE IV, 2001). Também aumenta o risco de parto prematuro, a morbidade e a mortalidade, entre gestantes, além do aumento da mortalidade entre bebês e nascimento de crianças com baixo peso (BRABIN; HAKIMI; *et al.*, 2001; BRABIN; PREMJI; *et al.*, 2001).

1.2 Fortificação de farinhas

A fortificação de farinhas teve início nos Estados Unidos e Europa por volta de 1940, inicialmente com o objetivo de restaurar os níveis de ferro da farinha, perdido durante a moagem. Atualmente, a fortificação de alimentos tem sido apontada como a forma mais segura, eficiente e de baixo custo para a redução da anemia em países onde o consumo de alimentos industrializados é significativo (HURRELL *et al.*, 2010). Em 2004, a fortificação de farinha de trigo com ferro era obrigatória em 33 países (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2008). Em 2012 esse número aumentou para 74 países (FLOUR FORTIFICATION INITIATIVE, 2012).

Em maio de 1999 o Ministério da Saúde estabeleceu o Compromisso Social para a Redução da Anemia por Deficiência de Ferro no Brasil. Este compromisso, firmado entre o governo brasileiro, associações e a indústria alimentícia, teve como objetivo a redução da anemia ferropriva através da promoção da alimentação saudável, da distribuição de suplementos na rede de saúde e da fortificação das farinhas de trigo e milho. Esta se tornou obrigatória com a emissão pela Anvisa da Resolução nº 344, de 13 de dezembro de 2002, que determina a adição de 4,2 mg de ferro e 150 µg de ácido fólico a cada 100 g de farinha de trigo ou de milho (BRASIL, 2002).

Com a Portaria nº 1.793, de 11 de agosto de 2009, o Ministério da Saúde instituiu a Comissão Interinstitucional para Implementação, Acompanhamento e Monitoramento das Ações de Fortificação de Farinhas de Trigo, de Milho e de seus Subprodutos. Esta comissão tem como principais atribuições propor medidas destinadas a implementar as ações para fortificação das farinhas de trigo e de milho, acompanhar e monitorar a fortificação das farinhas de trigo, de milho e de seus subprodutos, bem como discutir a efetividade das ações adotadas, além de estabelecer estratégias de informação, de comunicação, de educação e de mobilização social com vistas à redução da prevalência de anemia e dos defeitos do tubo neural (BRASIL, 2009).

De acordo com a literatura, há grande variação entre os níveis de ferro nas farinhas comercializadas no Brasil. Em um estudo realizado por Soeiro *et al.*, em Campinas, com farinhas de trigo e milho, de três fabricantes e cinco lotes, observou-se que entre as farinhas de trigo o teor de ferro adicionado variou de 5,1 a 9,4 mg 100 g⁻¹, com média de 7,4 mg 100g⁻¹. Entre as farinhas de milho o teor de ferro variou de 6,4 a 10,9 mg 100 g⁻¹, em média 8,5 mg 100 g⁻¹ (SOEIRO *et al.*, 2009). Em outros trabalhos foi avaliado o teor de ferro em diferentes amostras de farinhas produzidas no Brasil, utilizando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com Chama e foi encontrada uma variação no teor de ferro de 4,1 a 10,0 mg 100 g⁻¹ em 30 amostras (3 fabricantes de farinhas de trigo e milho, em 5 lotes) e de 3,4 a 10,9 mg 100 g⁻¹ em 70 amostras (8 fabricantes de farinhas de trigo e 6 marcas de farinhas de milho, em 5 lotes) de farinhas de trigo e milho, comercializadas na cidade de Campinas – São Paulo (BOEN *et al.*, 2007; BOEN *et al.*, 2008). Druzian *et al.* (2006) avaliaram o teor de ferro em flocos de milho comercializados em Salvador e encontraram uma variação de 7,6 a 10 mg 100 g⁻¹ em 3 diferentes marcas avaliadas. Em um trabalho realizado em Pelotas-RS, de 23 marcas de farinha de trigo, 5 não apresentaram níveis de ferro compatíveis com a legislação (ASSUNÇÃO *et al.*, 2007). Um estudo sobre o teor de ferro em produtos à base de farinha de trigo mostrou que a concentração deste mineral tem grande variação entre as marcas. Entre as amostras de macarrão, o teor de ferro variou de 1,6 a 5,4 mg 100 g⁻¹, enquanto para as massas de pizza a concentração variou de 2,6 a 7,3 mg 100 g⁻¹ (BOEN; LIMA PALLONE, 2009).

Após a obrigatoriedade da fortificação de farinhas, foram realizados alguns estudos com o objetivo de verificar o impacto da fortificação de alimentos no combate a deficiência de ferro. Em um trabalho realizado por Souza Filho *et al.*, em Teresina, com gestantes, comparou-se os níveis de hemoglobina e a ocorrência de anemia antes e após a fortificação das farinhas. Observou-se o aumento dos níveis de hemoglobina e a redução de quase 60% na prevalência de anemia (SOUZA FILHO *et al.*, 2011).

Assunção *et al* avaliaram, em Pelotas, no Rio Grande do Sul, o impacto da fortificação de farinhas na prevalência de anemia entre crianças com menos de seis anos. Concluiu-se que a fortificação não teve efeito sobre os níveis de hemoglobina e que entre crianças com menos de 24 meses ocorreu aumento da prevalência de anemia (ASSUNÇÃO *et al.*, 2012).

1.3 Consumo de massas e bolos

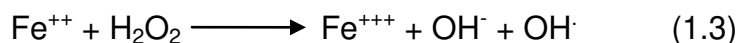
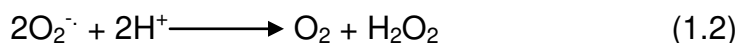
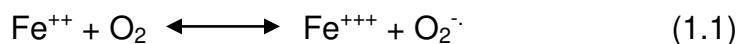
De acordo com dados da Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 (IBGE, 2010), o brasileiro consome cerca de 100 g de farinha de trigo e derivados por dia e as massas alimentícias e bolos representam 15% deste consumo. O consumo de massas pela população brasileira é de 4,8 Kg/pessoa/ano, sendo esse valor a soma do consumo de macarrão, massa de lasanha, massa de pastel e massa de pizza. A aquisição de macarrão é de 4,14 kg/pessoa/ano, representando cerca de 90 % do total da quantidade de massas. Os restantes 10 % estão divididos entre massa de lasanha, que apresenta um consumo de 0,151 Kg/pessoa/ano, massa de pastel 0,143 Kg/pessoa/ano e massa de pizza 0,179 Kg/pessoa/ano. O consumo de bolos industrializados apresentado é de 0,89 Kg/pessoa/ano (IBGE, 2010).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de massas alimentícias, atrás da Itália e dos Estados Unidos, produzindo cerca de 1.300.000 toneladas destes produtos (INTERNATIONAL PASTA ORGANIZATION, 2011). De acordo com a ABIMA (Associação Brasileira das Indústrias de Massas Alimentícias, Pão & Bolo Industrializado), em 2011 foram vendidas 961 mil toneladas de massas secas, 192 mil toneladas de massas instantâneas, 51 mil toneladas de massas frescas e cerca de 300 mil toneladas de bolo industrializado. Em relação às vendas em 2007, houve aumento de 37% nas vendas de bolo, 22% de aumento nas vendas de massa instantâneas, 27% de aumento nas vendas de massa fresca e redução de 11% nas vendas de massa seca (ABIMA, 2012).

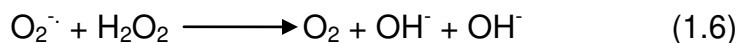
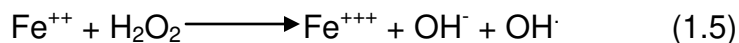
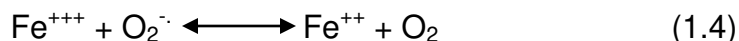
1.4 Ferro e oxidação

O ferro, assim como outros metais de transição, está envolvido nas reações de Fenton e Haber-Weiss, produzindo radicais hidroxila extremamente reativos:

Reação de Fenton:



Reação de Haber-Weiss:



Estes radicais são capazes de provocar danos ao DNA, aos lipídeos e às proteínas (GALARIS *et al.*, 2008). Os danos oxidativos causados às células parecem estar relacionados à incidência de problemas cardíacos, câncer, diabetes e mal de Alzheimer, entre outras doenças (HUANG, 2003; JAKSZYN *et al.*, 2012; LOEF; WALACH, 2012; MASCITELLI *et al.*, 2010).

O ferro também atua como pró-oxidante nos alimentos, induzindo a formação de radicais livres e causando a degradação oxidativa de pigmentos, vitaminas e ácidos graxos. Em produtos com alto teor de lipídeos, a oxidação representa uma das principais causas de deterioração. Além de comprometer o valor nutricional, a oxidação produz compostos como aldeídos, cetonas, alcoóis e hidrocarbonetos, que comprometem o sabor e odor dos alimentos (ARAÚJO, 2006).

1.5 Ferro e qualidade físico-química

Na literatura há alguns trabalhos relacionando a adição de ferro à qualidade físico-química dos alimentos. Em estudo realizado com leite em pó adicionado de duas fontes diferentes de ferro, sulfato ferroso e ferro aminoácido quelato, verificou-se que a adição da segunda forma conferiu maior estabilidade oxidativa ao produto (MENDES *et al.*, 2008).

A avaliação das características físico-químicas e sensoriais de biscoitos adicionados de NaFeEDTA (ferro-ácido etileno-diamino tetra-acético), em diferentes concentrações, revelou que não houve diferença significativa no pH, cinzas, força de ruptura e umidade. Foi observado ainda que o índice de peróxido aumentou tanto nos biscoitos fortificados como nos não fortificados, especialmente após 28 dias. A adição de NaFeEDTA teve efeito significativo na cor, textura e sabor dos produtos (MOHAMMADI *et al.*, 2011).

A adição de sulfato ferroso, NaFeEDTA e uma forma encapsulada de ferro reduzido por hidrogênio em macarrão instantâneo não afetou o índice de peróxido, cor ou qualidade sensorial do produto no período de três meses. A cor da massa crua, do macarrão não cozido e do macarrão cozido foi mais mal avaliada na formulação contendo sulfato ferroso. A cor não foi alterada com a adição de NaFeEDTA (KONGKACHUICHA *et al.*, 2012).

Em outro trabalho, a estabilidade da farinha de trigo integral fortificada com NaFeEDTA, ferro elementar, ZnSO₄ e ZnO foi avaliada durante 60 dias. Observou-se a diminuição da umidade e do teor de proteína e aumento do teor de cinzas, em relação ao controle. As farinhas fortificadas com ferro elementar apresentaram inibição da contaminação por fungos (AKHTAR *et al.*, 2008). Em outro estudo, realizado com farinhas fortificadas com sulfato ferroso, sulfato ferroso + EDTA e ferro elementar, durante 42 dias, foi observado aumento da umidade, da acidez e do índice de peróxido, enquanto os teores de proteínas e lipídeos diminuíram. As farinhas que continham sulfato ferroso apresentaram maior aceitação, com base nas características sensoriais (HUMA *et al.*, 2007).

1.6 Métodos para determinação de ferro

Entre as técnicas empregadas para a determinação de ferro estão a espectrometria de absorção atômica, a espectrometria na região do visível, a espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado. No Irã, um método baseado na reação do ferro com a ortofenantrolina e posterior determinação por espectrofotometria na região do visível foi utilizado para avaliar farinhas e pães fortificados com este mineral (SADIGHI *et al.*, 2008). Em um trabalho realizado na Finlândia, foi avaliado o teor de ferro, cálcio, potássio, magnésio, fósforo, alumínio, cobalto, cobre, manganês, níquel, selênio, zinco, cádmio e chumbo em produtos à base de cereais, frutas e legumes por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (EKHOLM *et al.*, 2007). A técnica de espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado foi empregada na determinação de ferro, cádmio, cromo, níquel e chumbo em grãos de trigo durum, semolina e macarrão (CUBADDA *et al.*, 2005). Um estudo sobre teor de zinco, ferro e cálcio em pães e macarrão elaborados com farinha de trigo e farinha de amaranto, utilizou espectrometria de absorção atômica com chama para a determinação destes minerais (DYNER *et al.*, 2007). Em outro trabalho, foi usado um espectrômetro de absorção atômica com chama para determinação do teor de ferro e zinco em tortillas (ROSADO *et al.*, 2005). Um espectrômetro de absorção atômica também foi empregado para a avaliação do teor de ferro em biscoitos (VITALI, D., 2007). Em um estudo realizado com diferentes linhagens de milho, também foi utilizada esta técnica para a quantificação de ferro e zinco (QUEIROZ, 2011). Entre estas técnicas, a espectrometria de absorção atômica com chama é a mais difundida, especialmente para a determinação de ferro, devido ao baixo custo, simplicidade e poucos interferentes para este analito (DEAN; MA, 2008).

1.7 Validação de métodos analíticos

O objetivo da validação de métodos analíticos é demonstrar que o procedimento se adéqua ao uso pretendido, assegurando a confiabilidade, rastreabilidade e comparabilidade dos resultados. (BRASIL, 2011). Órgãos como INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), ICH (International Conference on Harmonization), IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) e US-FDA (United States Food and Drug Administration) disponibilizam guias para a validação de métodos analíticos.

Os parâmetros estudados durante a validação podem variar de acordo com o tipo de ensaio. O documento do INMETRO, DOQ-CGCRE-008, classifica os ensaios como: qualitativo, determinação do componente (ou analito) em maior teor, análise de elementos menores e traços, e propriedades físicas. Ainda de acordo com este documento, para a análise de elementos menores e traços devem ser avaliados: precisão, seletividade, tendência/recuperação, robustez, sensibilidade/linearidade/faixa de trabalho, limite de detecção e limite de quantificação (BRASIL, 2010).

Exatidão é a proximidade entre o valor obtido através do método e um valor aceito como referência. Pode ser avaliada aplicando-se o método a uma amostra na qual o teor do analito de interesse seja conhecido (BRASIL, 2003; ICH, 2005).

Robustez é a medida da capacidade de um método em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos como pH, temperatura, tempo de extração, entre outros fatores. O teste de Youden permite determinar a robustez e também avaliar o efeito dos parâmetros analíticos no resultado das análises (BRASIL, 2010; BRASIL 2003).

A precisão avalia a dispersão dos resultados entre ensaios diferentes, sob condições definidas. É considerada em três níveis: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetibilidade expressa a precisão sob mesmas condições em um curto período de tempo. A precisão intermediária refere-se à precisão do método, em um mesmo laboratório, variando um ou mais

parâmetros como analista, dia, equipamentos... A reprodutibilidade expressa a precisão do método executado em diferentes laboratório. A precisão geralmente é expressa como variância, desvio padrão ou coeficiente de variação. (ICH; BRASIL, 2010; BRASIL, 2011).

Seletividade pode ser definida como a capacidade de um método de quantificar o analito de interesse na presença de outros analitos, matrizes ou outros materiais interferentes (AOAC INTERNATIONAL, 2002). Recomenda-se que a análise seja realizada em amostra contendo vários interferentes, avaliando o efeito destes na quantificação do analito de interesse. Outra forma de avaliar a seletividade seria comparar o resultado dos testes com o resultado obtido a partir de outro método bem caracterizado (BRASIL, 2003).

Linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (BRASIL, 2003). A avaliação da linearidade pode ser realizada através do cálculo do modelo, através de regressão linear, observando os resíduos e o coeficiente de correlação linear. A análise de variância (ANOVA) também permite avaliar se a regressão é significativa e se o modelo apresenta falta de ajuste.

A sensibilidade é dada pela inclinação da curva analítica. Em métodos sensíveis, uma pequena variação na concentração resulta em grande variação na resposta (BRASIL, 2003).

Limite de detecção (LD) é a menor quantidade de analito possível de ser detectada, porém não necessariamente quantificada. O limite de quantificação (LQ), por sua vez, é a menor quantidade de analito possível de ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis. (BRASIL, 2003).

2. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A fortificação de alimentos com ferro é considerada uma alternativa promissora para a redução da anemia e, assim, dos prejuízos causados por esta condição, como diminuição da capacidade de trabalho, comprometimento do

desenvolvimento mental e psicomotor das crianças, aumento da mortalidade materna e infantil e baixa resistência a infecções. A adição de ferro a alimentos, especialmente às farinhas, tem sido adotada com sucesso em muitos países.

Porém, a fortificação com ferro ainda representa um desafio, por conta das alterações que este metal pode causar nos produtos. Oxidação e mudanças na cor, textura e sabor dos alimentos são relatadas em diversos estudos. Além disso, alguns trabalhos questionam a contribuição da fortificação para a redução da anemia. O uso de formas pouco biodisponíveis, dificuldade de acesso aos alimentos e adição de baixa quantidade de ferro podem estar relacionados ao fracasso em reduzir a deficiência deste mineral.

Verificar o teor de ferro em alimentos fortificados é fundamental para assegurar o sucesso dos programas de fortificação. Entre as técnicas para a determinação de ferro em alimentos, a espectrometria de absorção atômica se destaca pela simplicidade e custo relativamente baixo.

A validação dos métodos analíticos é essencial para a obtenção de resultados confiáveis. Parâmetros como seletividade, precisão, exatidão, robustez, linearidade, limite de detecção e limite de quantificação devem ser avaliados, de modo a garantir a adequação do método ao uso proposto.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMA. Associação Brasileira das Indústrias de Massas Alimentícias, 2012. <http://www.abima.com.br>. Acessado em: 01/07/2012.

AKHTAR, S.; ANJUM, F. M.; REHMAN, S.; SHEIKH, M. A.; FARZANA, K. Effect of fortification on physico-chemical and microbiological stability of whole wheat flour. **Food Chemistry**, v. 110, p. 113-119, 2008.

AOAC INTERNATIONAL. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. AOAC International;

Gaithersburg, MD: 2002. Disponível em: <www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf>. Acessado em: 05/02/2013.

ARAÚJO, J. A.; **Química de alimentos: teoria e prática**, 3ª. ed., Ed. UFV: Viçosa, 2006.

ASSUNÇÃO, M. C. F.; SANTOS, I. S.; BARROS, A. J. D.; GIGANTE, D. P.; VICTORA, C. G. Efeito da fortificação de farinhas com ferro sobre anemia em pré-escolares, Pelotas, RS. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 4, p. 539-548, 2007.

ASSUNÇÃO, M. C.; SANTOS, I. S.; BARROS, A. J.; GIGANTE, D. P.; VICTORA, C. G. Flour fortification with iron has no impact on anaemia in urban Brazilian children. **Public health nutrition**, v. 15, n. 10, p. 1796-1801, 2012.

BEARD, J. L. Iron-Deficiency Anemia : Reexamining the Nature and Magnitude of the Public Health Problem. Iron Biology in Immune Function, Muscle Metabolism and Neuronal Functioning. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 2S-2, p. 568S-580S, 2001.

BENOIST, B. DE; MCLEAN, E.; EGLI, I.; COGSWELL, M. Worldwide prevalence of anaemia 1993 - 2005. **World Health Organization**, 2008. Disponível em: <whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf> Acessado em: 05/02/2013.

BOEN, T. R.; LIMA PALLONE, J. A. Folic Acid, Iron, and Zinc Contents in Chosen Food Products Prepared with Fortified Flours. **Cereal Chemistry**, v. 86, n. 6, p. 695-700, 2009.

BOEN, T. R.; SOEIRO, B. T.; PEREIRA-FILHO, E. R.; LIMA-PALLONE, J. A. Folic acid and iron evaluation in Brazilian enriched corn and wheat flours. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 1, p. 53-59, 2008.

BOEN, T. R.; SOEIRO, B. T.; RODRIGUES, E.; FILHO, P.; LIMA-PALLONE, J. A. Avaliação do teor de ferro e zinco e composição centesimal de farinhas de trigo e milho enriquecidas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 589-596, 2007.

BRABIN, B. J.; HAKIMI, M.; PELLETIER, D. Iron-Deficiency Anemia : Reexamining the Nature and Magnitude of the Public Health Problem. An Analysis of Anemia and Pregnancy-Related Maternal Mortality. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 2S-2, p. 604-615, 2001.

BRABIN, B. J.; PREMJI, Z.; VERHOEFF, F. Iron-Deficiency Anemia : Reexamining the Nature and Magnitude of the Public Health Problem. An Analysis of Anemia and Child Mortality. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 2S-2, p. 636-648, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. **Diário Oficial da União**, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher PNDS 2006 - Dimensões do Processo Reprodutivo e da Saúde da Criança**, 2009. Disponível em: <bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pnds_crianca_mulher.pdf>. Acessado em: 05/02/2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1793, de 11 de agosto de 2009. **Diário Oficial da União**, 2009.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Trends in Wheat-Flour Fortification with Folic Acid and Iron - Worldwide, 2004 and 2007. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)** 57(1):8–10, 2008. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5701a4.htm>>. Acessado em: 05/02/2013.

CUBADDA, F.; RAGGI, A.; MARCONI, E. Effects of processing on five selected metals in the durum wheat food chain. **Microchemical Journal**, v. 79, n. 1-2, p. 97-102, 2005.

DEAN, J. R.; MA, R. Atomic Absorption, Atomic Emission and Inductively Coupled Plasma Spectroscopies in Food Analysis. In: ÖTLEŞ, S. (Ed.). **Handbook of Food Analysis Instruments**. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC, 2008. .

DRUZIAN, J.I., CARVALHO, R.D., SILVA, L.T., SILVA, J.R., SOUZA, C.O., GALDINO, F.S.S., RIBEIRO, M.S. Teores de ácido fólico e ferro em flocos de milho enriquecidos comercializados em Salvador/BA **XLVI Congresso Brasileiro de Química**, 2006.

DYNER, L.; DRAGO, S. R.; PIÑEIRO, A. *et al.* Composición y aporte potencial de hierro , calcio y zinc de panes y fideos elaborados con harinas de trigo y amaranto. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 57, n. 1, 2007.

EKHOLM, P.; REINIVUO, H.; MATTILA, P. *et al.* Changes in the mineral and trace element contents of cereals, fruits and vegetables in Finland. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 6, p. 487-495, 2007.

FENNEMA, O. R. , **Food chemistry** (3rd ed.), Marcel Dekker, Inc, New York.1996

FLOUR FORTIFICATION INITIATIVE. **Global Progress**. Disponível em: <http://www.ffinetwork.org/global_progress/index.php> Acessado em 10/09/2012.

GALARIS, D.; MANTZARIS, M.; AMORGIANIOTIS, C. Oxidative stress and aging : the potential role of iron. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 7, n. 2, p. 114-122, 2008.

HAAS, J. D.; BROWNLIE IV, T. Iron-Deficiency Anemia : Reexamining the Nature and Magnitude of the Public Health Problem. **Iron Deficiency and Reduced Work**

Capacity : A Critical Review of the Research to Determine a Causal Relationship. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 2S-2, p. 676-690, 2001.

HUANG, X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 533, n. 1-2, p. 153-171, 2003.

HUMA, N.; REHMAN, S. U.; AWAN, J. A.; MURTAZA, M. A.; ARSHAD, M. U. Effect of packaging materials on the quality of iron-fortified wholemeal flour during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 31, p. 659-670, 2007.

HUNT, J. R. **Iron. Encyclopedia of Human Nutrition.**: Academic Press., p. 82-89, 2005.

HURRELL, R.; RANUM, P.; PEE, S. D. *et al.* Revised recommendations for iron fortification of wheat flour and an evaluation of the expected impact of current national wheat flour fortification programs. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 31, n. 1, p. 7-21, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Aquisição alimentar domiciliar *per capita*: Brasil e Grandes Regiões. **Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2008-2009**, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/default.shtm>. Acessado em: 05/02/2013.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE (ICH). **Guidelines on Validation of Analytical procedures: Text and Methodology Q2 (R1)**, step 4, 2005. Disponível em: <http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf>. Acessado em: 01/02/2013.

INTERNATIONAL PASTA ORGANIZATION. **Pasta Production**. Disponível em: <<http://www.internationalpasta.org/index.php?cat=22&item=122&lang=2>>.

Acessado em: 20/01/2013.

JAKSZYN, P.; AGUDO, A.; LUJAN-BARROSO, L. *et al.* Dietary intake of heme iron and risk of gastric cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition study. **International journal of cancer. Journal international du cancer**, v. 130, n. 11, p. 2654-63, 2012.

KONGKACHUICHA, R.; KOUNHAWAJ, A.; CHAVASIT, V.; CHAROENSIRI, R. Effects of various iron fortificants on sensory acceptability and shelf-life stability of instant noodles. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 28, n. 2, p. 165-171, 2007.

LOEF, M.; WALACH, H. Copper and iron in Alzheimer's disease: a systematic review and its dietary implications. **The British journal of nutrition**, v. 107, n. 1, p. 7-19, 2012.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9 ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.

MASCITELLI, L.; PEZZETTA, F.; GOLDSTEIN, M. R. Diabetes, cancer and iron. **Diabetologia**, v. 53, n. 9, p. 2071-2, 2010.

MENDES, F. Q.; GOMES, J. C.; BARBOSA, T. S.; SARTORI, M. A.; OLIVEIRA, M. G. DE A. Formulação de leite em pó enriquecido com ferro. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 93-100, 2008.

MOHAMMADI, M.; ABEDI, A.-S.; AZIZI, M. H.; AHMADIAN, F. S.; POURARAM, H. Development of fortified biscuit using NaFeEDTA. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 91, n. 11, p. 1984-9, 2011.

QUEIROZ, V. A. V.; GUIMARÃES, P. E. O.; QUEIROZ, L. R. *et al.* Iron and zinc availability in maize lines. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 577-583, 2011.

REHMAN, S. U.; ANJUM, S. A.; ANJUM, F. M. Storage Stability of Ferrous Iron in Whole Wheat Flour Naan Production. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 30, n. 3, p. 323-334, 2006.

ROSADO, J. L.; CASSÍS, L.; SOLANO, L.; DUARTE-VÁZQUEZ, M. A. Nutrient addition to corn masa flour: effect on corn flour stability, nutrient loss, and acceptability of fortified corn tortillas. **Food and nutrition bulletin**, v. 26, n. 3, p. 266-272, 2005.

SADIGHI, J.; SHEIKHOESLAM, R.; MOHAMMAD, K. *et al.* Flour fortification with iron : a mid-term evaluation. **Public Health**, v. 122, p. 313-321, 2008.

SOEIRO, B. T.; BOEN, T. R.; WAGNER, R.; LIMA-PALLONE, J. A. Physico-chemical quality and homogeneity of folic acid and iron in enriched flour using principal component analysis. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 60, n. S7, p. 164-176, 2009.

SOUZA FILHO, M. D. DE; DAMASCENO, C. V. X.; SZARFARC, S. C. *et al.* Fortificação das farinhas com ferro e controle da anemia em gestantes. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 5, p. 679-688, 2011.

VITALI, D.; VEDRINA DRAGOJEVIĆ, I.; ŠEBEČIĆ, B.; VUJIĆ, L. Impact of modifying tea-biscuit composition on phytate levels and iron content availability. **Food Chemistry**, v. 102, p. 82-89, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Iron Deficiency Anemia. Assessment, Prevention and Control. A guide for programme managers. **World Health**

Organization, 2001. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf> Acessado em: 05/02/2013.

Capítulo 2

DETERMINAÇÃO DE FERRO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA EM MASSAS E BOLOS ELABORADOS COM FARINHA DE TRIGO FORTIFICADA

Ana Alice Andrade Oliveira, Juliana Azevedo Lima Pallone

**Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de
Alimentos, UNICAMP, 13083-862, Campinas, SP, Brasil.**

RESUMO

A fortificação de farinhas com ferro é uma prática adotada em muitos países para combater a deficiência de ferro. No entanto, para garantir o sucesso dos programas de fortificação é importante monitorar o teor de ferro nos produtos fortificados. Este trabalho teve como objetivo validar uma metodologia para determinação de ferro por espectrometria de absorção atômica com chama e avaliar a concentração deste nutriente em amostras de macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massa de pizza, massa de pastel, massa pronta para lasanha e bolo de laranja, comercializados em supermercados da cidade de Campinas-SP. Para o macarrão massa seca foi avaliado ainda o efeito do cozimento no teor de ferro das amostras. As amostras, após mineralização, foram analisadas quanto ao teor de carbono residual por espectrometria de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) para avaliar a eficiência da digestão. O teor de carbono residual variou de 0,18% a 0,25%, mostrando que a mineralização foi eficiente. Ao avaliar a precisão do método, foi encontrado coeficiente de variação de 3,10% para o material de referência certificado, 4,58% para o macarrão, 1,08% para o macarrão instantâneo, 5,59% para massa de pizza, 11,21% para bolo de laranja, 4,00% para massa de pastel e 4,89% para massa pronta para lasanha. A recuperação variou de 95,1%, na massa de lasanha, a 108,7%, no bolo de laranja. O limite de detecção encontrado foi de 0,055 mg 100 g⁻¹ e o limite de quantificação foi de 0,15 mg 100 g⁻¹. Os resultados da determinação de ferro mostraram que, entre as marcas de macarrão, o teor médio de ferro foi de 5,0 mg 100 g⁻¹, variando de 2,5 a 7,1 mg 100 g⁻¹. Para o macarrão instantâneo, o teor médio de ferro foi de 4,3 mg 100 g⁻¹. A concentração variou de 2,4 a 5,5 mg 100 g⁻¹. Nas massas de pizza a concentração média de ferro foi 3,8 mg 100 g⁻¹. A menor concentração encontrada foi 2,0 mg 100 g⁻¹ e a maior foi de 5,5 mg 100 g⁻¹. Para a massa de pastel foram encontrados teores de ferro de 1,0 a 4,9 mg 100 g⁻¹, com média de 2,9 mg 100 g⁻¹. Entre as marcas de bolo, a concentração de ferro variou de 1,1 a 3,1 mg 100 g⁻¹, com média de 2,1 mg

100 g⁻¹. Nas massas de lasanha o teor médio de ferro foi de 2,9 mg 100 g⁻¹, variando de 0,7 a 4,7 mg 100 g⁻¹. A determinação de ferro após cozimento do macarrão mostrou que não houve perdas significativas neste processo, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança. Não existe legislação específica para o teor de ferro nesses alimentos, entretanto os dados obtidos são importantes para a estimativa da ingestão de ferro pela população.

1. INTRODUÇÃO

A fortificação de alimentos tem sido apontada como a forma mais segura, eficiente e de baixo custo para a redução da anemia em países onde o consumo de alimentos industrializados é significativo (HURRELL *et al.*, 2010). No Brasil, a Resolução nº344 publicada pela Anvisa (BRASIL, 2002) tornou obrigatória a fortificação de farinhas, estabelecendo que as farinhas de trigo e milho devem fornecer no mínimo 4,2 mg de ferro por 100 g de produto. Esta resolução determina ainda que a escolha do composto de ferro usado para fortificação é responsabilidade das indústrias, que devem garantir a estabilidade das farinhas dentro do prazo de validade. As empresas são responsáveis também por assegurar a biodisponibilidade do ferro adicionado.

Monitorar o teor de ferro nas farinhas e seus derivados é fundamental para garantir a ingestão adequada deste nutriente. Alguns estudos revelam que há variação entre os níveis de ferro nas farinhas comercializadas no Brasil (SOEIRO, 2010; BOEN, 2008; DRUZIAN, 2006; ASSUNÇÃO, 2007). Entre as técnicas utilizadas para determinação de ferro em alimentos, a espectrometria de absorção atômica com chama é a mais utilizada, devido ao custo relativamente baixo e simplicidade da técnica. No espectrômetro de absorção atômica com chama a amostra é convertida em aerossol no nebulizador e transportada até a chama, onde ocorre a atomização. Os átomos no estado fundamental absorvem radiação, em um comprimento de onda específico, e a quantidade de energia absorvida é proporcional à concentração do analito na amostra (SKOOG, 1998; CIENFUEGOS, 2000).

A mineralização representa uma etapa crítica na determinação de metais em alimentos. O preparo de amostras pode ser longo e sujeito a perdas e contaminação. A destruição da matéria orgânica pode ser executada por via úmida ou por via seca. A escolha da forma de preparo da amostra depende de fatores como complexidade e composição das amostras, risco de perdas por volatilização ou por insolubilidade, risco de contaminação, custo, tempo, número de amostras e possibilidade de automatização do procedimento (ALEGRÍA *et al*, 2004). A mineralização via úmida, com o uso de ácidos fortes, é forma mais utilizada, principalmente em alimentos. Ácido nítrico, sozinho ou misturado ao ácido perclórico ou ao ácido sulfúrico, é o mais empregado nesse processo. A adição de agentes oxidantes fortes como o peróxido de hidrogênio pode ser necessária (BIZIUK, M.; KUCZYNSKA, J., 2007).

O objetivo deste trabalho foi adequar e validar a metodologia para a determinação de ferro em macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massa para lasanha, massa de pizza, massa de pastel e bolo de laranja e estabelecer o teor de ferro nestes produtos, utilizando a técnica de Espectrometria de Absorção Atômica com chama.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Equipamentos

Foram utilizados balança analítica (modelo AP210-0, Ohaus), moinho (modelo A11, Ika), pipetas automáticas de volumes variáveis: 10 a 100 µl e 100 a 1000 µl (Digipet), banho ultra-sônico (modelo 1510, Branson), bloco digestor (modelo M242, Quimis), tubos de vidro com 25 cm de comprimento, 2 cm de diâmetro interno e 2 mm de espessura da parede. Foi utilizado um Espectrômetro de Absorção Atômica, modelo AAnalyst 200, com uma lâmpada de deutério para correção da radiação de fundo e lâmpada de catodo oco para determinação de ferro (Perkin Elmer).

2.2 Reagentes

Para a mineralização das amostras foram adquiridos ácido nítrico e peróxido de hidrogênio da marca Synth. Também foi utilizada solução padrão de ferro da marca Qhemis, com concentração de $1,000 \text{ mg g}^{-1}$.

2.3 Amostras

Os alimentos avaliados foram: macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massa fresca para lasanha, massa de pizza e massa de pastel e bolo de laranja industrializado. Para macarrão massa seca, macarrão instantâneo, bolo de laranja e massa de pastel foram avaliadas três diferentes marcas, em três lotes, de cada tipo de alimento em estudo. Para as massas de lasanha e de pizza, foram analisadas duas marcas, em três lotes, para cada tipo de produto. Ao todo, foram avaliadas quarenta e oito amostras de massas alimentícias e bolos. Os produtos foram adquiridos em hipermercados da cidade de Campinas, com o menor tempo de fabricação possível (no máximo 10 dias). Após abertura das embalagens, foram tomados 100 g de produto de forma aleatória, que foram moídos e homogeneizados.

2.4 Limpeza das vidrarias

Todas as vidrarias foram lavadas em banho de detergente (imersão por no mínimo 6 horas) e enxaguadas com água até total eliminação de espumas. As vidrarias foram imersas em banho de ácido nítrico 10% (v/v) por, no mínimo, 12 horas. Após esse tempo, as vidrarias foram enxaguadas com água purificada pelo sistema Milli-Q.

2.5 Mineralização das amostras

Pesou-se aproximadamente 0,60 g de amostra, moída e homogeneizada, em tubos de digestão com, aproximadamente, 20 cm de comprimento. A seguir, colocou-se os tubos em um bloco digestor e adicionou-se cerca de 8 mL de ácido

nítrico e 2 ml de peróxido de hidrogênio. Os tubos foram aquecidos por 2 horas a uma temperatura de 110°C. Após essa digestão, os tubos foram retirados do bloco e aguardou-se o resfriamento. Adicionou-se uma pequena quantidade de água (5 mL) aos tubos de digestão. Posicionou-se os tubos em um banho de ultrassom por alguns segundos. Transferiu-se o conteúdo dos tubos para balões volumétricos de 50 mL e completou-se o volume com água.

2.6 Validação da metodologia para determinação de ferro por FAAS

O método foi validado com base nas recomendações do INMETRO (BRASIL, 2010), da ANVISA (BRASIL, 2003), AOAC (2002) e Ministério da Agricultura (BRASIL, 2011). Segundo o INMETRO, para métodos analíticos destinados à determinação de elementos menores ou traços, os parâmetros de validação recomendados são: precisão, seletividade, recuperação, sensibilidade, linearidade, limite de detecção e quantificação.

Inicialmente, avaliou-se a linearidade e a sensibilidade do método. Foram construídas três curvas analíticas por padronização externa, em sete níveis de concentração. A linearidade foi avaliada através do coeficiente de correlação linear, dos resíduos e da análise de variância (ANOVA) da regressão. A sensibilidade foi determinada a partir do coeficiente angular da curva analítica.

O uso de material certificado de farinha de trigo (MRC NIST 1567a.) permitiu a avaliação da exatidão e da precisão do método. Foram analisadas por espectrometria de absorção atômica com chama amostras de MRC em sete replicatas e os valores obtidos foram comparados com o valor certificado pelo NIST. A precisão, em condições de repetitividade, foi observada através do coeficiente de variação (CV).

A recuperação do método foi avaliada adicionando-se solução de ferro, (obtida a partir da diluição da solução padrão em água) às amostras, em dois níveis de concentração: 50% e 100% da concentração inicial. Realizou-se a mineralização conforme item 2.5. O cálculo foi efetuado de acordo com a equação a seguir:

$$\text{Recuperação} = \frac{C_f - C_i}{C_a} \times 100 \quad (2.1)$$

Onde:

C_f = concentração obtida na amostra após a extração fortificada;

C_i = concentração obtida na amostra extraída sem fortificação;

C_a = concentração de padrão adicionada à amostra

A precisão também foi avaliada com a determinação de ferro de sete replicatas de cada produto, em condições de repetitividade. As análises foram repetidas em três dias diferentes, pelo mesmo analista e utilizando os mesmos equipamentos, para avaliar a precisão intermediária do método.

Para estimar os limites de detecção e quantificação do método, foi construída uma curva analítica em uma faixa de concentração próxima ao limite de detecção. Os cálculos foram efetuados de acordo com *Ribani et al.*(2004), a partir das seguintes fórmulas:

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad (2.2)$$

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad (2.3)$$

Onde s é o coeficiente linear da equação e S o coeficiente angular da curva analítica.

2.7 Determinação de ferro por FAAS

Foi utilizado o equipamento Espectrômetro de Absorção Atômica, modelo AAnalyst 200, com uma lâmpada de deutério para correção da radiação de fundo e lâmpada de catodo oco para determinação de ferro (248,3 nm), fabricado pela Perkin Elmer. As amostras, após sofrerem mineralização, foram introduzidas em

um nebulizador e misturadas a uma chama de ar ($2,5 \text{ L.h}^{-1}$) e acetileno (10 L.h^{-1}) com temperatura de aproximadamente 2000°C .

Foram construídas curvas de calibração para a obtenção de equações que correlacionam a absorbância medida com a concentração em mg.L^{-1} de ferro presente na amostra. As curvas consistiram de sete pontos mais o branco e as concentrações utilizadas foram 0,2; 0,6; 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6 mg.L^{-1} de ferro.

2.8 Determinação de carbono residual por ICP-OES

Com o objetivo de verificar a eficiência do processo de mineralização, foi realizada análise visual, observando ausência de turvação e precipitados, e a determinação do carbono residual na solução obtida. Para esta análise, as amostras foram encaminhadas ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), em Campinas. Para isso, foi utilizado um espectrômetro de emissão atômica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) modelo Optima 2000DV (Perkin Elmer), com vista axial, nebulizador cross flow, em comprimento de onda de 193,030 nm, utilizando o método descrito por Gouveia et al (2001) e uma curva padrão construída a partir de uma solução de glicose.

2.9 Avaliação do efeito do cozimento no teor de ferro presente em macarrão

Ferveu-se 500 mL de água e acrescentou-se 50 g de macarrão, conforme sugestão de preparo da embalagem. Após cozimento, durante cerca de oito minutos, escoou-se a água. Mediu-se o teor de umidade do macarrão cozido e do macarrão não cozido, através do método de secagem em estufa a 105° até peso constante, de acordo com a AOAC (2006). Determinou-se o teor de ferro nas amostras de acordo com o item 2.7 e comparou-se os valores em base seca.

2.10 Tratamento estatístico

Os valores de concentração de ferro obtidos foram comparados através da Análise de Variância (ANOVA) e do Teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança. Este teste permitiu verificar se havia diferença significativa entre os lotes de uma mesma marca e entre as marcas. Para isso, foi utilizado o software Statística 7.0 (Statsoft).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação de carbono residual por ICP-OES

A determinação do carbono residual em amostras de macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massa de pizza, massa de pastel, massa fresca para lasanha e bolo de laranja foi realizada em triplicata e os valores médios encontrados estão apresentados na Tabela 2.1:

Tabela 2.1: Teor de carbono residual nas amostras

Produto	Teor Médio de Carbono residual (%)	Desvio Padrão	CV(%)
Macarrão Massa Seca	0,252	0,024	9,5
Macarrão Instantâneo	0,231	0,022	9,6
Massa de Pizza	0,176	0,028	16,0
Massa de Pastel	0,198	0,007	3,6
Bolo de Laranja	0,243	0,042	17,4
Massa de Lasanha	0,213	0,024	11,5

CV(%): Coeficiente de variação

O baixo teor de carbono nas amostras revela que o processo de mineralização foi eficiente, destruindo a matéria orgânica e permitindo a análise das amostras por espectrometria de absorção atômica. Além disso, com a análise visual, foi possível observar o aspecto límpido das amostras após a mineralização.

3.2 Validação da metodologia para a determinação de ferro por FAAS

3.2.1 Avaliação da linearidade e sensibilidade

Foram construídas três curvas analíticas (Figura 2.1) para a obtenção da faixa linear de trabalho. As curvas consistiram de sete pontos mais o branco e as concentrações utilizadas foram 0,2; 0,6; 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6 mg.L⁻¹ de ferro. Os ensaios foram feitos em triplicata (Tabela 2.2). A faixa linear de trabalho de 0,2 a 2,6 mg L⁻¹ mostrou-se adequada uma vez que as amostras apresentam teor de ferro em torno de 0,8 mg.L⁻¹, após digestão e transferência para balões volumétricos de 50 mL.

Tabela 2.2: Curvas analíticas para determinação de ferro

Concentração (mg/L)	Absorbância			Média	Desvio Padrão	CV(%)
	1	2	3			
0,2	0,0117	0,0111	0,0116	0,0115	0,0003	2,8
0,6	0,0361	0,0349	0,0352	0,0354	0,0006	1,8
1	0,0578	0,0558	0,0577	0,0571	0,0011	2,0
1,4	0,0804	0,0778	0,0816	0,0799	0,0019	2,4
1,8	0,1012	0,101	0,1053	0,1025	0,0024	2,4
2,2	0,1234	0,1238	0,1239	0,1237	0,0003	0,2
2,6	0,1444	0,1436	0,1486	0,1455	0,0027	1,9

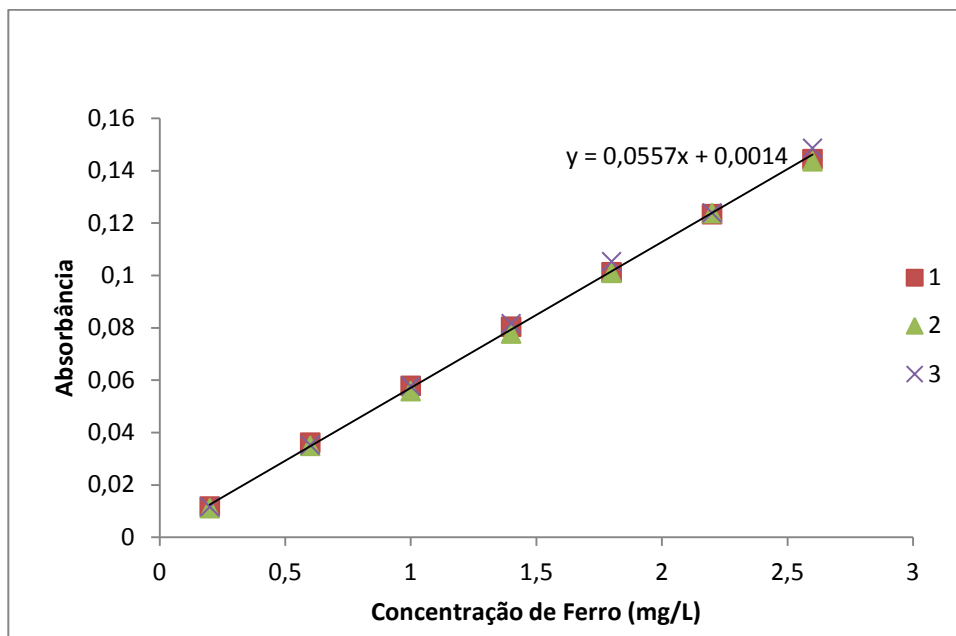


Figura 2.1: Curvas analíticas para determinação da faixa linear de trabalho e equação para quantificação do Ferro nas amostras.

Visualizando a Figura 2.2, observa-se que os resíduos plotados estão aleatoriamente distribuídos em torno do eixo x, o que indica homocedasticidade, mostrando que o método está livre de tendências. A partir da ANOVA da regressão (Tabela 2.3) constatou-se que a falta de ajuste não é significativa, já que a razão $MQ_{\text{falta de ajuste}}/MQ_{\text{erro puro}}=0,68$ é menor que o F tabelado ($F_{5,14}=2,96$). A razão $MQ_{\text{Regressão}}/MQ_{\text{erro puro}}$ é muito maior que o F tabelado ($F_{1,14} = 4,60$) mostrando que a regressão é significativa.

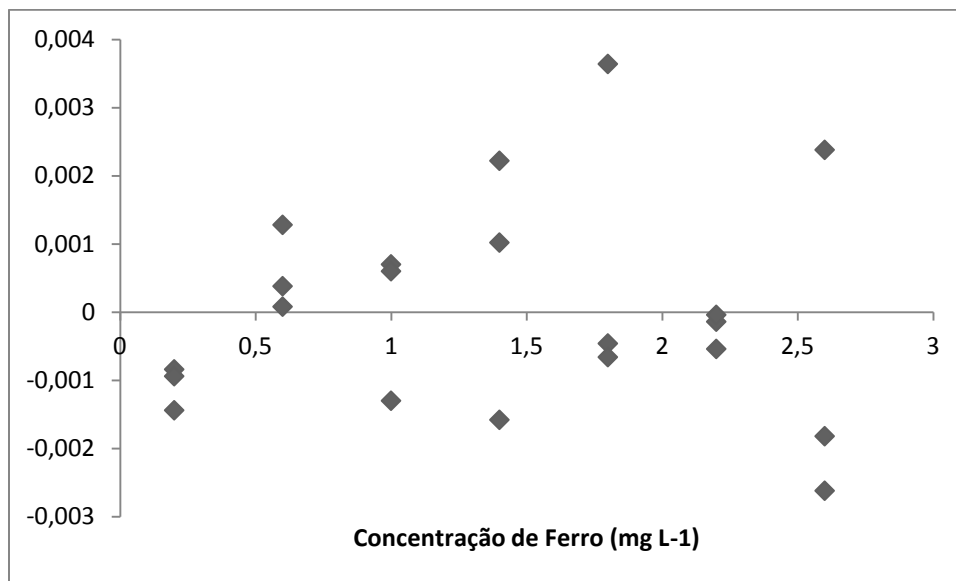


Figura 2.2: Gráfico dos resíduos

Tabela 2.3: ANOVA da regressão

Fonte	SQ	GL	MQ	F
Regressão	0,041746	1	0,041746	15618,34
Resíduos	0,000047	19	0,000002	
Falta de ajuste	0,000009	5	0,000002	0,68
Erro puro	0,000037	14	0,000003	
Total	0,041792	20		

3.2.2 Avaliação da exatidão e precisão com Material de Referência Certificado (MRC NIST 1567a)

Amostras de material certificado de farinha de trigo (MRC NIST 1567a.), com teor de ferro de $14,1 \pm 0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$, foram analisadas por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) de acordo com o procedimento descrito no item 2.7, em sete repetições independentes, a fim de verificar a repetitividade e a

exatidão do método analítico. Os valores medidos são apresentados na Tabela 2.4.

Tabela 2.4: Determinação de ferro em amostras de MRC por FAAS

	FAAS
	13,8
	13,7
	13,7
Teor de ferro total (µg/g)	13,4
	14,2
	14,1
	13,0
Média	13,7
Estimativa do desvio padrão (s)	0,4
Coefficiente de variação (%)	3,1

De acordo com o INMETRO (BRASIL, 2010), uma forma de avaliar a exatidão do método é o índice z, expresso a partir da seguinte expressão:

$$z = \frac{(X_{lab} - X_v)}{s} \quad (2.4)$$

X_{lab} = valor obtido experimentalmente ou média aritmética dos valores obtidos

X_v = valor aceito como verdadeiro (valor certificado do MRC)

A avaliação do índice z é feita com o seguinte critério de decisão:

$|z| \leq 2$: resultado satisfatório;

$2 < |z| < 3$: resultado questionável;

$|z| \geq 3$: resultado insatisfatório.

De acordo com o índice z ($z = 0,94$), o método apresenta exatidão adequada.

Não há critérios de aceitação para o CV de repetitividade no guia de validação do INMETRO. No entanto, existe uma recomendação no Guia de Validação da AOAC (AOAC INTERNATIONAL, 2002) de que, em condições de repetitividade, os valores aceitáveis para o coeficiente de variação situam-se entre 1/2 e 2 vezes o valor calculado a partir da fórmula:

$$CV_r = C^{-0.15} \quad (2.5)$$

Onde:

C: a fração de massa expressa como exponencial de 10 ($10 \mu\text{g/g}^{-1} = 10^{-5}$).

O valor obtido através da equação é 5,62%. Assim o coeficiente de variação deve estar entre 2,81% e 11,25%. Portanto, o coeficiente de variação de 3,10% mostrou que o método apresenta repetitividade adequada.

3.2.3 Avaliação da precisão da metodologia para determinação do teor de ferro

A precisão foi avaliada em condições de repetitividade e precisão intermediária. A Tabela 2.5 apresenta os valores da média, desvio padrão e coeficiente de variação obtidos a partir da determinação do teor de ferro em 7 replicatas independentes. Utilizou-se o método de mineralização descrito no item 2.5, com a adição de 8 mL de ácido nítrico e 2 mL de peróxido de hidrogênio.

Tabela 2.5: Avaliação da repetitividade para determinação de ferro nas amostras

Amostra	Concentração média (mg 100 g⁻¹)	Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)
Macarrão	6,5	0,30	4,6
Macarrão Instantâneo	4,4	0,05	1,1
Massa de pizza	3,3	0,18	5,6
Bolo de laranja	2,4	0,27	11,2
Massa de pastel	4,4	1,77	4,0
Massa para lasanha	4,0	0,20	4,9

O Guia de Validação da AOAC (AOAC INTERNATIONAL, 2002) estabelece que o coeficiente de variação (CV) intralaboratorial deve se situar entre a metade e duas vezes o valor calculado por intermédio da equação:

$$CV_r = C^{-0.15} \quad (2.6)$$

C: a fração de massa expressa como exponencial de 10 ($10 \mu\text{g/g}^{-1} = 10^{-5}$).

Isso significa que para este método os valores do CV não devem ultrapassar 11,25%. Com isso, os valores de CV apresentados demonstram que o método apresentou repetitividade adequada.

A precisão intermediária foi avaliada por análise de variância (ANOVA). Foi utilizada a ANOVA com 1 fator de classificação, ou seja, análise de variância que avalia a influência de apenas um fator, neste caso, os dias diferentes. Valores discrepantes foram verificados através do teste de Grubbs.

Tabela 2.6: Análise de variância para avaliação da precisão intermediária

Amostra	Fonte de variação	SQ	GL	SQM	F	Valor-P	F_{crítico}
Macarrão	Entre dias	0,148	2	0,074	1,05	0,370	3,55
	Mesmo dia	1,262	18	0,070			
	Total	1,410	20				
Macarrão Instantâneo	Entre dias	0,078	2	0,039	1,51	0,248	3,59
	Mesmo dia	0,436	17	0,026			
	Total	0,514	19				
Pizza	Entre dias	0,358	2	0,179	2,53	0,107	3,55
	Mesmo dia	1,274	18	0,071			
	Total	1,633	20				
Lasanha	Entre dias	0,147	2	0,073	2,20	0,140	3,55
	Mesmo dia	0,603	18	0,033			
	Total	0,750	20				
Pastel	Mesmo dia	0,580	2	0,290	1,24	0,314	3,55
	Entre dias	4,222	18	0,235			
	Total	4,802	20				
Bolo	Mesmo dia	1,144	2	0,572	2,03	0,160	3,55
	Entre dias	5,069	18	0,282			
	Total	6,213	20				

Uma vez que o valor de calculado de F é menor que o valor de F crítico, (Tabela 2.6) a análise de variância dos resultados da determinação de ferro nas amostras revelou que o fator de variação não é significativo na resposta, ou seja, a concentração determinada pelo método não variou entre os dias.

3.2.4 Avaliação da recuperação de ferro nas amostras

A recuperação foi avaliada adicionando-se padrão de ferro às amostras, em dois níveis: 50% e 100% do teor inicial de ferro. Prosseguiu-se com o método de digestão proposto no item 2.5. A recuperação foi calculada de acordo com a equação a seguir:

$$\text{Recuperação} = \frac{C_f - C_i}{C_a} \times 100 \quad (2.7)$$

Onde:

C_f = concentração obtida na amostra após a extração fortificada;

C_i = concentração obtida na amostra extraída sem fortificação;

C_a = concentração de padrão adicionada à amostra

Conforme apresentado na Tabela 2.7, a porcentagem de recuperação variou de 92,5% a 108,7%. De acordo o Guia para Validação de Métodos Analíticos do Ministério da Agricultura, para analitos presentes na faixa de concentração de $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $100 \mu\text{g kg}^{-1}$, a recuperação deve se situar entre 80% e 110%. Portanto, os valores encontrados mostram que o método apresenta recuperação adequada.

Tabela 2.7: Porcentagem de recuperação nas amostras

Produto	Concentração adicionada (mg L ⁻¹)	Concentração Inicial (mg L ⁻¹)	Concentração Final (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Macarrão	0,4	0,773	1,177	100,9
	0,8	0,773	1,575	100,2
Lasanha	0,24	0,498	0,732	95,1
	0,48	0,498	0,954	97,4
Pizza	0,24	0,566	0,806	100,0
	0,48	0,422	0,930	105,8
Macarrão Instantâneo	0,24	0,529	0,766	98,9
	0,48	0,529	1,012	100,7
Bolo	0,16	0,318	0,491	108,7
	0,32	0,318	0,614	92,5
Pastel	0,24	0,487	0,743	107,0
	0,48	0,487	0,988	104,3

3.3 Limites de detecção e quantificação

Para estimar os limites de detecção e quantificação do método, foi construída uma curva analítica (Figura 2.3) em uma faixa de concentração próxima ao limite de detecção: 0,008; 0,012; 0,016; 0,020; 0,024; 0,028; 0,032; 0,036 mg L⁻¹. A partir de regressão linear foi obtida a equação que relaciona concentração de ferro com absorbância.

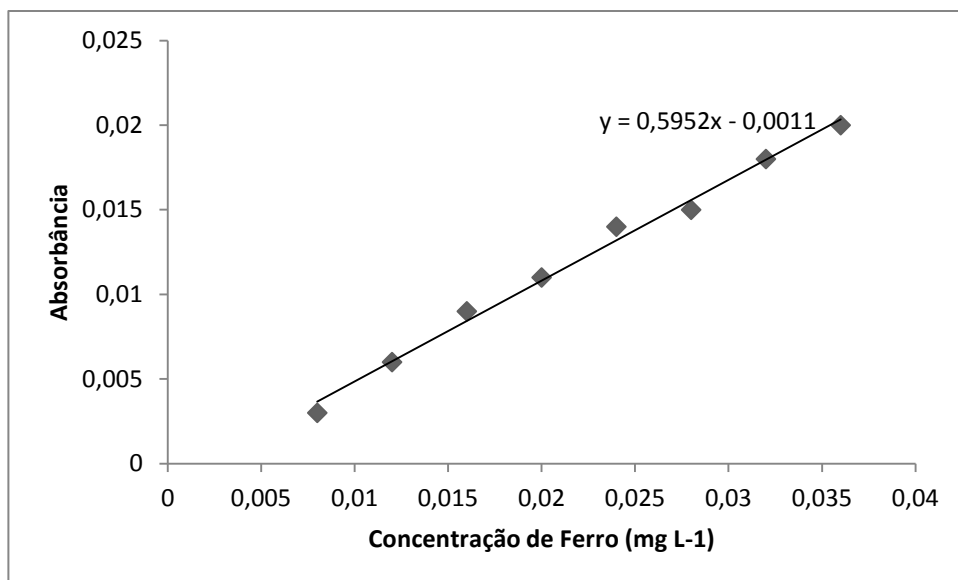


Figura 2.3: Curva analítica para determinação dos limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação do método foram calculados de acordo com *Ribani et al* (2004), a partir das seguintes fórmulas:

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad (2.8)$$

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad (2.9)$$

Onde s é o coeficiente linear da equação e S o coeficiente angular da curva analítica.

O limite de detecção calculado foi $0,006 \text{ mg L}^{-1}$ (equivalente a $0,055 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) e o limite de quantificação $0,018 \text{ mg L}^{-1}$ ($0,15 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Os limites de detecção e quantificação mostraram que o método é adequado para a aplicação em massas alimentícias e bolos elaborados com farinha de trigo fortificada com ferro, já que a concentração de ferro presente nestas amostras encontra-se em torno de $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ (após digestão e diluição em balões volumétricos de 50 mL).

3.4 Determinação de ferro

As amostras mineralizadas foram analisadas por espectrometria de absorção atômica com chama e os resultados estão apresentados na Tabela 2.8. O resultado do teste de Tukey entre os lotes está apresentado na Tabela 2.8. A Figura 2.4 mostra os valores médios da concentração de ferro e a comparação entre marcas, para cada produto.

Tabela 2.8: Teor de ferro em massas alimentícias e bolos.

Amostra	Marca	Lote	Faixa de concentração	Ferro (mg 100 g ⁻¹)			CV(%)
Macarrão	A	1	3,7 - 4,8	4,1	±	0,3	^c 7,3
		2	4,4 - 5,4	5,0	±	0,3	^b 6,6
		3	5,9 - 6,9	6,4	±	0,3	^a 5,0
	B	1	5,2 - 7,1	6,1	±	0,6	^a 10,1
		2	4,4 - 5,8	5,2	±	0,4	^b 8,0
		3	5,2 - 6,6	5,8	±	0,4	^{ab} 6,0
	C	1	5,3 - 6,3	5,7	±	0,3	^a 5,6
		2	3,5 - 5,1	4,3	±	0,5	^b 11,4
		3	2,5 - 3,1	2,8	±	0,2	^c 6,8
Macarrão instantâneo	A	1	2,4 - 3,0	2,7	±	0,2	^b 5,9
		2	3,6 - 4,3	4,0	±	0,2	^a 6,1
		3	3,5 - 5,3	4,1	±	0,4	^a 9,8
	B	1	4,1 - 5,1	4,5	±	0,3	^a 6,3
		2	4,0 - 4,9	4,5	±	0,3	^a 5,9

Amostra	Marca	Lote	Faixa de concentração	Ferro (mg 100 g ⁻¹)			CV(%)
Massa de pizza		3	3,9 - 5,2	4,6	±	0,4	^a 7,6
		1	4,0 - 5,1	4,6	±	0,4	^a 8,1
		2	4,1 - 5,3	4,9	±	0,3	^a 6,7
	C	3	4,2 - 5,5	4,8	±	0,4	^a 8,7
		1	2,0 - 2,5	2,3	±	0,2	^c 8,1
		2	2,6 - 3,9	3,4	±	0,4	^b 10,7
	A	3	3,3 - 4,4	3,9	±	0,3	^a 8,2
		1	3,1 - 5,5	4,2	±	0,7	^a 17,7
		2	4,1 - 5,1	4,7	±	0,3	^a 7,2
Massa de pastel	B	3	3,9 - 4,4	4,2	±	0,2	^a 4,2
		1	1,0 - 1,3	1,2	±	0,1	^b 8,4
		2	2,2 - 2,9	2,5	±	0,2	^a 9,1
	A	3	1,9 - 2,9	2,2	±	0,3	^a 11,2
		1	3,4 - 4,9	3,8	±	0,5	^a 13,2
		2	3,6 - 4,3	3,8	±	0,2	^a 5,6
	B	3	2,7 - 4,1	3,7	±	0,4	^a 10,7
		1	2,6 - 4,2	3,4	±	0,4	^a 12,4
		2	2,3 - 3,5	2,9	±	0,3	^b 10,8
	C	3	2,4 - 3,3	2,8	±	0,2	^b 7,5

Amostra	Marca	Lote	Faixa de concentração	Ferro (mg 100 g ⁻¹)				CV(%)
Bolo de laranja	A	1	2,3 - 3,1	2,7	±	0,3	ab	10,6
		2	2,6 - 3,1	2,9	±	0,1	a	4,5
		3	2,0 - 2,6	2,2	±	0,2	b	9,4
	B	1	1,5 - 2,2	1,9	±	0,2	a	11,0
		2	1,2 - 1,7	1,3	±	0,2	b	13,4
		3	1,1 - 2,1	1,6	±	0,3	ab	21,3
	C	1	1,9 - 2,4	2,1	±	0,2	a	7,3
		2	1,9 - 2,5	2,2	±	0,2	a	8,6
		3	1,5 - 2,5	2,1	±	0,3	a	13,1
Massa de lasanha	A	1	4,0 - 4,7	4,3	±	0,3	a	6,3
		2	3,8 - 5,1	4,4	±	0,4	a	9,7
		3	3,5 - 4,3	3,8	±	0,3	b	7,3
	B	1	3,7 - 4,5	4,0	±	0,2	a	6,2
		2	1,2 - 1,8	1,5	±	0,2	b	16,4
		3	0,7 - 1,1	0,9	±	0,1	c	14,8

* Valores expressos como média ± desvio padrão (n = número de amostras de pacotes diferentes). Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para os lotes de uma mesma marca, não diferem entre si pelo Teste de Tukey (95%).

n = 6: para massa de pastel B1.

n = 5: para macarrão massa seca e macarrão instantâneo, massa de pastel B2 e B3, bolo B1 e B3.

n = 4: para massa de pizza A2, A3, B1 e B2, massa de pastel A1, A3, C1 e C3, massa de lasanha B3, bolo A1, A2, A3 e B2.

n = 3: para massa de pizza A1 e B3, massa de pastel A2 e C2, massa de lasanha A1, A2, A3, B1 e B2 e bolo C1, C2 e C3.

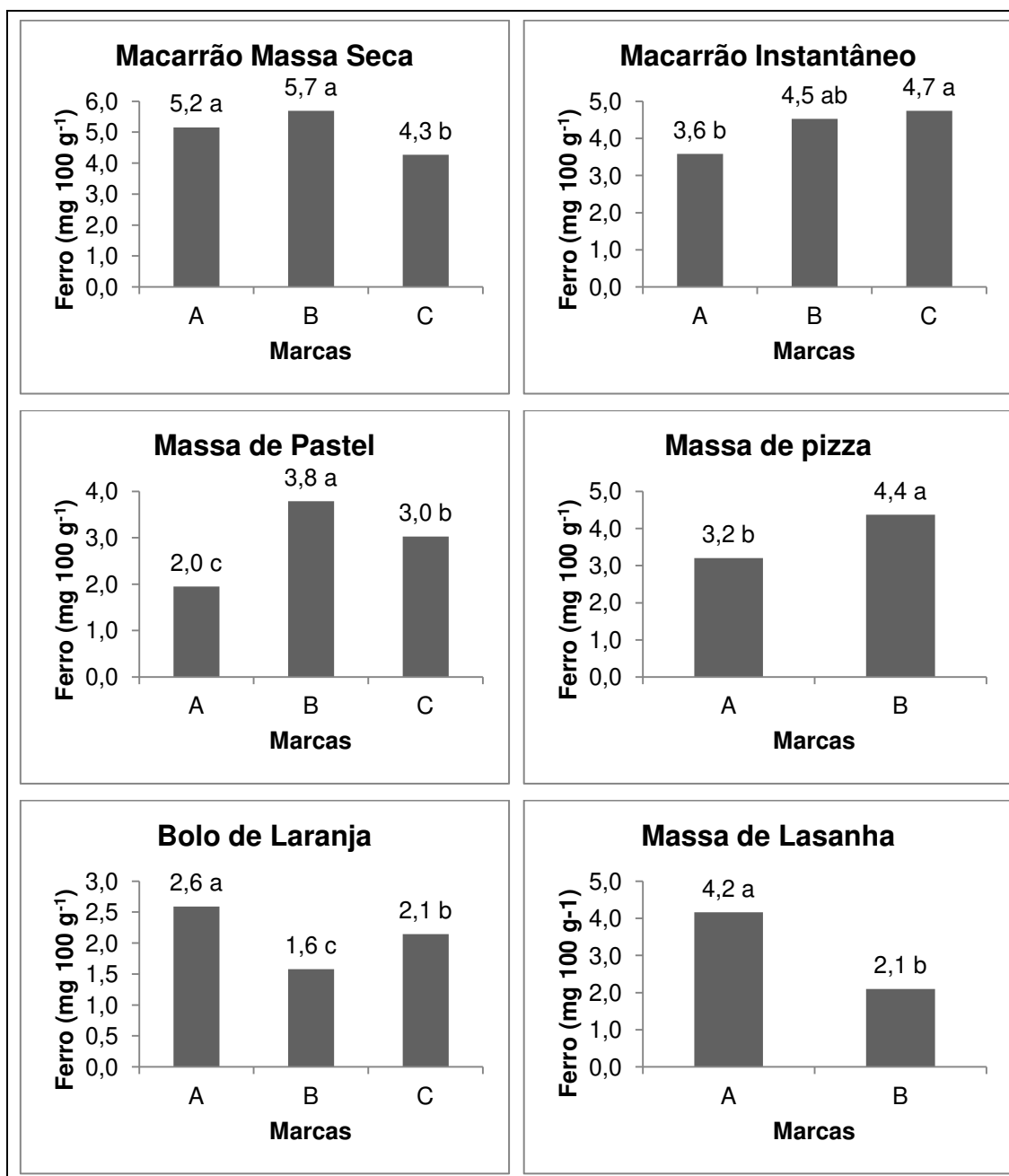


Figura 2.4: Teor médio de ferro. Médias seguidas pela mesma letra, para cada tipo de produto, não diferem entre si pelo Teste de Tukey (95%).

Entre as marcas de macarrão, o teor médio de ferro foi $5,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, variando de $2,5$ a $7,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Exceto o lote C3, que apresentou concentração de $2,8 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, as amostras apresentaram alto teor de ferro, compatível com o valor mínimo de $4,2 \text{ mg}$ de ferro por 100 gramas de farinha. Para as marcas A e C, os três lotes diferiram estatisticamente entre si. Para a marca B, o lote B1 diferiu do lote B2. Ao comparar as três marcas de macarrão, observou-se a marca C difere das demais.

Para o macarrão instantâneo, o teor médio de ferro foi de $4,3 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. A concentração variou de $2,4$ a $5,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. O lote A1 apresentou menor teor de ferro entre todos os lotes, $2,7 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, diferindo dos lotes A2 e A3. Entre os lotes B e C, os lotes de mesma marca não diferiram entre si. Comparando as três marcas, a marca A diferiu das demais.

Nas massas de pizza a concentração média de ferro foi $3,8 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. A menor concentração encontrada foi $2,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ e a maior foi de $5,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Os três lotes da marca A diferiram entre si. Entre os lotes da marca B não houve diferença significativa. As marcas A e B são estatisticamente diferentes.

Para a massa de pastel foram encontrados teores de ferro de $1,0$ a $4,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, com média de $2,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Para a marca A, o lote A1 diferiu dos lotes A2 e A3. Não houve diferença significativa entre os três lotes da marca B. Entre os lotes da marca C, o lote C1 diferiu dos lotes C2 e C3. A comparação entre marcas mostrou que as três diferem estatisticamente entre si. Considerando que a farinha de trigo corresponde a cerca de 70% da formulação da massa de pastel, alguns lotes, em especial o lote A1, apresentam em sua formulação farinhas com teor de ferro abaixo do valor determinado pela legislação. Vale ressaltar, que a resolução nº 344, que tornou obrigatória a fortificação das farinhas, permite que o fabricante utilize farinha não fortificada na formulação dos produtos, caso o ferro cause interferências. No entanto, a empresa deve manter a disposição do órgão de Vigilância Sanitária, os estudos que comprovem essa interferência.

Entre as marcas de bolo, a concentração de ferro variou de $1,1$ a $3,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, com média de $2,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Entre os lotes da marca A, os lotes A2 e A3

diferiram entre si. Para a marca B, os lotes B1 e B2 diferiram entre si. Não houve diferença significativa entre os lotes da marca C. Comparando as marcas, as três diferem entre si. Concentrações mais baixas de ferro são esperadas neste produto, uma vez que a formulação do bolo inclui maior quantidade de açúcar e gordura. Neste alimento a farinha de trigo constitui cerca de 30% da formulação, enquanto nas demais amostras a farinha de trigo representa mais de 70% da formulação.

Nas massas de lasanha o teor médio de ferro foi de 2,9 mg 100 g⁻¹, variando de 0,7 a 4,7 mg 100 g⁻¹. O lote A3 diferiu dos lotes A1 e A2. Os três lotes da marca B diferiram entre si. Os lotes B2 e B3 se destacaram pelo baixo teor de ferro. As marcas A e B diferiram estatisticamente entre si.

Em geral, as amostras apresentaram teores altos de ferro. Estes resultados conferem com o teor de ferro encontrado em farinhas por alguns autores (SOEIRO *et al.*, 2010; BOEN *et al.*, 2007 e 2008). De acordo com as informações coletadas por Latorre e Colli (2008), a superdosagem de ferro em farinhas é uma prática comum nos moinhos, com o objetivo de contornar alguns problemas na adição do ferro. Por exemplo, a maioria dos moinhos adiciona ferro através de dosadores, regulados através do fluxo de farinha. Variações no fluxo ocasionam variações no teor de ferro. Além disso, a diferença de densidade entre a farinha e o ferro causa segregação e, conseqüentemente, interfere na concentração do ferro. Conforme as Boas Práticas de Fabricação, são utilizados ímãs para a remoção de sujidades, que também podem contribuir para a variação da concentração de ferro no produto. Alguns moinhos relatam ainda dificuldade em monitorar o teor de ferro nas farinhas (BRASIL, 2011).

Com base na concentração média encontrada para cada tipo de produto, foi calculada a quantidade de ferro ingerida por porção, apresentada na Tabela 2.9. Esta tabela também relaciona a massa de ferro ingerida com a IDR (Ingestão Diária Recomendada) para um adulto, que é igual a 14 mg, de acordo com o “Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais” (BRASIL, 2004). Dessa forma, uma porção de 80 g de

macarrão equivale a 28,8% das necessidades diárias de um adulto, enquanto para o macarrão instantâneo, lasanha, pastel, pizza e bolo a quantidade de ferro por porção equivale a 24,5%, 16,6%, 6,3%, 10,9% e 8,8% da IDR, respectivamente.

Tabela 2.9: Massa de ferro por porção e porcentagem da Ingestão Diária Recomendada.

	Porção (g)	Teor de Ferro (mg 100g ⁻¹)	mg de Fe por porção	%IDR*
Macarrão	80	5,0	4,0	28,8
Macarrão Instantâneo	80	4,3	3,4	24,5
Massa de Lasanha	80	2,9	2,3	16,6
Massa de Pastel	30	2,9	0,9	6,3
Massa de Pizza	40	3,8	1,5	10,9
Bolo	60	2,1	1,2	8,8

*Porcentagem da Ingestão Diária Recomendada para um adulto (14 mg)

Embora as porções de massas e bolos contenham alto teor de ferro, seu consumo ainda é reduzido, especialmente para famílias de baixa renda (Tabela 2.10). Em média, o brasileiro consome 0,66 mg de ferro oriundos de massas e bolos, o que representa 4,7% da IDR para um adulto. Um estudo realizado em Pelotas, com o objetivo de avaliar o impacto da fortificação de farinhas sobre o estado nutricional de pré-escolares, revelou que não houve diferença significativa entre os níveis de hemoglobina. Concluiu-se que o baixo consumo das farinhas e a baixa biodisponibilidade do ferro adicionado são as principais causas da falta de efetividade da fortificação (ASSUNÇÃO *et al.*, 2007).

A RDC Nº 344 cita os compostos de ferro que podem ser utilizados na fortificação, permitindo que as empresas escolham o composto que será adicionado às farinhas. No entanto, estas formas de ferro possuem biodisponibilidade muito diferente entre si. De acordo com Latorre e Colli (2008), a

forma de ferro mais comum na fortificação de farinhas no Brasil é o ferro reduzido, mais barato, muito estável e de baixa biodisponibilidade. Alguns autores afirmam que o uso do ferro reduzido, assim como outras formas de ferro com menor biodisponibilidade, deve ser reavaliado. (HURRELL *et al.*, 2010; HERTRAMPF, 2002).

Tabela 2.10: Consumo de massas e bolos para todas as classes de renda, para famílias com renda até R\$830 e famílias com renda acima de R\$6225.

Produto	Renda familiar					
	Todas as classes		Até R\$ 830		Acima de R\$ 6225	
	Consumo*	mg Fe dia ⁻¹	Consumo	mg Fe dia ⁻¹	Consumo	mg Fe dia ⁻¹
Macarrão	4,14	0,57	3,98	0,55	4,52	0,62
Massa de Lasanha	0,15	0,01	0,02	0,00	0,39	0,03
Massa de Pastel	0,14	0,01	0,06	0,00	0,24	0,02
Massa de Pizza	0,18	0,02	0,04	0,00	0,59	0,06
Bolo	0,89	0,05	0,43	0,02	2,28	0,13
Total	5,50	0,66	4,53	0,58	8,03	0,87

* Consumo em kg pessoa⁻¹ ano⁻¹.

Fonte: IBGE, POF 2008 – 2009 .

3.5 Avaliação do efeito do cozimento no teor de ferro em macarrão

Foi avaliado o teor de ferro nas três marcas de macarrão, antes e após o cozimento. A concentração de ferro em massa seca está apresentada na Tabela 2.11.

Tabela 2.11: Teor de ferro do macarrão antes e após cozimento.

Marca	Antes do cozimento			Após cozimento		
	Teor de Fe médio	DP*		Teor de Fe médio	DP	
A	4,5	0,2	a	4,6	0,4	a
B	7,2	0,3	a	7,6	0,2	a
C	6,4	0,2	a	6,4	0,4	a

*DP: desvio padrão

**Valores seguidos pela mesma letra, em uma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (95%).

Aplicando o teste de Tukey (95% de confiança), observou-se que não houve diferença significativa entre o teor de ferro no macarrão após o cozimento. O mesmo comportamento foi observado em outros trabalhos. Em um estudo realizado com macarrão com farelo de trigo sarraceno, que avaliou o efeito do processamento no teor de minerais e de proteína, também verificou que o teor de ferro não foi afetado pelo cozimento (MANTHEY; HALL III, 2007). Ao avaliar massa alimentícias fortificadas com ferro, a porcentagem de retenção do ferro foi de 86 a 94%.(RANHOTRA *et al.*, 1985). Outro trabalho mostrou que a retenção do ferro durante o cozimento do macarrão foi de cerca de 70% (YASEEN, 1993).

4. CONCLUSÃO

O teor de carbono residual revelou que o processo de mineralização por via úmida foi eficiente, eliminando matéria orgânica e permitindo a análises das amostras por FAAS. O método para determinação de ferro apresentou precisão, exatidão, linearidade e limites de quantificação e detecção adequados para aplicação em massas alimentícias e bolos.

As análises mostraram que há variação do teor de ferro entre as marcas e também entre lotes de mesma marca. A maioria dos produtos apresentou alta concentração de ferro, confirmando a superdosagem de ferro em farinhas,

afirmada por alguns autores. Observou-se que o cozimento não interfere no teor de ferro do macarrão. Estes resultados são importantes para a estimativa do consumo de ferro pela população. No entanto, o sucesso dos programas de fortificação de farinhas depende, não só da produção de alimentos com níveis adequados de ferro, como também do acesso a esses produtos pela população e da adição de compostos de ferro com alta biodisponibilidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEGRÍA, A.; BARBERÁ, R.; FARRÉ, R.; LAGARDA, M. J. Inorganic Nutrients. In: L. M. L. Nollet and F. Toldrá (eds). **Handbook of Food Analysis**, 2nd Ed. Vol.1. New York: Marcel Dekker Inc, 2004.

AOAC INTERNATIONAL. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. **AOAC International**; Gaithersburg, MD: 2002.

AOAC INTERNATIONAL. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC)/ William Howitz, editor. Gaithersburg, 2006. 18th Ed.

ARGYRI, K.; BIRBA, A.; MILLER, D. D.; KOMAITIS, M; KAPSOKEFALOU, M. Predicting relative concentrations of bioavailable iron in foods using in vitro digestion : New developments. **Food Chemistry**, v. 113, n. 2, p. 602-607, 2009.

ASSUNÇÃO, M. C. F.; SANTOS, I. S.; BARROS, A. J. D.; GIGANTE, D. P.; VICTORA, C. G. Efeito da fortificação de farinhas com ferro sobre anemia em pré-escolares, Pelotas, RS. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 4, p. 539-48, 2007.

BENOIST, B. DE; MCLEAN, E.; EGLI, I.; COGSWELL, M. Worldwide prevalence of anaemia 1993 - 2005. **World Health Organization**, 2008. Disponível em: <whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf> Acessado em: 05/02/2013.

BIZIUK, M.; KUCZYNSKA, J. Mineral Components in Food — Analytical Implications . In: JEROME O. NRIAGU, P. S. (Ed.). **Mineral Components in Food**. : Taylor & Francis Group, LLC, p. 1-31, 2007.

BOEN, THAÍS REZENDE; LIMA PALLONE, J. A. Folic Acid, Iron, and Zinc Contents in Chosen Food Products Prepared with Fortified Flours. **Cereal Chemistry**, v. 86, n. 6, p. 695-700, 2009.

BOEN, THAÍS REZENDE; SOEIRO, BRUNO THIAGO; PEREIRA-FILHO, E. R.; LIMA-PALLONE, J. A. Folic acid and iron evaluation in Brazilian enriched corn and wheat flours. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 1, p. 53-59, 2008.

BOEN, THAÍS REZENDE; SOEIRO, BRUNO THIAGO; RODRIGUES, E.; FILHO, P.; LIMA-PALLONE, J. A. Avaliação do teor de ferro e zinco e composição centesimal de farinhas de trigo e milho enriquecidas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 589-596, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RE nº 899, de 29 de maior de 2003. **Diário Oficial da União**, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC Nº. 269, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005. **Diário Oficial da União**, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. **Diário Oficial da União**, 2002.

BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008**, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Guia de validação e controle de qualidade analítica: fármacos em produtos para alimentação e medicamentos veterinários Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, 2011.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher PNDS 2006 - Dimensões do Processo Reprodutivo e da Saúde da Criança**, 2009. Disponível em: <bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pnds_crianca_mulher.pdf>. Acessado em: 05/02/2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. II Reunião Ordinária da Comissão Interinstitucional para Implementação, Acompanhamento e Monitoramento das Ações de Fortificação de Farinhas de Trigo, Milho e de seus subprodutos. Brasília, 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Trends in Wheat-Flour Fortification with Folic Acid and Iron - Worldwide, 2004 and 2007. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)** 57(1):8–10, 2008. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5701a4.htm>>. Acessado em: 05/02/2013.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN. D. V. **Análise instrumental**. Interciência, 2000.

COCATO, M. L.; RÉ, M. I. Avaliação por métodos in vitro e in vivo da biodisponibilidade de sulfato ferroso microencapsulado In vitro and in vivo evaluation of iron bioavailability from microencapsulated ferrous sulfate. **Revista de Nutrição**, v. 20, n. 3, p. 239-247, 2007.

DRUZIAN, J.I., CARVALHO, R.D., SILVA, L.T., SILVA, J.R., SOUZA, C.O., GALDINO, F.S.S., RIBEIRO, M.S. Teores de ácido fólico e ferro em flocos de milho enriquecidos comercializados em Salvador/BA **XLVI Congresso Brasileiro de Química**, 2006.

FLOUR FORTIFICATION INITIATIVE. **Global Progress**. Disponível em:
<http://www.ffinetwork.org/global_progress/index.php> Acessado em 10/09/2012.

GOUVEIA, S. T.; SILVA, F. V.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Determination of residual carbon by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry with axial and radial view configurations. **Analytica Chimica Acta**, v. 445, n. 2, p.269-275, 2001.

HARO-VICENTE, J. F.; MARTÍNEZ-GRACIÁ, C.; ROS, G. Optimisation of in vitro measurement of available iron from different fortificants in citric fruit juices. **Food Chemistry**, v. 98, n. 4, p. 639-648, 2006.

HERTRAMPF, E. Iron Fortification in the Americas. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 7, p. 22-25, 2002.

HUR, S. J.; LIM, B. O.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. In vitro human digestion models for food applications. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, p. 1-12, 2010.

HURRELL, R.; RANUM, P.; PEE, S. D. *et al.* Revised recommendations for iron fortification of wheat flour and an evaluation of the expected impact of current national wheat flour fortification programs. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 31, n. 1, p. 7-21, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Aquisição alimentar domiciliar *per capita*: Brasil e Grandes Regiões. **Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF 2008-2009**, 2010. Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_aquisicao/default.shtm>. Acessado em: 05/02/2013.

KAPSOKEFALOU, M.; ALEXANDROPOULOU, I.; KOMAITIS, M.; POLITIS, I. In vitro evaluation of iron solubility and dialyzability of various iron fortificants and of

iron-fortified milk products targeted for infants and toddlers. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 4, p. 293-302, 2005.

LATORRE, W. C.; COLLI, C. Brazilian milling industry views on law requiring iron fortification of wheat flour. **Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition**, v. 33, n. 3, p. 1-15, 2008.

LESTIENNE, I.; BESANÇON, P.; CAPORICCIO, B.; LULLIEN-PÉLLERIN, V.; SERGE TRÉCHE. Iron and Zinc in Vitro Availability in Pearl Millet Flours (*Pennisetum glaucum*) with Varying Phytate , Tannin , and Fiber Contents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3240-3247, 2005.

MANTHEY, F. A.; HALL III, C. A. Effect of processing and cooking on the content of minerals and protein in pasta containing buckwheat bran flour. **Journal of the science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 2026-2033, 2007.

RANHOTRA, G. S.; GELROTH, J. A.; NOVAK, F. A.; BOCK, M. A.; MATTHEWS, R. H. Retention of Selected Minerals in Enriched Pasta Products During Cooking. **Cereal Chemistry**, v. 62, n. 2, p. 117-119, 1985.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, ISABEL CRISTINA SALES FONTES MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SAUERBRONN, A. L. A. **Análise laboratorial da composição de alimentos processados como contribuição ao estudo da rotulagem nutricional obrigatória de alimentos e bebidas embalados no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária de Produto) - Fundação Oswaldo Cruz, 2003.

SKOOG, D.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª ed., Bookman, 2002.

SOEIRO, BRUNO T; BOEN, THAÍS R; WAGNER, R.; LIMA-PALLONE, J. A. Physico-chemical quality and homogeneity of folic acid and iron in enriched flour using principal component analysis. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60 Suppl 7, p. 164-176, 2009.

YASEEN, A. A. E. Effect of processing conditions and cooking on retention of minerals in macaroni. **Food / Nahrung**, v. 37, n. 5, p. 449-455, 1993.

Capítulo 3

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE MASSAS E BOLOS ELABORADOS COM FARINHA DE TRIGO FORTIFICADA COM FERRO

Ana Alice Andrade Oliveira, Juliana Azevedo Lima Pallone

**Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de
Alimentos, UNICAMP, 13083-862, Campinas, SP, Brasil.**

RESUMO

Embora a fortificação seja considerada uma alternativa eficiente e de baixo custo no combate à deficiência de nutrientes, alguns estudos revelam que a adição de ferro pode comprometer a qualidade físico-química dos produtos. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar o teor de ferro, teor de umidade, acidez álcool solúvel e índice de peróxido em massas e bolos elaborados com farinha de trigo fortificada com ferro. Para o macarrão massa seca o teor de umidade variou de 9,5% e 12,3%. No macarrão instantâneo verificou-se ligeiro aumento no teor de umidade, que variou de 3,3% a 7,1% nas amostras. Na massa de pizza observou-se teor de umidade entre 19,5% e 29,6%. Para a massa de pastel, as amostras apresentaram umidade na faixa de 25,7% a 31,3%. Nas amostras de massa de lasanha verificou-se teor de umidade entre 26,6% e 33,1%. Para o bolo de laranja, a umidade variou de 16,3% a 26,5%. Nas amostras de macarrão massa seca a acidez variou de 1,4 a 3,2 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹ de amostra. Para o macarrão instantâneo a acidez oscilou entre 0,3 e 1,0 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. As amostras de massa de pizza apresentaram acidez entre 2,9 e 4,6 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. Para a massa de pastel, verificou-se acidez entre 0,9 e 6,6 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. Na massa de lasanha a acidez variou entre 1,7 e 3,7 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. No bolo de laranja a acidez variou entre 1,3 e 2,5 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. Não foram detectados peróxidos no bolo de laranja. Nas amostras de macarrão instantâneo o índice de peróxido variou, em média, de 5,9 mEq kg⁻¹ de gordura a 8,4 mEq kg⁻¹ de gordura. Entre as amostras de macarrão, o teor médio de ferro foi 5,0 mg 100 g⁻¹. Para o macarrão instantâneo, o teor médio de ferro foi de 4,3 mg 100 g⁻¹. Nas massas de pizza a concentração média de ferro foi 3,8 mg 100 g⁻¹. Para a massa de pastel o teor médio de ferro foi 2,9 mg 100 g⁻¹. Entre as marcas de bolo a média foi de 2,1 mg 100 g⁻¹. Nas massas de lasanha o teor médio de ferro foi de 2,9 mg 100 g⁻¹. Os resultados revelam que as amostras apresentam qualidade físico-química adequada.

1. INTRODUÇÃO

A fortificação de alimentos é considerada uma estratégia eficiente no controle da deficiência de micronutrientes. Contudo, alguns trabalhos demonstram que a fortificação com ferro pode comprometer a qualidade dos produtos, conferindo sabor metálico, alterando a cor dos alimentos, provocando precipitação de proteínas e, principalmente, promovendo reações de oxidação (CHAVASIT *et al.*, 2003; HURRELL, 2002; KHOSHGOFTARMANESH *et al.*, 2008; MARTÍNEZ-NAVARRETE *et al.*, 2002; RICHINS *et al.*, 2008). Portanto, é fundamental monitorar a qualidade dos produtos fortificados, garantindo a segurança e a aceitação destes alimentos pelo consumidor.

A oxidação de lipídeos é uma das principais causas de deterioração de alimentos. A partir de reações oxidativas, podem ser produzidos compostos voláteis como aldeídos, cetonas, ácidos e outros produtos de degradação, causadores de *off flavor*. Estas reações podem ser originadas ou aceleradas na presença de pró-oxidantes, como oxigênio singlete, lipoxigenase, radiações ionizantes, metais de transição, luz e temperatura elevadas (FENNEMA, 2000).

Farinhas fortificadas com ferro têm sido utilizadas na formulação de pães, biscoitos, bolos e massas, entre outros produtos. Dentre as massas alimentícias, o macarrão instantâneo, caracterizado pelo baixo teor de umidade e alta concentração de gordura, tem a vida de prateleira limitada a 5 – 6 meses, em razão do risco de oxidação de lipídeos. Aproximadamente 25% dos ácidos graxos poliinsaturados têm origem na farinha de trigo. Mesmo em macarrões instantâneos fritos em gordura totalmente saturada, a rancidez oxidativa limita a vida de prateleira destes produtos (RHO *et al.*, 1986). No Japão, em 1964 e 1965, ocorreram casos de intoxicação alimentar provocados pela degradação de óleos e gorduras em macarrão instantâneo. Muitas pessoas desenvolveram sintomas como diarreia, náusea, vômito, dor abdominal, fadiga e dor de cabeça. Após estes incidentes, foi estabelecido no Japão o teor máximo de 30 mEq.kg⁻¹ de macarrão instantâneo. Estudos com animais revelam que a concentração de 100 mEq.kg⁻¹ tem efeitos neurotóxicos (GOTOH; WADA, 2006). No Brasil, A RDC nº 93, de 31

de outubro de 2000, estabelecia que o valor máximo para índice de peróxido em massa alimentícia instantânea ou pré-cozida desidratada por fritura era de 30,0 mEq.kg⁻¹ de massa livre de recheio. Porém, esta resolução foi revogada pela RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, que não estabelece um limite para o índice de peróxido.

Além da oxidação de lipídeos, parâmetros como umidade e acidez contribuem para o monitoramento da qualidade dos alimentos. O teor de umidade é um fator crítico para a manutenção da qualidade. Crescimento de microrganismos, produção de toxinas, alterações na consistência e velocidade das reações químicas e enzimáticas estão diretamente relacionados à presença de água nos alimentos (BOBBIO, BOBBIO, 2001).

A acidez representa um dado importante para a avaliação do estado de conservação de um alimento. Processos de decomposição por hidrólise, oxidação ou fermentação, geralmente alteram a acidez dos produtos (IAL, 2008). No caso do macarrão, alterações na acidez podem revelar problemas, por exemplo, no processo de secagem. O desenvolvimento microbiológico decorrente de produtos com umidade elevada pode levar ao aumento da acidez (HUMMEL, 1966).

Alguns trabalhos relacionam a adição de ferro à qualidade físico-química dos alimentos. Em um estudo foi avaliado o efeito de diferentes formas de ferro, FeNaEDTA, fumarato ferroso, pirofosfato férrico e uma forma micronizada e encapsulada de pirofosfato férrico, na estabilidade oxidativa e nas propriedades físicas e sensoriais de um extrusado de arroz. Os testes foram conduzidos sob condições de estabilidade acelerada, a 40 °C e 60% de umidade relativa. Formulações contendo NaFeEDTA desenvolveram rancidez após 32 semanas. Mendes *et al* verificaram que a adição de ferro aminoácido quelato a leite em pó conferiu maior estabilidade que a fortificação do mesmo produto com sulfato ferroso (MENDES *et al*, 2008). Tortillas fortificadas com zinco, ferro e vitaminas do complexo B foram avaliadas quanto a características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas. Concluiu-se que não houve alteração do tempo de vida de prateleira e das características sensoriais (ROSADO, 2005)

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade das massas alimentícias e bolos elaborados com farinha fortificada, disponíveis no mercado. Para isso, foram monitorados os seguintes atributos: concentração de ferro, teor de umidade, acidez álcool solúvel e índice de peróxido.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Equipamentos

Foram utilizados balança analítica (modelo AP210-0, Ohaus), moinho (modelo A11, Ika), pipetas automáticas de volumes variáveis: 10 a 100 µl e 100 a 1000 µl (Digipet) e refrigerador duplex (Consul). Para a mineralização das amostras, foram utilizados banho ultra-sônico (modelo 1510, Branson), bloco digestor (modelo M242, Quimis), tubos de vidro com 25 cm de comprimento, 2 cm de diâmetro interno e 2 mm de espessura da parede. Foi utilizado um Espectrômetro de Absorção Atômica (modelo AAnalyst 200, Perkin Elmer) com uma lâmpada de deutério para correção da radiação de fundo e lâmpada de catodo oco para determinação de ferro. Para a determinação de umidade, foram usados cadinhos de alumínio (Metalúrgica Leonardo), estufa para esterilização e secagem (modelo 400-3ND, Nova ética), dessecador 250 mm (Satelit).

2.2 Reagentes

Para as análises foram adquiridos ácido acético glacial PA, clorofórmio PA, metanol PA, Iodeto de potássio, sulfato de sódio anidro, tiosulfato de sódio, ácido clorídrico concentrado P.A, hidróxido de sódio PA e indicador fenolftaleína da marca Synth. O amido foi adquirido da Sigma-Aldrich, o dicromato de potássio, da Ecibra e o biftalato de sódio, da Qeel. Para a mineralização das amostras foram adquiridos ácido nítrico e peróxido de hidrogênio da marca Synth. Também foi utilizada solução padrão de ferro da marca Qhemis, com concentração de 1,000 mg g⁻¹.

2.3 Amostras

Os alimentos avaliados foram: macarrão massa seca, macarrão instantâneo, massas fresca para lasanha, massa de pizza e massa de pastel e bolo de laranja industrializado. Para macarrão massa seca, macarrão instantâneo, bolo de laranja e massa de pastel foram avaliadas três diferentes marcas, em três lotes, de cada tipo de alimento em estudo. Para as massas de lasanha e de pizza, foram analisadas duas marcas, em três lotes, para cada tipo de produto. Ao todo, foram avaliados cinquenta e quatro lotes de massas alimentícias e bolos.

As amostras foram adquiridas em hipermercados da cidade de Campinas, com o menor tempo de fabricação possível (no máximo 10 dias). As amostras de macarrão (massa seca e instantâneo) foram armazenadas em temperatura ambiente, enquanto as outras amostras foram armazenadas sob refrigeração. As análises das amostras de macarrão foram realizadas mensalmente. Já as amostras de lasanha, pizza, pastel e bolo, devido ao menor prazo de validade, foram analisadas a cada quinze dias. O número de amostras adquiridas variou de acordo com o prazo de validade e a disponibilidade dos produtos nos supermercados. Foram adquiridos 5 pacotes de cada lote de macarrão (massa seca e instantâneo), que foram abertos no mesmo dia das determinações de umidade e acidez. Para as outras amostras, foram adquiridos de 3 a 6 pacotes, dependendo do prazo de validade dos produtos. Da mesma forma, as embalagens foram abertas no mesmo dia em que as análises foram realizadas. De cada pacote, foram retirados 100 g de produto, que foram moídos e homogeneizados para a realização das análises.

2.4 Determinação de umidade (AOAC, 2006)

O método utilizado foi o de secagem em estufa a 105^o C até massa constante. As amostras, após moagem, foram colocadas em cadinhos de alumínio, previamente pesados e permaneceram em estufa por 24 horas. Os cadinhos contendo as amostras foram, então, resfriados a temperatura ambiente,

em dessecador e pesados. O teor de umidade foi calculado com base na diferença entre a massa inicial e final da amostra. Todas as determinações foram feitas em triplicata.

2.5 Determinação de acidez álcool solúvel

Para a determinação da acidez álcool solúvel utilizou-se o método proposto por Pizzinatto (1994). Pesou-se 10 g de amostra, previamente moída, em um erlenmeyer de 125 mL com tampa e adicionou-se 50 mL de etanol 67%. O frasco foi agitado por 5 minutos. Posteriormente, a amostra foi filtrada. Transferiu-se 25 mL do filtrado para outro erlenmeyer de 125 mL e adicionou-se algumas gotas de solução indicadora de fenolftaleína. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ até aparecimento de coloração rósea persistente. Um teste do branco foi realizado, utilizando-se o etanol. A acidez foi expressa em mL de solução normal de NaOH por cento (v/m) e calculada pela equação.

$$acidez = \frac{(V - V') * N * f * 2 * 100}{P} \quad (3.1)$$

Sendo:

V = volume (em mL) da solução de NaOH gasto na titulação da amostra

V' = volume (em mL) da solução de NaOH gasto na titulação do branco

f = fator de correção da solução de NaOH 0,01 mol L⁻¹ ou 0,1 mol L⁻¹

P = massa de amostra utilizada (g)

N = concentração da solução de hidróxido de sódio (mol L⁻¹)

2.6 Extração de lipídeos (Bligh-Dyer, 1959)

A extração dos lipídeos foi feita pelo método de Bligh-Dyer (1959). Pesou-se 7,5 g de amostra em um tubo de vidro com tampa e foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 8 mL de água e 20 mL de metanol. A mistura foi agitada por 30 minutos. Adicionou-se 10 mL de água e 10 mL de solução de sulfato de sódio. A mistura foi agitada novamente por 5 minutos e foi deixada em repouso por 1 hora.

Após a separação das fases, adicionou-se 1 g de sulfato de sódio anidro a amostra, agitou-se e filtrou-se a amostra em papel de filtro contendo 2 g de sulfato de sódio anidro. Para a determinação do índice de peróxido, procedeu-se conforme o item 2.7. Para a determinação do teor de gordura das amostras, transferiu-se 5 mL do filtrado para um béquer, previamente pesado, e colocou-se em estufa a 65° C até evaporação do solvente. Após resfriamento em dessecador os béqueres foram pesados.

2.7 Determinação do índice de peróxido (AOCS, 1997; IAL, 2008)

Após a extração de lipídeos por Bligh-Dyer determinou-se o índice de peróxido na fração lipídica (em clorofórmio). Adicionou-se 15 mL de solução de ácido acético a 10 mL do filtrado e agitou-se. Posteriormente, adicionou-se 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio, deixando a amostra em repouso por 1 minuto. Acrescentou-se 25 mL de água e titulou-se com uma solução de tiosulfato de sódio (0,01 mol L⁻¹), previamente padronizada com dicromato de potássio (AOCS, 1997), com agitação até que a coloração amarela desaparecesse. Então, adicionou-se 0,25 mL de solução indicadora de amido e titulou-se até completo desaparecimento da coloração azul. O índice de peróxido (em mEq de peróxido.kg⁻¹ de amostra) foi calculado adotando-se a fórmula prevista no método oficial.

$$IP = \frac{(S - B) * M * 1000}{m} \quad (3.2)$$

Sendo:

S = volume de solução de Na₂S₂O₃.5H₂O 0,001 mol.L⁻¹ gasto na titulação da amostra

B = volume de solução de Na₂S₂O₃.5H₂O 0,001 mol.L⁻¹ gasto na titulação do branco

M = molaridade da solução de tiosulfato de sódio

m = massa de amostra (g)

2.8 Determinação de ferro

A determinação do teor de ferro nas amostras foi feita de acordo com o método validado por Oliveira, Pallone (2012).

No preparo das amostras pesou-se aproximadamente 0,60 g em tubos de digestão e utilizou-se 8 mL de ácido nítrico e 2 mL de peróxido de hidrogênio.

Para a determinação de ferro foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com chama. Foram construídas curvas de calibração para a obtenção de equações que correlacionam a absorbância medida com a concentração em mg.L^{-1} de ferro presente na amostra. As curvas consistiram de sete pontos mais o branco e as concentrações utilizadas foram 0,2; 0,6; 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6 mg.L^{-1} de ferro.

2.9 Análise estatística

Foi utilizado o programa Statistica 7.0 (*Statsoft*) para avaliar se havia diferença significativa dos resultados, com a aplicação de Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey.

2.10 Avaliação dos métodos analíticos

Os métodos para determinação de umidade, acidez álcool solúvel e índice de peróxido foram avaliados quanto à precisão, em condições de repetitividade, com base nas recomendações do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos” da ANVISA (BRASIL, 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.1 Avaliação da precisão da metodologia para determinação de umidade

Para a determinação de umidade, as amostras foram secas em estufa a 105°C por 24 horas. Os resultados obtidos em condições de repetitividade são apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Avaliação da repetitividade do método de determinação de umidade

	Teor Médio de Umidade (%)*	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)
Macarrão	11,3	0,0	0,3
Massa para lasanha	27,9	0,2	0,6
Massa de pastel	29,2	0,1	0,2
Massa de pizza	23,4	0,1	0,4
Bolo de laranja	22,1	0,1	0,7
Macarrão instantâneo	4,3	0,0	0,9

*n=7

Após determinação de umidade de sete replicatas de cada amostra, foi possível observar que o método apresenta boa repetitividade, uma vez que o coeficiente de variação obtido foi menor que 5%, como preconizado pela ANVISA (BRASIL, 2003).

3.1.2 Avaliação da precisão da metodologia para determinação de acidez álcool solúvel

A precisão do método para a determinação de acidez álcool solúvel foi avaliada através de sete repetições independentes, em condição de repetitividade. A Tabela 3.2 apresenta os valores médios de acidez álcool solúvel, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

Tabela 3.2: Avaliação da precisão para a determinação de acidez álcool solúvel

Produto	Acidez Média* (ml de NaOH 100 g ⁻¹)	Desvio Padrão	CV (%)
Macarrão	1,2	0,0	3,5
Massa para lasanha	2,2	0,1	5,1
Massa de pastel	4,5	0,2	3,8
Massa de pizza	2,7	0,1	3,2
Bolo de Laranja	2,2	0,1	4,1
Macarrão Instantâneo	0,8	0,1	6,2

*n=7

Comparando-se os valores dos coeficientes de variação com o valor recomendado pela ANVISA (BRASIL, 2003), que é de 5%, pôde-se concluir que o método apresentou repetitividade adequada para as amostras. O valor do coeficiente de variação para a análise do macarrão instantâneo, de 6,21, se deve principalmente ao volume muito pequeno de titulante utilizado (cerca de 0,5 mL).

3.1.3 Avaliação da precisão para determinação de índice de peróxido

A precisão do método para a determinação de índice de peróxido foi avaliada através de sete repetições independentes, em condição de repetitividade. A avaliação da repetitividade foi realizada somente nas amostras de bolo de laranja e macarrão instantâneo, que poderiam apresentar sinais de oxidação, já que apresentam teor de gordura elevado. A Tabela 3.3 apresenta os valores médios de índice de peróxido, o desvio padrão e o coeficiente de variação.

Tabela 3.3: Avaliação da precisão para a determinação de índice de peróxido

Produto	IP médio*	Desvio Padrão	CV (%)
Bolo de Laranja	3,3	0,2	7,4
Macarrão Instantâneo	3,0	0,3	9,6

*em mEq de peróxido Kg⁻¹ de gordura. n=7

Trabalhos já publicados indicam que esta análise pode apresentar alto coeficiente de variação. Em um estudo realizado pela IUPAC (1992), para o estabelecimento do índice de peróxido, em triplicata, foram encontrados coeficientes de variação de 1,87% para óleo de palma, 21,6% para óleo de colza, 3,62% e 9,8% para óleos de soja. A escolha do índice de peróxido para avaliação da oxidação das amostras se deu com base em trabalhos publicados (HUMA *et al.*, 2007; KONGKACHUICHA *et al.*, 2012; MOHAMMADI *et al.*, 2011). Entretanto, vários fatores contribuem para erro durante esta análise, como a visualização do ponto de viragem, a exposição ao oxigênio durante a extração, a liberação do iodo pelo oxigênio dissolvido na amostra e a absorção do iodo pelos ácidos graxos (AKOH, MIN, 2008). Para macarrão instantâneo e bolo, os baixos volumes utilizados de titulante (cerca de 0,3 mL) também contribuem para os valores de CV encontrados. Apesar dos problemas relatados para a aplicação do método, o mesmo é aplicado com frequência para diversas matrizes.

3.2 Determinação de umidade, acidez álcool solúvel e índice de peróxido nas amostras

Para as amostras de macarrão massa seca e instantâneo, foram adquiridos cinco pacotes de cada lote e as análises foram realizadas mensalmente, durante quatro meses. Já para as amostras de bolo, massa de pastel, lasanha e pizza, o número de pacotes e o período no qual foram realizadas as análises variou de acordo com o prazo de validade dos produtos e disponibilidade destes nos supermercados.

Dessa forma, para os lotes de massa de pizza A1 e B3, massa de pastel A2, B2, B3 e C2 e de bolo de laranja A2, A3 e B2, que foram adquiridos após alguns dias de estocagem nos supermercados e chegaram à data de vencimento antes dos demais, tem-se menor número de análises.

3.2.1 Determinação do teor de umidade em amostras

As Figuras 3.1 e 3.2 apresentam os resultados da determinação de umidade das amostras ao longo do tempo de estocagem. Para as amostras de macarrão, as análises foram realizadas mensalmente. Para as massas de pastel, lasanha e pizza e para o bolo de laranja, as análises foram realizadas a cada quinze dias.

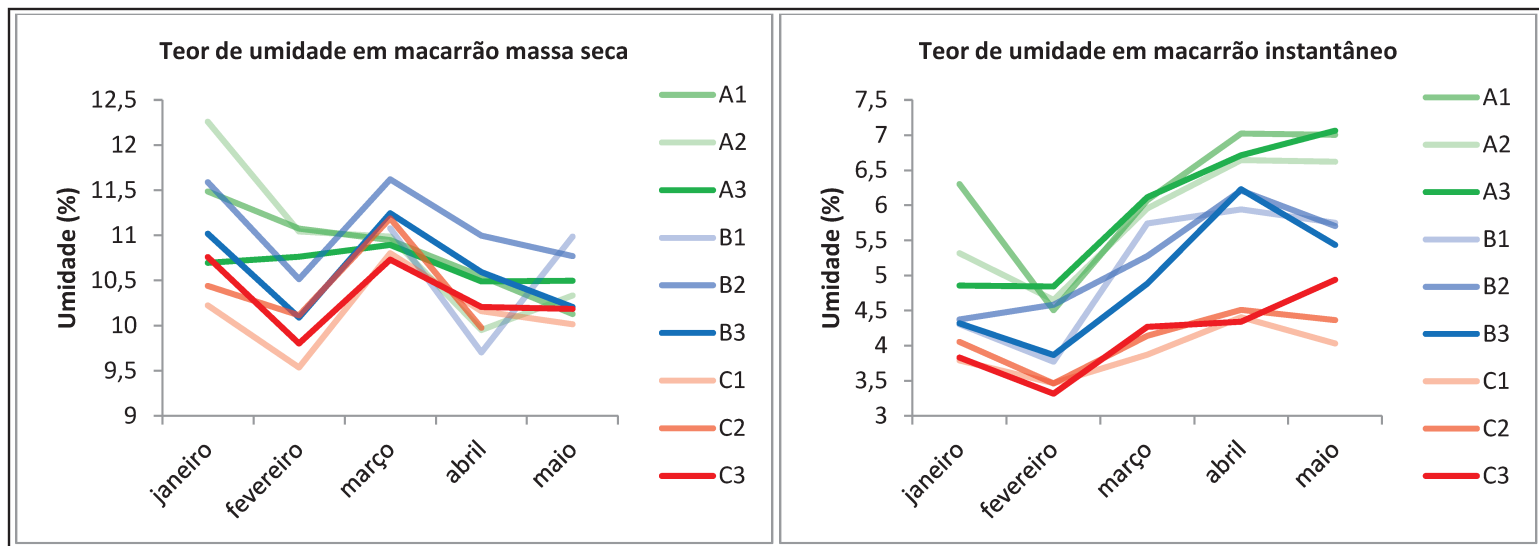


Figura 3.1: Teor de umidade nas amostras de macarrão massa seca e macarrão instantâneo

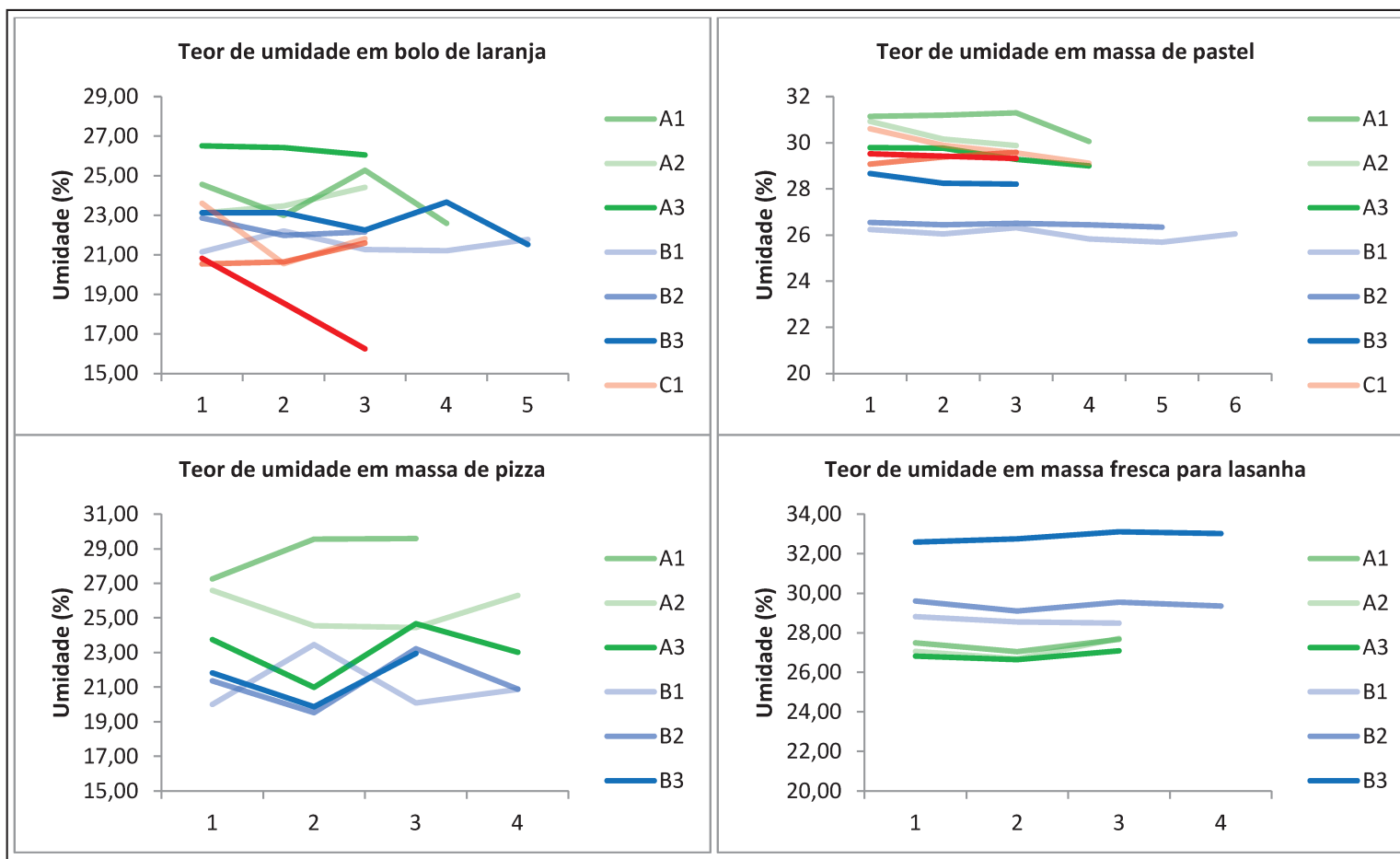


Figura 3.2: Teor de umidade nas amostras de bolo de laranja, massa de pastel, massa de pizza e massa fresca para lasanha

Apesar de haver diferença significativa entre amostras de mesmo lote ao longo do tempo, mostrada através do teste de Tukey (ANEXO A), de maneira geral, não houve grandes alterações no teor de umidade das amostras (dentro de um mesmo lote). Para o macarrão massa seca o teor de umidade variou de 9,5% e 12,3%. No macarrão instantâneo verificou-se ligeiro aumento no teor de umidade, que variou de 3,3% a 7,1%. Na massa de pizza observou-se teor de umidade entre 19,5% e 29,6%. Para a massa de pastel, as amostras apresentaram umidade na faixa de 25,7% a 31,3%. Nas amostras de massa de lasanha verificou-se teor de umidade entre 26,6% e 33,1%. Para o bolo de laranja, a umidade variou de 16,3% a 26,5%. Diferenças nos valores durante a estocagem se devem, provavelmente, à variação de umidade no ambiente em que as amostras foram acondicionadas, além de se tratar de marcas e lotes diferentes.

De acordo com a RDC nº 93, de 31 de outubro de 2000, as massas alimentícias secas devem apresentar teor de umidade de no máximo 13,0 %. Já para as massas alimentícias úmidas ou frescas, este valor é de 35,0%. No caso de massas alimentícias instantâneas desidratadas por fritura, o valor máximo de umidade é 10 %. A RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, que revogou a RDC nº 93, não estabelece um limite para o teor de umidade de massas alimentícias. Tendo em vista o limite estabelecido pela RDC nº 93, as amostras de macarrão apresentam teor de umidade adequado, inibindo o crescimento microbiológico. Exceto a massa fresca para lasanha, os valores encontrados são semelhantes aos valores encontrado na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2006). De acordo com essa tabela, o teor de umidade para macarrão massa seca com ovos é de 10,6%, para macarrão instantâneo, 6,0%, massa crua de pastel, 27,1% e massa fresca para lasanha, 45,0%. Não há valores para massa de pizza e bolo de laranja, mas o teor de umidade entre os bolos prontos varia de 19,3% (bolo de chocolate) a 36,7% (bolo de milho).

3.2.2 Determinação de acidez álcool solúvel das amostras

As Figuras 3.3. e 3.4 apresentam os valores de acidez álcool solúvel nas amostras durante o período de estocagem. Para as amostras de macarrão, as análises foram realizadas mensalmente. Para as massas de pastel, lasanha e pizza e para o bolo de laranja, as análises foram realizadas a cada quinze dias.

Os valores obtidos para acidez mostram que existe diferença significativa entre amostras de mesmo lote ao longo do tempo (ANEXO B). Entretanto, pouca variação foi observada. De forma geral, não foi constatada nenhuma tendência na avaliação da acidez dos produtos, exceto no bolo de laranja, no qual a acidez diminuiu com o tempo. Esta alteração pode estar ligada a oxidação, durante a estocagem, de ácidos graxos presentes na amostra. Nas amostras de macarrão massa seca a acidez variou de 1,4 a 3,2 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹ de amostra. Para o macarrão instantâneo a acidez oscilou entre 0,3 e 1,0 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. As amostras de massa de pizza apresentaram acidez entre 2,9 e 4,6 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. Para a massa de pastel, verificou-se acidez entre 0,9 e 6,6 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. Na massa de lasanha a acidez variou entre 1,7 e 3,7 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. No bolo de laranja a acidez variou entre 1,3 e 2,5 mL de solução 1 mol L⁻¹ de NaOH 100 g⁻¹. Diferenças no teor de acidez foram observadas entre marcas e entre lotes de mesma marca. Provavelmente, estas diferenças se devem a variações na formulação dos produtos. As massas de pastel, por exemplo, apresentam em sua formulação ácido láctico, que colabora para o aumento da acidez do produto.

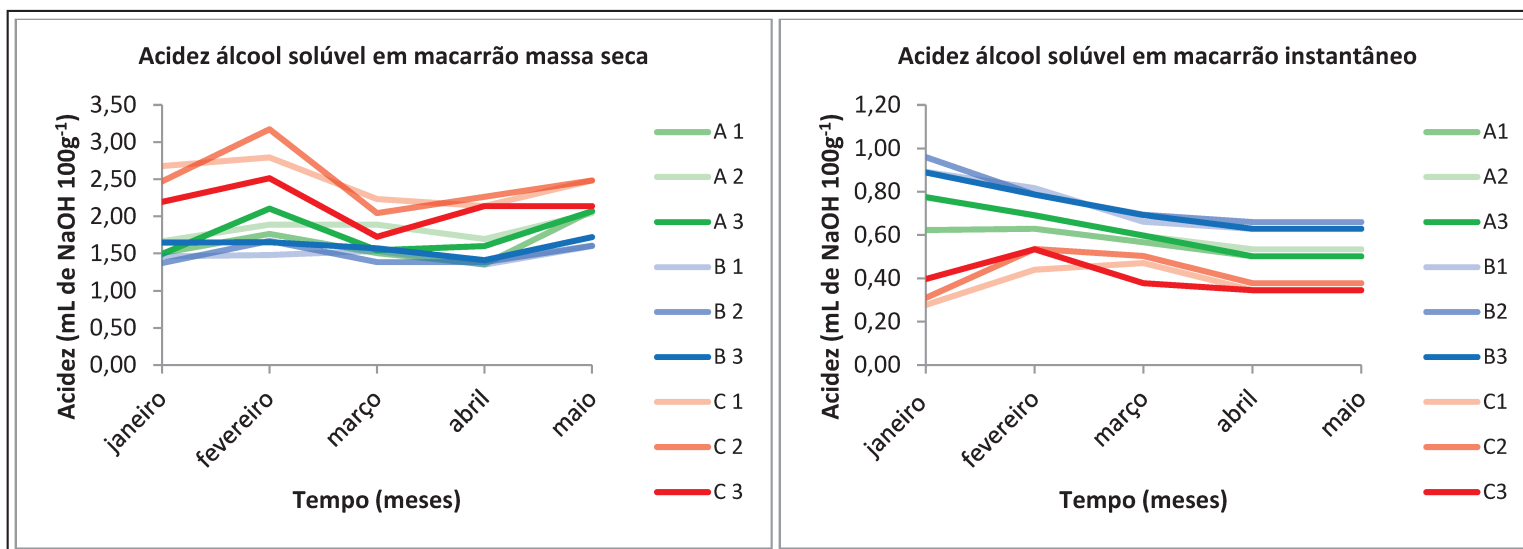


Figura 3.3: Acidez álcool solúvel em macarrão massa seca e macarrão instantâneo.

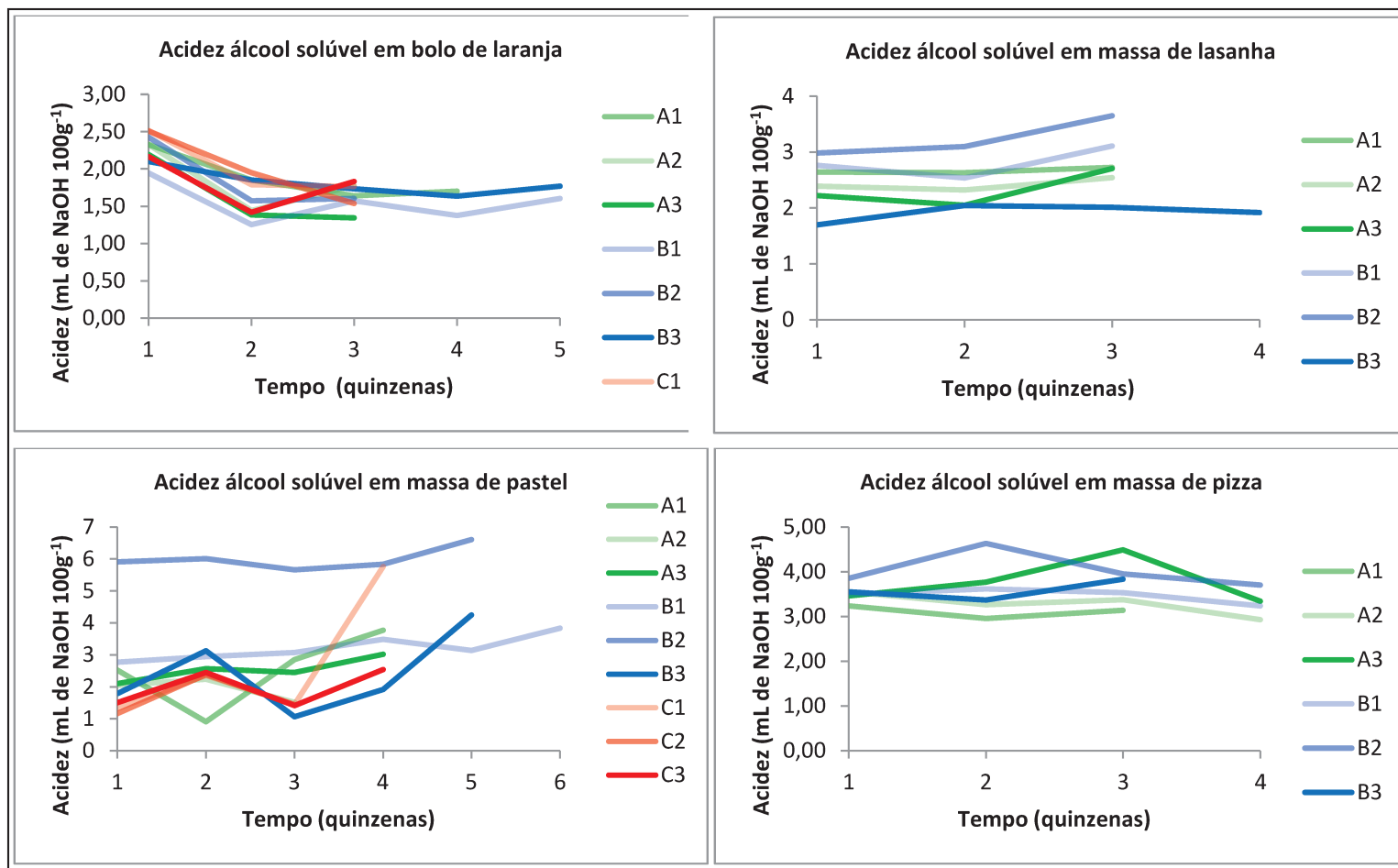


Figura 3.4: Acidez álcool solúvel em bolo de laranja, massa fresca para lasanha, massa de pastel e massa de pizza.

A RDC nº 93, de 31 de outubro de 2000, estabelecia o teor máximo de acidez para massas alimentícias: 5 mL de solução normal de NaOH 100 g⁻¹ da massa livre de recheio. Para massas alimentícias instantâneas, o valor máximo era de 3 mL de solução normal de NaOH 100 g⁻¹ da massa livre de recheio. De acordo com essa resolução, os valores obtidos estão adequados. No entanto, esta resolução foi revogada pela RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, que não estabelece um limite para os valores de acidez. De acordo com Casagrandi *et al.* (1999), a determinação de acidez complementa o teste de umidade na avaliação da eficiência da secagem e da qualidade do macarrão. Após a secagem, o produto pode apresentar umidade residual interna elevada, ainda que a umidade média esteja dentro dos parâmetros normais. Isso pode levar a desenvolvimento microbiológico e conseqüentemente ao aumento da acidez.

3.2.3 Determinação do teor de lipídeos

As amostras foram analisadas em triplicata quanto ao teor de gordura pelo método Bligh Dyer (1959). Os resultados estão apresentados na Tabela 3.44, assim como os valores declarados no rótulo e os da tabela TACO (NEPA/UNICAMP, 2011).

Tabela 3.4: Teor de lipídeos em massas e bolos.

Amostra	Marca	Lote	Teor de gordura (%)			Intervalo de confiança (95%)	Rótulo (%)	TACO (%)
Macarrão	A	1	1,4	±	0,1	1,3 - 1,4	1,0	2,0
		2	2,3	±	0,2	2,0 - 2,5	1,0	2,0
		3	1,8	±	0,1	1,8 - 1,9	1,0	2,0
	B	1	1,4	±	0,1	1,3 - 1,4	1,0	2,0
		2	1,3	±	0,1	1,3 - 1,4	1,0	2,0
		3	1,3	±	0,1	1,2 - 1,4	1,0	2,0

Amostra	Marca	Lote	Teor de gordura (%)			Intervalo de confiança (95%)	Rótulo (%)	TACO (%)
Macarrão Instantâneo	C	1	1,4	±	0,1	1,4 - 1,5	0,8	2,0
		2	1,5	±	0,1	1,5 - 1,6	0,8	2,0
		3	1,2	±	0,0	1,2 - 1,3	0,8	2,0
	A	1	19,7	±	0,2	19,4 - 19,9	18,5	17,2
		2	17,4	±	0,7	16,6 - 18,2	18,5	17,2
		3	18,0	±	0,3	17,7 - 18,3	18,5	17,2
	B	1	17,0	±	0,9	16,0 - 18,1	18,8	17,2
		2	16,8	±	0,4	16,4 - 17,2	18,8	17,2
		3	2,3	±	0,2	2,0 - 2,5	18,8	17,2
	C	1	19,1	±	0,1	19,0 - 19,2	21,2	17,2
		2	20,3	±	1,4	18,7 - 21,9	21,2	17,2
		3	19,9	±	0,9	18,9 - 21,0	21,2	17,2
Massa de pizza	A	1	7,9	±	0,0	7,9 - 8,0	7,5	
		2	8,2	±	0,2	8,0 - 8,4	7,5	
		3	7,9	±	0,1	7,8 - 8,1	7,5	
	B	1	8,3	±	0,1	8,2 - 8,4	2,5	
		2	8,7	±	0,0	8,6 - 8,7	2,5	
		3	7,3	±	0,4	6,9 - 7,8	2,5	

Amostra	Marca	Lote	Teor de gordura (%)			Intervalo de confiança (95%)	Rótulo (%)	TACO (%)
Massa de pastel	A	1	5,4	±	0,1	5,2 - 5,5	4,7	5,5
		2	5,4	±	0,1	5,2 - 5,5	4,7	5,5
		3	4,0	±	0,2	3,8 - 4,1	4,7	5,5
	B	1	4,2	±	0,3	3,8 - 4,6	5,7	5,5
		2	4,8	±	0,3	4,4 - 5,2	5,7	5,5
		3	4,5	±	0,4	4,1 - 5,0	5,7	5,5
	C	1	3,3	±	0,2	3,1 - 3,6	3,3	5,5
		2	3,5	±	0,3	3,1 - 3,9	3,3	5,5
		3	3,2	±	0,1	3,0 - 3,3	3,3	5,5
Bolo	A	1	13,8	±	0,1	13,7 - 14,0	12,0	
		2	14,5	±	0,3	14,2 - 14,8	12,0	
		3	13,4	±	0,3	13,0 - 13,7	12,0	
	B	1	16,8	±	0,1	16,6 - 16,9	15,5	
		2	16,6	±	0,1	16,5 - 16,7	15,5	
		3	16,4	±	0,6	15,7 - 17,1	15,5	
	C	1	13,6	±	0,1	13,5 - 13,7	12,0	
		2	14,1	±	0,2	13,8 - 14,3	12,0	
		3	11,4	±	0,1	11,3 - 11,6	12,00	

Amostra	Marca	Lote	Teor de gordura (%)			Intervalo de confiança (95%)	Rótulo (%)	TACO (%)
Massa de lasanha	A	1	1,8	±	0,0	1,8 - 1,9	1,1	1,2
		2	1,7	±	0,1	1,7 - 1,8	1,1	1,2
		3	1,7	±	0,1	1,6 - 1,8	1,1	1,2
	B	1	3,2	±	0,0	3,1 - 3,2	2,2	1,2
		2	2,7	±	0,3	2,3 - 3,0	2,2	1,2
		3	2,9	±	0,1	2,9 - 3,0	2,20	1,2

De acordo com RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003, da Anvisa, admite-se uma tolerância de + 20% com relação aos valores de nutrientes declarados no rótulo. Ainda de acordo com esta resolução, para os produtos que contenham nutrientes em qualidade superior a esta tolerância, a empresa responsável deve manter a disposição os estudos que justifiquem tal variação. Comparando os valores obtidos, observa-se que o macarrão apresenta teor de gordura ligeiramente superior ao declarado pelo fabricante. Já para o macarrão instantâneo, o teor de gordura declarado foi menor que o encontrado na maioria dos lotes. Entre as massas de pizza, a marca A apresentou teor de gordura compatível com o valor no rótulo e a marca B apresentou concentração de gorduras, três vezes mais alta que o declarado. Nas massas de pastel, a maioria dos lotes tinha percentual de gordura próximo ao valor no rótulo. Nas amostras de bolo de laranja, o teor de gordura foi próximo do valor na embalagem. As amostras de massa de lasanha apresentaram concentração de gordura um pouco superior aos especificado no rótulo. Não foram encontrados na tabela TACO dados para massa de pizza e bolo de laranja. Para os demais produtos, o teor de gordura foi muito próximo dos dados encontrados na tabela TACO.

3.2.4 Determinação do índice de peróxido das amostras.

A Figura 3.5 apresenta os valores de índice de peróxido em macarrão instantâneo durante quatro meses. Além das amostras de macarrão instantâneo, monitorou-se também o índice de peróxido em amostras de bolo. Entretanto, não foram detectados peróxidos nos bolos. Este comportamento se deve provavelmente ao menor teor de gordura e ao menor tempo de estocagem (dois meses, em média) dos bolos analisados.

A RDC nº 93, de 31 de outubro de 2000, estabelecia que o valor máximo para índice de peróxido em massa alimentícia instantânea ou pré-cozida desidratada por fritura era de $30,0 \text{ mEq.kg}^{-1}$ de massa livre de recheio. Portanto todas as amostras de macarrão instantâneo apresentam níveis de índice de peróxido aceitáveis, de acordo com esta resolução. Porém, esta resolução foi revogada pela RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005, que não estabelece um limite para o índice de peróxido. O regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais, aprovado pela resolução nº 482 da ANVISA, estabelece o valor máximo permitido para índice de peróxido em óleos: 10 mEq.kg de gordura. Considerando esta resolução, todas as amostras de macarrão instantâneo apresentaram índice de peróxido aceitável. Em um trabalho realizado na Tailândia, foi avaliado o índice de peróxido de macarrão instantâneo não fortificado e fortificado com cerca de 10 mg.100 g^{-1} de ferro em diferentes formas (sulfato ferroso, NaFeEDTA e ferro reduzido encapsulado) durante 3 meses.

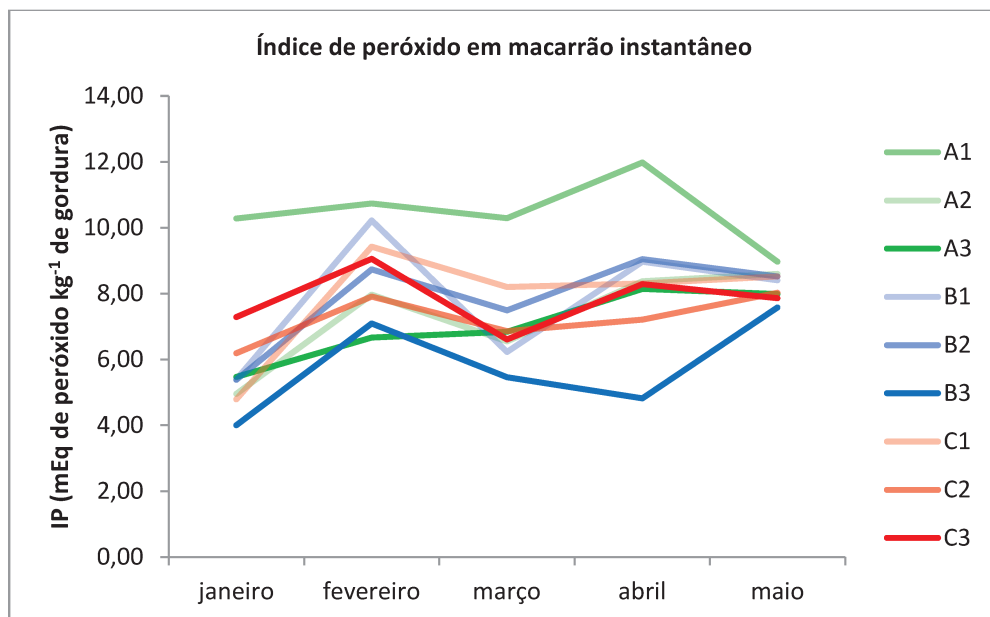


Figura 3.5: índice de peróxido em macarrão instantâneo

O índice de peróxido inicial médio das amostras foi de 5,9 mEq kg⁻¹ de gordura e o valor final médio foi de 8,4 mEq kg⁻¹ de gordura. Estes valores são similares aos encontrados por Kongkachuichai *et al* (2012), que encontraram valores entre 5,2 e 8,1 mEq kg⁻¹.

O índice de peróxido é uma das formas mais utilizadas para verificar o grau de oxidação de óleos e gorduras. Os peróxidos são produtos primários da oxidação de lipídeos e precursores de compostos voláteis, capazes de alterar sabor e odor dos alimentos (FENNEMA, 1996). A determinação do índice de peróxido é um método relativamente simples e barato. Por outro lado, esta análise está sujeita a uma série de fatores que podem levar a erro, como dificuldade na visualização do ponto de viragem, exposição da amostra ao oxigênio durante a extração, liberação do iodo pelo oxigênio dissolvido na amostra e absorção do iodo pelos ácidos graxos insaturados (AKOH, MIN, 2008). Além disso, em amostras muito oxidadas o índice de peróxido não é uma medida confiável, já que em estágios mais avançados de oxidação ocorre a degradação dos peróxidos. Dessa forma, baixos índices de peróxido podem indicar tanto amostras pouco oxidadas como amostras extremamente oxidadas. Entretanto, são encontrados diversos trabalhos publicados recentemente que reiteram essa técnica para medir oxidação. (HUMA *et al.*, 2007; KONGKACHUICHAI *et al.*, 2012; MOHAMMADI *et al.*, 2011)

3.3 Determinação de ferro

Os resultados para análise de ferro estão apresentados na Tabela 3.5. Para verificar se havia diferença significativa entre os lotes de uma mesma marca e entre as marcas foi aplicado o teste de Tukey. Vale ressaltar que os dados apresentados foram obtidos após avaliação de 5 embalagens diferentes, no caso do macarrão massa seca e do macarrão instantâneo, e de 3 a 6 embalagens nos demais produtos. Maiores valores de CV indicam falta de homogeneidade na distribuição do ferro em diferentes embalagens de amostras de mesmo lote.

Tabela 3.5: Teor de ferro em massas alimentícias e bolos.

Amostra	Marca	Lote	Faixa de concentração	Ferro (mg 100 g ⁻¹)				CV(%)
Macarrão massa seca	A	1	3,7 - 4,8	4,1	±	0,3	^c	7,3
		2	4,4 - 5,4	5,0	±	0,3	^b	6,6
		3	5,9 - 6,9	6,4	±	0,3	^a	5,0
	B	1	5,2 - 7,1	6,1	±	0,6	^a	10,1
		2	4,4 - 5,8	5,2	±	0,4	^b	8,0
		3	5,2 - 6,6	5,8	±	0,4	^{ab}	6,0
	C	1	5,3 - 6,3	5,7	±	0,3	^a	5,6
		2	3,5 - 5,1	4,3	±	0,5	^b	11,4
		3	2,5 - 3,1	2,8	±	0,2	^c	6,8
Macarrão Instantâneo	A	1	2,4 - 3,0	2,7	±	0,2	^b	5,9
		2	3,6 - 4,3	4,0	±	0,2	^a	6,1
		3	3,5 - 5,3	4,1	±	0,4	^a	9,8
	B	1	4,1 - 5,1	4,5	±	0,3	^a	6,3
		2	4,0 - 4,9	4,5	±	0,3	^a	5,9
		3	3,9 - 5,2	4,6	±	0,4	^a	7,6
	C	1	4,0 - 5,1	4,6	±	0,4	^a	8,1
		2	4,1 - 5,3	4,9	±	0,3	^a	6,7
		3	4,2 - 5,5	4,8	±	0,4	^a	8,7

Amostra	Marca	Lote	Faixa de concentração	Ferro (mg 100 g ⁻¹)				CV(%)
Massa de pizza	A	1	2,0 - 2,5	2,3	±	0,2	^c	8,1
		2	2,6 - 3,9	3,4	±	0,4	^b	10,7
		3	3,3 - 4,4	3,9	±	0,3	^a	8,2
	B	1	3,1 - 5,5	4,2	±	0,7	^a	17,7
		2	4,1 - 5,1	4,7	±	0,3	^a	7,2
		3	3,9 - 4,4	4,2	±	0,2	^a	4,2
Massa de pastel	A	1	1,0 - 1,3	1,2	±	0,1	^b	8,4
		2	2,2 - 2,9	2,5	±	0,2	^a	9,1
		3	1,9 - 2,9	2,2	±	0,3	^a	11,2
	B	1	3,4 - 4,9	3,8	±	0,5	^a	13,2
		2	3,6 - 4,3	3,8	±	0,2	^a	5,6
		3	2,7 - 4,1	3,7	±	0,4	^a	10,7
	C	1	2,6 - 4,2	3,4	±	0,4	^a	12,4
		2	2,3 - 3,5	2,9	±	0,3	^b	10,8
		3	2,4 - 3,3	2,8	±	0,2	^b	7,5
Bolo	A	1	2,3 - 3,1	2,7	±	0,3	^{ab}	10,6
		2	2,6 - 3,1	2,9	±	0,1	^a	4,5
		3	2,0 - 2,6	2,2	±	0,2	^b	9,4

Amostra	Marca	Lote	Faixa de concentração	Ferro (mg 100 g ⁻¹)			CV(%)	
Massa de lasanha	B	1	1,5 - 2,2	1,9	±	0,2	^a	11,0
		2	1,2 - 1,7	1,3	±	0,2	^b	13,4
		3	1,1 - 2,1	1,6	±	0,3	^{ab}	21,3
	C	1	1,9 - 2,4	2,1	±	0,2	^a	7,3
		2	1,9 - 2,5	2,2	±	0,2	^a	8,6
		3	1,5 - 2,5	2,1	±	0,3	^a	13,1
	A	1	4,0 - 4,7	4,3	±	0,3	^a	6,3
		2	3,8 - 5,1	4,4	±	0,4	^a	9,7
		3	3,5 - 4,3	3,8	±	0,3	^b	7,3
	B	1	3,7 - 4,5	4,0	±	0,2	^a	6,2
		2	1,2 - 1,8	1,5	±	0,2	^b	16,4
		3	0,7 - 1,1	0,9	±	0,1	^c	14,8

* Valores expressos como média ± desvio padrão (n = número amostras de pacotes diferentes). Médias seguidas pela mesma letra na coluna, para os lotes de uma mesma marca, não diferem entre si pelo Teste de Tukey (95%).

n = 6: para massa de pastel B1.

n = 5: para macarrão massa seca e macarrão instantâneo, massa de pastel B2 e B3, bolo B1 e B3.

n = 4: para massa de pizza A2, A3, B1 e B2, massa de pastel A1, A3, C1 e C3, massa de lasanha B3, bolo A1, A2, A3 e B2.

n = 3: para massa de pizza A1 e B3, massa de pastel A2 e C2, massa de lasanha A1, A2, A3, B1 e B2 e bolo C1, C2 e C3.

Observou-se variação do teor de ferro entre lotes de mesma marca e, principalmente, entre marcas diferentes. Entre as amostras de macarrão, o teor médio de ferro foi $5,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, variando de 2,5 a $7,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Exceto o lote C3, que apresentou concentração média de $2,8 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, as amostras apresentaram alto teor de ferro. Para o macarrão instantâneo, o teor médio de ferro foi de $4,3 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. A concentração variou de 2,4 a $5,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Nas massas de pizza a concentração média de ferro foi $3,8 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. A menor concentração encontrada foi $2,0 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ e a maior foi de $5,5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Para a massa de pastel foram encontrados teores de ferro de 1,0 a $4,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, com média de $2,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Entre as marcas de bolo, a concentração de ferro variou de 1,1 a $3,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, com média de $2,1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. Nas massas de lasanha o teor médio de ferro foi de $2,9 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, variando de 0,7 a $4,7 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. O lote A3 diferiu dos lotes A1 e A2. Os três lotes da marca B diferiram entre si. Os lotes B2 e B3 se destacaram pelo baixo teor de ferro.

Assim, observou-se que os produtos analisados apresentam alto teor de ferro, em geral, representando dados importantes para a estimativa da ingestão de ferro pela população.

4. CONCLUSÃO

Foi possível avaliar a qualidade físico-química dos produtos utilizando métodos simples e de custo relativamente baixo. Os resultados revelam que as massas e bolos analisados apresentam boa qualidade. Os valores de umidade, acidez e índice de peróxido das amostras foram considerados aceitáveis durante o período de estocagem. Através da técnica de espectrometria de absorção atômica foi possível determinar o teor de ferro nas amostras. Ainda que o ferro seja considerado um pró-oxidante, os produtos elaborados com farinha de trigo fortificada com este metal apresentaram níveis baixos de índice de peróxido.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, S.; ANJUM, F. M.; REHMAN, S.; SHEIKH, M. A.; FARZANA, K. Effect of fortification on physico-chemical and microbiological stability of whole wheat flour. **Food Chemistry**, v. 110, p. 113-119, 2008.

AKOH, C.C.; MIN, D.B. **Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology**. eds.; CRC Press: Boca Raton, 2008

AOAC. INTERNATIONAL. Official Methods of Analysis the Association of Official Analytical Chemists (AOAC)/ William Howitz, editor., 18^a ed., Gaithersburg, 2006.

AOCS. Official Methods of Analysis Cd 8-56. Peroxide Value Acetic Acid-Chloroform Method., 1997.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian: Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BOBBIO, F. O. & P. A. BOBBIO. **Química do Processamento de Alimentos**. 3 ed. São Paulo, Varela, 2001. 151 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº. 93, de 31 de outubro de 2000. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Massa Alimentícia. **Diário Oficial da União**, 2000.

BRASIL, 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, RE nº 899, de 29/05/2003.

BRASIL, 2010. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial da União**, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 360, Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial da União**, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Aprova o "Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal". **Diário Oficial da União**, 2005.

CASAGRANDE, D. A.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SALGADO, J. M.; PIZZINATTO, A.; NOVAES, N. J. Análise tecnológica, nutricional e sensorial de macarrão elaborado com farinha de trigo adicionada de farinha de feijão-guandu. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 137-143, 1999.

CHAVASIT, V.; NOPBURABUTR, P.; KONGKACHUICHAI, R. Combating iodine and iron deficiencies through the double fortification of fish sauce, mixed fish sauce, and salt brine. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 24, n. 2, p. 200-207, 2003.

FENNEMA, O. R., **Food chemistry** (3rd ed.), Marcel Dekker, Inc, New York. 1996

GOTOH, N.; WADA, S. The importance of peroxide value in assessing food quality and food safety. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 5, p. 473-474, 2006.

HUMA, N.; REHMAN, S. U.; AWAN, J. A.; MURTAZA, M. A.; ARSHAD, M. U. Effect of packaging materials on the quality of iron-fortified wholemeal flour during storage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 31, p. 659-670, 2007.

HUMMEL, C. **Macaroni products: manufacture, processing and packing**. 2.ed. London : Food Trade Press, 1966.

HURRELL, R. How to Ensure Adequate Iron Absorption from Iron-fortified Food. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 7, p. 7-16, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4^a. ed. São Paulo, 2008.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives**. 1992.

KHOSHGOFTARMANESH, A. H.; ROOHANI, N.; DARA, A.; KADIVAR, M.; SCHULIN, R. Some nutritional quality and sensory attributes of wheat flours fortified with iron and zinc. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 34, n. 2010, p. 289-301, 2008.

KONGKACHUICHA, R.; KOUNHAWAJ, A.; CHAVASIT, V.; CHAROENSIRI, R. Effects of various iron fortificants on sensory acceptability and shelf-life stability of instant noodles. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 28, n. 2, p. 165-171, 2007.

LI, Y.; DIOSADY, L. L.; JANKOWSKI, S. Effect of iron compounds on the storage stability of multiple-fortified Ultra Rice ®. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, n. 3, p. 423-429, 2008.

MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CAMACHO, M. M.; MARTÍNEZ-LAHUERTA, J.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. Iron deficiency and iron fortified foods — a review. **Food Research International**, v. 35, p. 225-231, 2002.

MENDES, F. Q.; GOMES, J. C.; BARBOSA, T. S.; SARTORI, M. A.; OLIVEIRA, M. G. DE A. Formulação de leite em pó enriquecido com ferro. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 93-100, 2008.

MOHAMMADI, M.; ABEDI, A.-S.; AZIZI, M. H.; AHMADIAN, F. S.; POURARAM, H. Development of fortified biscuit using NaFeEDTA. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 91, n. 11, p. 1984-9, 2011.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO.UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS [NEPA/UNICAMP]. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos [TACO]**: 4 ed. revisada e ampliada, Campinas, 161 p, 2011.

OLIVEIRA, A. A. A.; LIMA-PALLONE, J. A. Determinação de ferro em massas e bolos elaborados com farinha fortificada. **Capítulo 2 - Dissertação de mestrado**, 2012.

PIZZINATTO, A. **Qualidade da farinha de trigo: conceito, fatores determinantes e parâmetros de avaliação e controle**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, p.72. 1999.

RHO, K. L.; SEIB, P. A.; CHUNG, O. K.; CHUNG, D. S. Retardation of rancidity in deep-fried instant noodles (ramyon). **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 63, n. 2, p. 251-256, 1986.

RICHINS, A. T.; BURTON, K. E.; PAHULU, H. F.; JEFFERIES, L.; DUNN, M. L. Effect of Iron Source on Color and Appearance of Micronutrient-Fortified Corn Flour Tortillas. **Cereal Chemistry**, v. 85, n. 4, p. 561-565, 2008.

ROSADO, J. L.; CASSÍS, L.; SOLANO, L.; DUARTE-VÁZQUEZ, M. A. Nutrient addition to corn masa flour: effect on corn flour stability, nutrient loss, and acceptability of fortified corn tortillas. **Food and nutrition bulletin**, v. 26, n. 3, p. 266-272, 2005.

CONCLUSÃO GERAL

A técnica de espectrometria de absorção atômica com chama permitiu a avaliação do teor de ferro nas amostras de forma relativamente simples e de baixo custo, garantindo resultados confiáveis. Foi possível constatar que o método apresenta precisão, exatidão, linearidade e limites de quantificação e detecção adequados para a aplicação em massas e bolos. A avaliação do teor de carbono residual por ICP-OES revelou que a mineralização por via úmida foi eficiente, eliminando matéria orgânica e permitindo as análises das amostras por FAAS.

Os resultados mostram que as massas e bolos apresentam alto teor de ferro, representando uma fonte importante deste mineral. Porém, é necessário verificar a biodisponibilidade do ferro nestes produtos e o acesso da população a estes alimentos. Outro ponto importante é avaliar o impacto do programa de fortificação na diminuição da anemia ferropriva.

Embora alguns estudos apontem problemas na qualidade dos produtos fortificados com ferro, especialmente quanto à oxidação de lipídeos, os resultados das determinações de umidade, acidez álcool solúvel e índice de peróxido mostraram que as amostras de massas alimentícias e bolos avaliados apresentam boa qualidade.

Sugere-se, em estudos futuros, a adição de diferentes formas de ferro a alimentos, a fim de comparar o efeito destes compostos na biodisponibilidade deste nutriente e na qualidade físico-química dos alimentos fortificados.

ANEXOS

ANEXO A - Teor de umidade em massas alimentícias e bolos.

Amostra	Marca	Lote	Umidade (%)																			
			0*			1*			2*			3*			4*			5*				
Macarrão	A	1	11,5	±	0,3	^b	11,1	±	0,1	^{ab}	11,0	±	0,3	^{ab}	10,6	±	0,1	^{ac}	10,1	±	0,5	^c
		2	12,3	±	2,2	^a	11,0	±	0,0	^a	11,0	±	0,1	^a	10,0	±	0,1	^a	10,3	±	0,2	^a
		3	10,7	±	0,1	^a	10,8	±	0,7	^a	10,9	±	0,1	^a	10,5	±	0,2	^a	10,5	±	0,2	^a
	B	1	11,2	±	0,1	^a	20,5	±	0,1	^c	11,1	±	0,1	^a	9,7	±	1,0	^b	11,0	±	0,4	^{ab}
		2	11,6	±	0,0	^c	10,5	±	0,2	^a	11,6	±	0,1	^c	11,0	±	0,2	^b	10,8	±	0,1	^{ab}
		3	11,0	±	0,1	^{cd}	10,1	±	0,1	^a	11,3	±	0,1	^d	10,6	±	0,1	^{bc}	10,2	±	0,4	^{ab}
	C	1	10,2	±	0,2	^a	9,5	±	0,1	^b	10,8	±	0,1	^c	10,2	±	0,3	^a	10,0	±	0,1	^a
		2	10,4	±	0,3	^a	10,1	±	0,2	^a	11,2	±	0,1	^b	10,0	±	0,1	^a	9,9	±	0,2	^a
		3	10,8	±	0,1	^b	9,8	±	0,2	^c	10,7	±	0,2	^b	10,2	±	0,1	^a	10,2	±	0,1	^a
Macarrão Instantâneo	A	1	6,3	±	0,8	^a	4,5	±	1,1	^b	6,1	±	0,0	^{ab}	7,0	±	0,1	^a	7,0	±	0,0	^a
		2	5,3	±	0,0	^c	4,7	±	0,1	^b	6,0	±	0,1	^d	6,6	±	0,2	^a	6,6	±	0,1	^a

Amostra	Marca	Lote	Umidade (%)																			
			0*			1*			2*			3*			4*			5*				
Massa de Pizza	B	3	4,9	±	0,1	^d	4,8	±	0,1	^d	6,1	±	0,1	^c	6,7	±	0,1	^b	7,1	±	0,0	^a
		1	4,3	±	0,1	^d	3,8	±	0,1	^c	5,7	±	0,0	^a	5,9	±	0,1	^b	5,8	±	0,1	^{ab}
		2	4,4	±	0,1	^d	4,6	±	0,1	^d	5,3	±	0,1	^c	6,2	±	0,1	^a	5,7	±	0,0	^b
	C	3	4,3	±	0,1	^d	3,9	±	0,3	^e	4,9	±	0,1	^c	6,2	±	0,0	^a	5,4	±	0,0	^b
		1	3,8	±	0,1	^{bc}	3,5	±	0,3	^c	3,9	±	0,2	^{bc}	4,4	±	0,3	^a	4,0	±	0,1	^{ab}
		2	4,1	±	0,3	^a	3,5	±	0,1	^b	4,1	±	0,0	^a	4,5	±	0,1	^a	4,4	±	0,3	^a
	3	3,8	±	0,0	^{ac}	3,3	±	0,2	^c	4,3	±	0,1	^{ab}	4,3	±	0,0	^{ab}	4,9	±	0,7	^b	
	A	1					27,3	±	0,2	^b	29,6	±	0,7	^a	29,6	±	0,2	^a				
		2	26,6	±	0,1	^a	24,5	±	0,2	^b	24,4	±	0,1	^b	26,3	±	0,1	^a				
3		23,7	±	0,0	^b	21,0	±	0,1	^d	24,7	±	0,1	^a	23,0	±	0,3	^c					
1		20,0	±	0,1	^c	23,5	±	0,2	^a	20,1	±	0,1	^c	20,9	±	0,0	^b					
2		21,4	±	0,2	^a	19,5	±	0,1	^a	23,2	±	5,5	^a	20,9	±	0,3	^a					
3						21,8	±	0,2	^b	19,9	±	0,1	^c	23,0	±	0,0	^a					

Amostra	Marca	Lote	Umidade (%)																										
			0*				1*				2*				3*				4*				5*						
Massa de pastel	A	1	31,1	±	0,1	a	31,2	±	1,1	a	31,3	±	0,0	a	30,1	±	0,2	a											
		2	30,9	±	0,6	b	30,2	±	0,1	ab	29,9	±	0,2	a															
		3	29,8	±	0,2	a	29,8	±	0,1	a	29,3	±	0,5	a	29,0	±	0,5	a											
	B	1	26,3	±	0,0	a	26,1	±	0,2	ab	26,3	±	0,2	a	25,8	±	0,1	bc	25,7	±	0,1	c	26,0	±	0,1	ab			
		2					26,6	±	0,1	b	26,4	±	0,0	ab	26,5	±	0,1	ab	26,4	±	0,1	ab	26,4	±	0,0	a			
		3					28,7	±	0,1	a	28,3	±	0,1	b	28,2	±	0,1	b	28,3	±	0,0	b	28,1	±	0,1	b			
	C	1	30,6	±	0,6	b	29,9	±	0,1	ab	29,6	±	0,0	a	29,1	±	0,1	a											
		2					29,1	±	0,2	a	29,4	±	0,2	ab	29,6	±	0,1	b											
		3	29,5	±	0,1	b	29,4	±	0,0	ab	29,3	±	0,1	a	29,8	±	0,0	a											
Massa de Lasanha	A	1	27,5	±	0,1	a	27,0	±	0,1	b	27,7	±	0,1	a															
		2	27,1	±	0,1	a	26,7	±	0,7	a	27,7	±	1,1	a															
		3	26,8	±	0,1	b	26,6	±	0,0	b	27,1	±	0,1	a															

Amostra	Marca	Lote	Umidade (%)																			
			0*			1*			2*			3*			4*			5*				
Bolo de laranja	B	1	28,8	±	0,0	a	28,6	±	0,1	b	28,5	±	0,1	b								
		2	29,6	±	0,0	a	29,1	±	0,0	b	29,6	±	0,1	a	29,4	±	0,1	c				
		3	32,6	±	0,1	b	32,8	±	0,1	b	33,1	±	0,1	a	33,0	±	0,1	a				
	A	1	24,4	±	0,2	b	23,1	±	0,1	c	25,2	±	0,2	a	22,5	±	0,1	d				
		2					23,2	±	0,2	a	23,6	±	0,1	a	24,2	±	0,8	a				
		3					26,3	±	0,2	ab	26,5	±	0,1	a	25,8	±	0,4	b				
	B	1	21,3	±	0,1	bc	22,0	±	0,2	a	21,2	±	0,1	bc	21,2	±	0,2	c	21,7	±	0,2	ab
		2									23,0	±	0,2	a	22,0	±	0,1	b	22,3	±	0,1	b
		3	23,0	±	0,2	a	22,8	±	0,3	a	22,7	±	0,4	a	24,1	±	0,5	a	21,1	±	0,9	b
	C	1	23,5	±	0,1	a	20,5	±	0,1	b	21,3	±	0,6	b								
		2	20,9	±	0,6	a	20,8	±	0,1	a	21,5	±	0,3	a								
		3	20,9	±	0,1	a	20,1	±	1,3	a	16,3	±	0,1	b								

*Tempo de estocagem. Para as amostras de macarrão massa seca e macarrão instantâneo, o número refere-se ao mês de análise. Para as demais amostras o número refere-se à quinzena.

ANEXO B - Acidez álcool solúvel em massas alimentícias e bolos.

Amostra	Marca	Lote	Acidez Álcool Solúvel (mL de NaOH 100 g ⁻¹)																			
			0*			1*			2*			3*			4*			5*				
Macarrão	A	1	1,5	±	0,1	^b	1,8	±	0,1	^{ab}	1,5	±	0,0	^b	1,4	±	0,1	^b	2,1	±	0,4	^a
		2	1,7	±	0,2	^b	1,9	±	0,0	^{ab}	1,9	±	0,1	^{ab}	1,7	±	0,1	^b	2,1	±	0,1	^a
		3	1,5	±	0,1	^b	2,1	±	0,1	^a	1,5	±	0,1	^b	1,6	±	0,0	^b	2,1	±	0,2	^a
	B	1	1,5	±	0,1	^{ab}	1,5	±	0,1	^{ab}	1,5	±	0,1	^a	1,4	±	0,1	^b	1,6	±	0,1	^a
		2	1,4	±	0,1	^b	1,7	±	0,1	^a	1,4	±	0,1	^b	1,4	±	0,1	^b	1,6	±	0,0	^a
		3	1,7	±	0,1	^a	1,7	±	0,1	^a	1,6	±	0,2	^a	1,4	±	0,0	^a	1,7	±	0,2	^a
	C	1	2,7	±	0,1	^{ab}	2,8	±	0,1	^a	2,2	±	0,1	^{cd}	2,1	±	0,1	^d	2,5	±	0,1	^{bc}
		2	2,5	±	0,0	^c	3,2	±	0,1	^a	2,1	±	0,2	^b	2,3	±	0,2	^{bc}	2,5	±	0,1	^c
		3	2,2	±	0,1	^c	2,5	±	0,1	^a	1,7	±	0,1	^b	2,1	±	0,1	^c	2,1	±	0,1	^c
Macarrão Instantâneo	A	1	0,6	±	0,1	^a	0,6	±	0,1	^a	0,6	±	0,1	^a	0,5	±	0,1	^a	0,5	±	0,1	^a
		2	0,8	±	0,1	^a	0,7	±	0,1	^{ab}	0,6	±	0,1	^{ab}	0,5	±	0,1	^b	0,5	±	0,1	^b
		3	0,8	±	0,1	^a	0,7	±	0,1	^{ab}	0,6	±	0,1	^{bc}	0,5	±	0,1	^c	0,5	±	0,1	^c

Amostra	Marca	Lote	Acidez Álcool Solúvel (mL de NaOH 100 g ⁻¹)																			
			0*			1*			2*			3*			4*			5*				
Massa de pizza	B	1	0,9	±	0,0	^a	0,8	±	0,1	^a	0,7	±	0,0	^b	0,6	±	0,1	^b	0,6	±	0,1	^b
		2	1,0	±	0,1	^a	0,8	±	0,1	^b	0,7	±	0,1	^{bc}	0,7	±	0,0	^c	0,7	±	0,0	^c
		3	0,9	±	0,1	^a	0,8	±	0,1	^{ab}	0,7	±	0,1	^{bc}	0,6	±	0,1	^c	0,6	±	0,1	^c
	C	1	0,3	±	0,0	^c	0,4	±	0,1	^{ab}	0,5	±	0,0	^a	0,4	±	0,1	^{bc}	0,4	±	0,1	^{bc}
		2	0,3	±	0,1	^b	0,5	±	0,1	^a	0,5	±	0,1	^a	0,4	±	0,0	^b	0,4	±	0,0	^b
		3	0,4	±	0,1	^b	0,5	±	0,1	^a	0,4	±	0,0	^b	0,4	±	0,1	^b	0,4	±	0,1	^b
	A	1	3,2	±	0,1	^a	3,0	±	0,1	^b	3,1	±	0,1	^{ab}								
		2	3,6	±	0,1	^a	3,3	±	0,1	^c	3,4	±	0,1	^c	2,9	±	0,0	^b				
		3	3,5	±	0,1	^b	3,8	±	0,2	^b	4,5	±	0,3	^a	3,3	±	0,0	^b				
B	1	3,5	±	0,2	^a	3,6	±	0,1	^a	3,5	±	0,0	^a	3,2	±	0,0	^b					
	2	3,9	±	0,0	^b	4,6	±	0,1	^a	4,0	±	0,1	^b	3,7	±	0,1	^c					
	3	3,6	±	0,3	^a	3,4	±	0,2	^a	3,8	±	0,0	^a									

Amostra	Marca	Lote	Acidez Álcool Solúvel (mL de NaOH 100 g ⁻¹)																							
			0*				1*				2*				3*				4*				5*			
Massa de pastel	A	1	2,5	±	0,1	^b	0,9	±	0,1	^b	2,9	±	0,3	^b	3,8	±	0,1	^a								
		2	2,0	±	0,1	^a	2,2	±	0,1	^a	1,5	±	0,4	^b												
		3	2,1	±	0,3	^b	2,6	±	0,1	^{ab}	2,5	±	0,4	^{ab}	3,0	±	0,3	^a								
	B	1	2,8	±	0,1	^d	2,9	±	0,1	^{cd}	3,1	±	0,2	^{cd}	3,5	±	0,2	^b	3,1	±	0,1	^c	3,8	±	0,1	^a
		2	5,9	±	0,2	^{ab}	6,0	±	0,1	^{ab}	5,7	±	0,4	^b	5,8	±	0,1	^b	6,6	±	0,4	^a				
		3	1,8	±	0,1	^d	3,1	±	0,1	^b	1,1	±	0,2	^c	1,9	±	0,1	^d	4,3	±	0,3	^a				
	C	1	1,3	±	0,3	^b	2,4	±	0,3	^b	1,4	±	0,3	^b	5,8	±	0,8	^a								
		2	1,2	±	0,1	^b	2,4	±	0,2	^a	1,4	±	0,2	^b												
		3	1,5	±	0,3	^b	2,5	±	0,1	^a	1,4	±	0,3	^b	2,5	±	0,1	^a								
Massa de lasanha	A	1	2,6	±	0,1	^a	2,6	±	0,1	^a	2,7	±	0,1	^a												
		2	2,4	±	0,1	^b	2,3	±	0,1	^b	2,5	±	0,0	^a												
		3	2,2	±	0,1	^b	2,1	±	0,1	^b	2,7	±	0,1	^a												
	B	1	2,8	±	0,1	^a	2,5	±	0,5	^a	3,1	±	0,1	^a												

Amostra	Marca	Lote	Acidez Álcool Solúvel (mL de NaOH 100 g ⁻¹)																			
			0*				1*				2*				3*				4*			
Bolo	A	2	3,0	±	0,1	^b	3,1	±	0,2	^b	3,7	±	0,1	^a								
		3	1,7	±	0,0	^c	2,1	±	0,1	^a	2,0	±	0,1	^{ab}	1,9	±	0,1	^b				
		1	2,3	±	0,1	^a	1,9	±	0,2	^b	1,6	±	0,1	^b	1,6	±	0,1	^b				
		2	2,3	±	0,1	^a	1,4	±	0,1	^c	1,8	±	0,0	^b	1,8	±	0,0					
		3	2,2	±	0,1	^a	1,4	±	0,1	^b	1,3	±	0,1	^b	1,3	±	0,1					
	B	1	2,0	±	0,3	^a	1,3	±	0,1	^b	1,6	±	0,2	^{ab}	1,6	±	0,2	^b	1,6	±	0,1	^{ab}
		2	2,4	±	0,1	^a	1,6	±	0,1	^b	1,6	±	0,1	^b	1,6	±	0,1					
		3	2,1	±	0,3	^a	1,9	±	0,1	^{ab}	1,7	±	0,1	^b	1,7	±	0,1	^b	1,8	±	0,0	^{ab}
	C	1	2,5	±	0,1	^a	1,8	±	0,1	^b	1,8	±	0,0	^b								
		2	2,5	±	0,1	^a	2,0	±	0,1	^b	1,5	±	0,1	^c								
		3	2,2	±	0,1	^a	1,4	±	0,0	^c	1,8	±	0,1	^b								

*Tempo de estocagem. Para as amostras de macarrão massa seca e macarrão instantâneo, o número refere-se ao mês de análise. Para as demais amostras o número refere-se à quinzena.

ANEXO C - Índice de peróxido em macarrão instantâneo.

Amostra	Marca	Lote	Índice de Peróxido (mEq kg ⁻¹)																			
			0*			1*			2*			3*			4*							
Macarrão Instantâneo	A	1	10,3	±	0,5	^a	10,7	±	0,2	^a	10,3	±	0,9	^a	12,0	±	0,5	^a	9,0	±	1,4	^a
		2	5,0	±	0,5	^b	8,0	±	0,5	^{ac}	6,5	±	0,0	^{bc}	8,4	±	0,5	^a	8,6	±	0,5	^a
		3	5,5	±	0,4	^a	6,7	±	0,0	^a	6,8	±	0,1	^a	8,2	±	1,5	^a	8,0	±	1,0	^a
	B	1	5,4	±	1,1	^b	10,2	±	1,1	^a	6,2	±	0,6	^b	9,0	±	0,0	^{ab}	8,4	±	1,1	^{ab}
		2	5,4	±	1,1	^b	8,7	±	1,1	^{ab}	7,5	±	0,1	^{ab}	9,0	±	0,0	^a	8,5	±	1,1	^{ab}
		3	4,0	±	0,1	^a	7,1	±	2,4	^a	5,5	±	0,4	^a	4,8	±	0,5	^a	7,6	±	0,5	^a
	C	1	4,8	±	1,1	^b	9,4	±	0,5	^a	8,2	±	0,7	^a	8,3	±	0,5	^a	8,5	±	0,4	^a
		2	6,2	±	0,4	^b	7,9	±	0,0	^a	6,9	±	0,1	^{ab}	7,2	±	0,4	^{ab}	8,0	±	0,5	^a
		3	7,3	±	1,0	^a	9,1	±	0,5	^a	6,6	±	0,4	^a	8,3	±	0,9	^a	7,9	±	0,0	^a

*Tempo de estocagem, em meses.