

STÉPHANIE BRAGATTO PLANTIER

AVALIAÇÃO DO TEOR DE FERRO EM FARINHAS ENRIQUECIDAS

Assis
2010

STÉPHANIE BRAGATTO PLANTIER

AVALIAÇÃO DO TEOR DE FERRO EM FARINHAS ENRIQUECIDAS

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação.

Orientador: Prof.^a Dr.^a. Rosângela Aguilar da Silva

Área de Concentração: Química

Assis
2010

FICHA CATALOGRÁFICA

PLANTIER, Stéphanie Bragatto

Avaliação do teor de ferro em farinhas enriquecidas / Stéphanie Bragatto Plantier. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA -- Assis, 2010.

46p.

Orientador: Rosângela Aguiar da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1.Ferro. 2.Anemia. 3.Fortificação.

CDD:660
Biblioteca da FEMA

AVALIAÇÃO DO TEOR DE FERRO EM FARINHAS ENRIQUECIDAS

STÉPHANIE BRAGATTO PLANTIER

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, analisado pela seguinte comissão examinadora:

Orientador: Prof.^a Dr.^a Rosângela Aguilar da Silva

Analisador: Prof.^o Ms. Nilson José dos Santos

Assis
2010

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, amigos e a todos, que direta ou indiretamente, me deram força para perseverar e nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

A **JEOVÁ DEUS**, por ter me dado a vida e a capacidade intelectual, a qual consigo usá-la para estudar e compreender melhor suas criações tão magníficas por meio da Química.

Aos meus pais, **ROGÉRIO e SUELI**, por todo amor, compreensão e ajuda que demonstraram ao longo dos meus anos de aprendizagem. Por me ampararem nos momentos difíceis e por toda a paciência nos meus erros (que não foram poucos) e acertos. Por sempre fazerem o máximo para dar o melhor à família, sem nunca pedirem nada em troca. Vocês são meus exemplos de coragem, determinação, perseverança e luta.

À minha irmã **DESIREE**, agradeço pelo companheirismo e amizade de todas as horas, e ao meu irmão **LORENZO**, por toda a alegria que me proporciona.

Aos meus avós **WILSON e APARECIDA** e à minha tia **RÊ** que sempre me apoiaram e a todos da minha **FAMÍLIA** que de alguma forma me ajudaram. Todos vocês fazem parte da minha base, na qual contruí a pessoa que sou hoje.

A todos meus **AMIGOS**, que estão perto ou longe, que me acompanham desde o início ou que chegaram quase no final, mas que me deram força e que estavam do meu lado em dias de risos ou choros, mesmo não aguentando mais ouvirem de provas, exames, trabalhos e do tal TCC. Em especial, meu agradecimento às minhas amigas **RU e TATA**, as quais se mostraram pra mim como disse Salomão em Provérbios 18:24: *“Há companheiros dispostos a se fazerem mutuamente em pedaços, mas há um amigo que se apega mais que um irmão”*.

À minha professora orientadora **ROSÂNGELA**, por ter aceito meu trabalho e pela orientação e ajuda durante o ano inteiro.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação durante esses quatro anos: Cleiton, Ilton, Márcia, Douglas, Bia, Ébano, Martins, Mary, Silvia, Fernando, Nilson, Idélcio, Gilcelene, Aleicho, Rosângela, Elaine e Campanatti. Em especial, meu agradecimento à professora Mary, pela disposição e comprometimento em coordenar o curso de Química Industrial.

Aos amigos que fiz durante esses quatro anos, os quais perseveramos juntos nessa caminhada. Em especial, à **POLYANA**, **KEITTE** e **GABRIEL** que sempre foram companheiros de provas, trabalhos e estiveram comigo nos meus momentos difíceis e nos momentos de conquista.

A todos esses e a todos aqueles não citados, mas que de alguma forma, direta ou indireta, me ajudaram nesses anos e na execução deste trabalho, meu **MUITO OBRIGADA!**

"Quando você tem uma meta, o que era um obstáculo passa a ser uma etapa de um dos planos."

Gerhad Erich Boehme

RESUMO

A anemia ferropriva é a carência nutricional mais comum e que mais afeta a população mundial. A fortificação de alimentos é considerada a medida de melhor custo benefício no combate à anemia e é recomendada para regiões que apresentam prevalência de anemia. A importância das vitaminas e minerais na prevenção de doenças tem motivado a saúde pública a implementar programas de enriquecimento de alimentos. Diante disso, o Ministério da Saúde tornou obrigatória a fortificação das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico por meio da Resolução - RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002 da ANVISA/MS que passou a vigorar a partir de junho de 2004. o objetivo desse trabalho foi analisar ferro, por espectrofotometria em diferentes marcas de farinha de trigo fortificadas e avaliar se os teores encontrados estavam de acordo com a legislação vigente. A análise dos dados referentes a concentração de ferro em amostras de farinha de trigo mostrou que os valores variaram de 2,5 a 3,0 mg/100g de amostra. A legislação vigente estabelece que a concentração de ferro deve ser no mínimo 4,2 mg/100g. Portanto, todas as amostras analisadas estavam em desacordo com a legislação vigente. Uma avaliação criteriosa dos métodos deve ser realizada. Procedimentos de comparação associados a validação de métodos são estratégias que permitem a determinação da precisão, exatidão, limites de quantificação e recuperação do método e são importantes para a definição do método mais adequado à análise de ferro em produtos farináceos.

Palavras-chave: Ferro; Anemia; Fortificação.

ABSTRACT

Iron deficiency anaemia is the most common nutritional deficiency that affects the world population. Food fortification is considered the most cost-effective measure in combating anemia and is recommended for regions with prevalence of anaemia. The importance of vitamins and minerals in preventing disease has prompted public health to implement programs of food fortification. Therefore, the Ministry of Health made it mandatory fortification of wheat and corn flour with iron and folic acid by Resolution - RDC No. 344 of December 13, 2002 ANVISA / MS which took effect from June 2004. The aim of this study was to analyze iron by spectrophotometry in different brands of wheat flour fortified and assess whether the levels were in accordance with current legislation. The analysis of data on the concentration of iron in flour samples showed that the values ranged from 2,7 to 3,0 mg/100 g of sample. Current law provides that the iron concentration should be at least 4,2 mg/100g. Therefore, all samples were in disagreement with the law. A careful evaluation of the methods should be performed. Matching procedures associated with the validation of methods are strategies that allow the determination of precision, accuracy, limits of quantification and recovery of the method and are important for defining the most appropriate method for analysis of iron in farinaceous products.

Keywords: Iron; Anaemia; Fortification.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Estrutura química do ferro heme.....	16
Figura 2	Molécula do Ácido Fítico.....	22
Figura 3	Estrutura química do NaFeEDTA.....	28
Figura 4	Diferença do arroz comum e do arroz ' <i>Golden rice</i> ', à direita.....	29
Figura 5	Reações químicas do experimento.....	33
Figura 6	Soluções-padrão utilizadas para a construção da curva padrão de ferro.....	40
Figura 7	Curva padrão de ferro.....	41
Figura 8	Soluções das amostras de farinha de trigo para análise da concentração de ferro.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Proporções relativas de ferro em adultos jovens saudáveis.....	17
Tabela 2	- Teor de ferro nos alimentos.....	19
Tabela 3	- Ingestão Diária Recomendada.....	20
Tabela 4	- Valores de absorbância da curva-padrão de ferro.....	40
Tabela 5	- Concentração de ferro nas amostras de farinha de trigo.....	41

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO.....	14
2.0	FERRO.....	16
2.1	FUNÇÕES DO FERRO.....	17
2.2	BIODISPONIBILIDADE E FONTES ALIMENTARES.....	18
2.2.1	Fontes alimentares.....	19
2.3	INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA DE FERRO.....	20
2.4	ABSORÇÃO DO FERRO NO ORGANISMO.....	21
3.0	ANEMIA.....	23
3.1	ANEMIA POR DEFICIÊNCIA DE FERRO.....	23
3.1.1	Causas.....	24
3.1.2	Estágios da deficiência.....	24
3.1.3	Prevenção.....	25
4.0	FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS.....	26
4.1	HISTÓRICO.....	26
4.2	FORTIFICAÇÃO COM FERRO.....	27
4.2.1	Fortificação da farinha de trigo e milho.....	27
4.3	POLÍTICAS DE FORTIFICAÇÃO NO BRASIL.....	27
4.4	COMPOSTOS UTILIZADOS NA FORTIFICAÇÃO.....	28
4.5	BIOFORTIFICAÇÃO.....	29
5.0	A QUÍMICA NO ENSINO MÉDIO.....	31
5.1	ESTUDO DO FERRO EM AULAS EXPERIMENTAIS.....	31
5.1.1	Materiais.....	32
5.1.2	Preparo das soluções.....	33
5.1.3	Procedimentos.....	33
5.1.4	Discussão.....	33
6.0	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
6.1	EQUIPAMENTOS.....	35
6.2	MATERIAIS.....	35
6.3	REAGENTES.....	36

6.4	METODOLOGIA.....	37
6.4.1	Solução-padrão de ferro (100 ppm de Fe).....	37
6.4.2	Solução de cloridrato de hidroxilamina.....	37
6.4.3	Solução-tampão de acetato de sódio.....	37
6.4.4	Solução-reagente de orto-fenantrolina.....	38
6.4.5	Obtenção da curva-padrão.....	38
6.4.6	Preparo das amostras.....	38
7.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
8.0	CONCLUSÃO.....	44
	REFERÊNCIAS.....	45

1.0 INTRODUÇÃO

Uma alimentação ideal para o ser humano deveria ser composta de todos os nutrientes necessários para uma dieta equilibrada e acessível a todos (ZANCUL, 2004).

Para uma melhor nutrição, pesquisadores estão desenvolvendo ingredientes e produtos como veículos de bem estar e saúde e, ao mesmo tempo, como prevenção e redução dos riscos de algumas doenças. Os alimentos fortificados têm sido uma das principais estratégias nessa questão (VELLOZO; FISBERG, 2009).

As microdeficiências nutricionais são representadas especialmente pelas carências de vitamina A, ferro e ácido fólico, e são amplamente reconhecidas como um importante problema de saúde e nutrição (LÍBERA et al., 2008).

O ferro é um nutriente essencial necessário para o desenvolvimento normal do sistema hematopoiético e diversos outros processos metabólicos, sendo freqüente sua deficiência em todos os grupos populacionais (LÍBERA et al., 2008).

A anemia é uma das mais comuns doenças que atinge grande parte da população mundial. A sua elevada prevalência é considerada como decorrente da ingestão insuficiente para suprir as necessidades relativamente altas de ferro durante a infância e a idade reprodutiva (LÍBERA et al., 2008). Estudos mostram que metade da população de crianças menores até 5 anos, 20% dos adolescentes e até 30% das gestantes, especialmente em países em desenvolvimento, sofrem dessa doença (KIRA, 2006).

Considerando que no Brasil, a anemia ferropriva é um dos problemas de maior relevância para a saúde pública, muitas estratégias de combate têm sido discutidas. Uma das melhores opções tem sido a fortificação alimentar com ferro, pois possibilita o alcance de todos os níveis sociais, tem baixo custo, rápida aplicação, alta flexibilidade e efetividade (TUMA et al., 2003).

Assim, em 2002, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou uma Resolução onde torna obrigatória a fortificação de farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico, tanto as destinadas ao consumidor, quanto aquelas usadas como matéria-prima pelas indústrias.

O objetivo deste trabalho é determinar a concentração de ferro em diferentes marcas de farinha de trigo, pelo método colorimétrico da orto-fenantrolina e avaliar se o teor de ferro encontrado atende à legislação em vigor.

2.0 FERRO

O ferro é um elemento metálico de transição, com estados de oxidação II e III. Existe em abundância na crosta terrestre, porém tem sua absorção dificultada no organismo humano pelo mecanismo protetor de intoxicação celular (ZANCUL, 2004).

Há mais de um século, o ferro foi reconhecido como um nutriente essencial na dieta alimentar e a sua deficiência ocasiona uma das doenças mais comuns que atinge a população (MAHAN, 2005).

No corpo humano, o ferro é encontrado em dois principais reservatórios: 1. Ferro funcional encontrado na hemoglobina, mioglobina e enzimas; 2. Ferro não funcional armazenado fígado, no baço e na medula óssea. Também é possível classificá-lo em ferro heme, encontrado na hemoglobina, mioglobina e algumas enzimas, que representa cerca de 10% da dieta e o ferro não-heme predominante nos alimentos de origem vegetal, em alguns alimentos de origem animal e nas enzimas não heme e ferritina, representando cerca de 90% da dieta. A figura 1 representa a estrutura química do grupo heme com o ferro no centro do anel porfirínico (MAHAN, 2005; SAMPAIO, 2009).

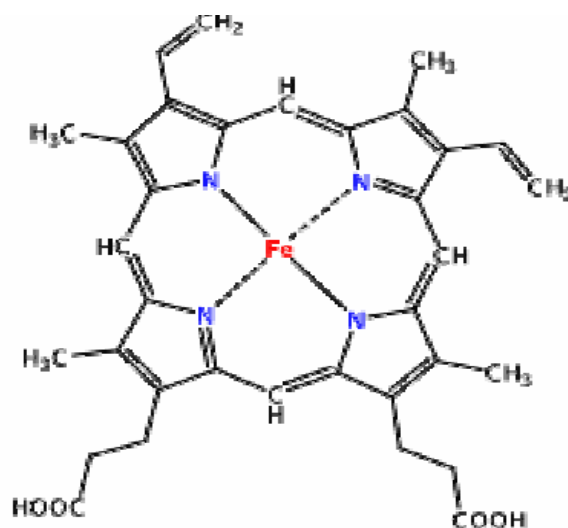


Figura 1 – Estrutura química do ferro heme (In: SAMPAIO, 2009, p.23)

A quantidade de ferro encontrada no organismo varia de acordo com o sexo e idade. Os homens adultos têm cerca de 3,6 g de ferro e as mulheres cerca de 2,4 g. Na tabela 1 é possível observar as proporções relativas de ferro desses reservatórios (MAHAN, 2005).

Cerca de 90% do ferro disponível no corpo é armazenado e reutilizado. Os 10% restantes são eliminados, por isso há a necessidade de uma dieta que reponha o ferro perdido, ou caso contrário, haverá sua deficiência (MAHAN, 2005).

Tipo de ferro	Homens: conteúdo de ferro		Mulheres: conteúdo de ferro	
	mg	%	mg	%
Funcional				
Hemoglobina	2.300	64	1.700	73
Mioglobina	320	9	180	8
Enzimas heme	80	2	60	3
Enzimas não heme	100	3	80	3+
Armazenamento				
Ferritina	540	15	200	9
Hemossiderina	230	6	100	4
Transferina	5	<1	4	<1
TOTAL	3.575	100	2.314	100

Tabela 1- Proporções relativas de ferro em adultos jovens saudáveis (In: MAHAN, 2005)

2.1 FUNÇÕES DO FERRO

O ferro tem um metabolismo complexo, participando de várias funções do

organismo, como “transporte e armazenamento de oxigênio, reações de liberação de energia na cadeia de transporte de elétrons, conversão de ribose e desoxirribose, cofator de algumas reações enzimática entre outras reações metabólicas importantes” (ZANCUL, 2004).

Nos seres humanos, o íon Fe^{2+} é de grande importância, pois está presente no centro de grupos hemes que encontramos na hemoglobina. Esta se combina ao O_2 atmosférico, transportando-o até as células que estão cheias de CO_2 . A partir daí, a hemoglobina libera o O_2 e passa a transportar o CO_2 até os pulmões, onde encontrará novamente O_2 , e irá refazer o processo. Porém esse ciclo pode ser interrompido por substâncias que tem a capacidade de se ligar fortemente ao íon Fe^{2+} , como no caso do monóxido de carbono (CO), não permitindo a troca de CO_2 por O_2 , levando à intoxicação ou até mesmo a morte (MEDEIROS, 2010).

O ferro heme, presente na mioglobina, tem como função reservar oxigênio nas células e enzimas responsáveis pela produção oxidativa de ATP (SAMPAIO, 2009).

Tanto a deficiência de ferro como a sua sobrecarga podem afetar o sistema imune. A sobrecarga pode alimentar alguns tipos de bactérias, e assim aumentar o risco de infecção. As concentrações de linfócitos T (responsáveis pela imunização do organismo) são menores em pessoas com deficiência de ferro. A transferrina e a lactoferrina são duas proteínas que se ligam ao ferro, assim negam o nutriente necessário para a proliferação de alguns microrganismos (MAHAN, 2005).

O ferro também está envolvido nas funções de síntese dos neurotransmissores, bem como da mielina. Isso pode causar efeitos prejudiciais, como mostram estudos feitos com crianças anêmicas, onde tiveram dificuldade no desempenho escolar, na competência sensorio-motora, na atenção, na aprendizagem e na memória comparadas com crianças saudáveis (MAHAN, 2005).

2.2 BIODISPONIBILIDADE E FONTES ALIMENTARES

Biodisponibilidade é a proporção de um nutriente que é digerido, absorvido e metabolizado, para o seu uso ou armazenamento. Por isso, a quantidade total de

ferro em um alimento ou dieta, por exemplo, não representa a quantidade que está biodisponível, ou seja, que será utilizada pelo organismo. Em geral, a biodisponibilidade do ferro na dieta brasileira é baixa, em torno de 1 a 7% (SAMPAIO, 2009).

A biodisponibilidade do ferro nos alimentos é variável. Por exemplo, nos cereais de grãos integrais e em algumas hortaliças verdes, apenas 50% do ferro está disponível na forma utilizável (MAHAN, 2005).

2.2.1 Fontes alimentares

Dentre as principais fontes de ferro, de origem animal, estão o fígado, frutos do mar, rim, coração, carne magra e aves e as de origem vegetal os grãos, como feijão, grão-de-bico, e hortaliças. O leite e seus derivados são os mais desprovidos desse nutriente. A tabela 2 apresenta teor de ferro em alguns alimentos (MAHAN, 2005).

ALIMENTO	PORÇÃO	FERRO (mg)
Fígado bovino	90 gramas	5,8
Ostras cruas	90 gramas	5,5
Melaço	1 colher de sopa	5,0
Espinafre	100 gramas	4,0
Batata	1 grande	3,2
Feijão-comum	½ xícara	2,6
Grão-de-bico	½ xícara	2,4
Leite de soja	1 xícara	1,8
Carne bovina	100 gramas	1,6
Brócolis	100 gramas	1,0

Tabela 2 – Teor de ferro nos alimentos (In: DESPERTAI, 2010; MAHAN, 2005)

Tabela 2 continuação...

ALIMENTO	PORÇÃO	FERRO (mg)
Coxa de frango	85 gramas	1,0
Atum	90 gramas	0,6
Leite	1 xícara	0,1

Tabela 2 – Teor de ferro nos alimentos (In: DESPERTAI, 2010; MAHAN, 2005)

2.3 INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA DE FERRO

Segundo a ANVISA, Ingestão Diária Recomendada (IDR) de ferro é a quantidade de proteínas, vitaminas e minerais que deve ser consumida diariamente para atender às necessidades nutricionais de uma pessoa. A quantidade varia de acordo com idade e sexo do indivíduo, como mostra a Tabela 3.

INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA	
	Ferro mg/dia
Adultos	14
Lactentes (0 – 0,5 anos)	6
Crianças (0,5 – 10 anos)	10
Gestantes	30
Lactantes	15

Tabela 3 – Ingestão Diária Recomendada (In: ANVISA, 2004)

2.4 ABSORÇÃO DO FERRO NO ORGANISMO

O grau de absorção varia de acordo com a dieta e o estado nutricional da pessoa, pois o organismo possui um mecanismo no qual controla a absorção de um mineral para que não ocorra o excesso, nem a falta dele (SAMPAIO, 2009).

A absorção do ferro acontece nas células da mucosa intestinal e depende do tipo de ferro presente, assim como da presença de fatores facilitadores ou inibidores na dieta, e de suas reservas orgânicas. Como já explicado, há dois tipos de ferro, logo duas vias de absorção. O ferro ligado à heme, além de ser bem absorvido, devido a sua alta biodisponibilidade, cerca de 10 a 30%, ajuda na absorção do reservatório de ferro não-heme. O ferro não-heme, no seu estado elementar, pode existir em duas formas: ferro ferroso (Fe^{2+}) e ferro férrico (Fe^{3+}). Geralmente é encontrado sob a forma de complexo férrico, que durante a digestão é parcialmente reduzido para a forma ferrosa, que tem mais fácil absorção, sob a ação do ácido clorídrico, bile e suco pancreático (QUEIRÓZ; TORRES, 2000; SAMPAIO, 2009).

A sua absorção pode ser aumentada por substâncias facilitadoras como carnes, ácidos orgânicos, proteínas, frutose e citrato. No caso da carne, ocorre a liberação de cisteína e de peptídeos que formam quelatos peptídeo-Fe de fácil absorção. O efeito dos ácidos orgânicos, em especial o ascórbico, é devido a sua capacidade de converter o Fe férrico em ferroso, tornando-o solúvel (SAMPAIO, 2009).

Porém há substâncias inibidoras, como alguns minerais (exemplo: zinco, cálcio, manganês), que podem competir com o ferro na sua absorção, fosfatos, taninos, polifenóis e oxalatos, pois formam complexos insolúveis, afetando sua biodisponibilidade (CARVALHO et al., 2006). O principal inibidor é o ácido fítico (figura 2), encontrado em cereais e leguminosas, pois se liga fortemente ao ferro, reduzindo sua absorção. Por ser uma molécula carregada negativamente, com ampla faixa de pH e 12 prótons substituíveis, ela se liga facilmente a íons metálicos, ocorrendo a formação de complexos insolúveis (SAMPAIO, 2009).

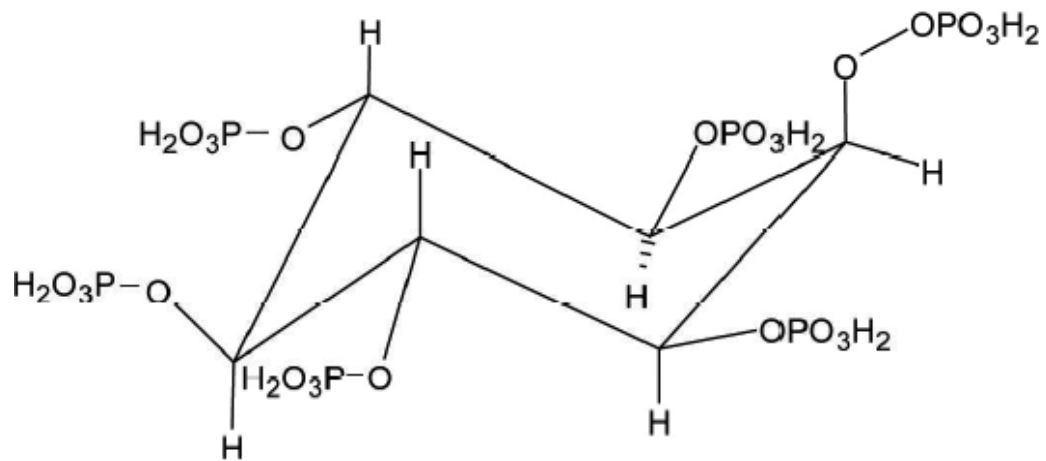


Figura 2 – Molécula do Ácido Fólico (In: SAMPAIO, 2009, p.27)

Após a sua absorção, o ferro pode ser armazenado como ferritina no citoplasma da célula intestinal, podendo retornar ao lúmen intestinal por meio de descamação das células da mucosa (CARVALHO et al., 2006).

Em condições normais, o padrão nutricional de uma dieta seria de 10 a 20 mg de ferro. Apenas 5 a 10% desse ferro ingerido serão absorvidos. Em caso de deficiência, a absorção pode aumentar de 10 a 30% e em caso das reservas estiverem diminuídas ou a eritropoese acelerada os valores chegam de 30 a 50% de absorção (CARVALHO et al., 2006; SAMPAIO, 2009).

3.0 ANEMIA

Define-se a anemia como a biosíntese anormal de hemoglobina, em resultado de carência de um ou mais nutrientes essenciais, e estima-se que dois bilhões de pessoas no mundo sofram desse mal. As anemias podem ser provenientes da escassez de Ferro, Zinco, Vitamina B12 e proteínas. Entretanto, a anemia por deficiência de ferro, ou anemia ferropriva é a mais comum representando cerca de 90% das anemias em geral(CARVALHO et al., 2006; SAMPAIO, 2009).

3.1 ANEMIA POR DEFICIÊNCIA DE FERRO

A anemia por deficiência de ferro é classificada como microcítica, ou seja, que tem produção de eritrócitos pequenos, e tem seu nível de hemoglobina abaixo do normal. Porém, para chegar nesse último estágio, o organismo tem que passar por um longo período de privação de ferro (MAHAN, 2005).

Este tipo de anemia é a mais comum das deficiências nutricionais do mundo. Os grupos mais atingidos pela doença são lactentes, crianças menores de 5 anos e mulheres em idade fértil (CARVALHO et al., 2006).

A deficiência do mineral pode ocasionar fadiga, prejuízo no crescimento e desempenho muscular, desenvolvimento neurológico, bem como distúrbios comportamentais, como: irritabilidade, dificuldade de aprendizado, falta de atenção e interesse, entre outros (CARVALHO et al, 2006)

3.1.1 Causas

Há muitas causas que levam à falta de ferro como: ingestão inadequada de ferro associada à uma dieta precária (como no caso dos vegetarianos, onde há insuficiência de ferro heme); absorção inadequada de ferro decorrente de alguma doença ou medicamentos; necessidade maior de ferro em períodos específicos como infância, adolescência, gravidez e lactação; aumento da excreção por excesso de sangue menstrual; hemorragia por lesões ou doenças; distúrbios crônicos nas reservas ou utilização do ferro, entre outros (MAHAN, 2005).

3.1.2 Estágios da deficiência

A anemia por deficiência de ferro acontece em três estágios:

I - Depleção de ferro: nessa fase as reservas de ferro são baixas e não há disfunção, caso a pessoa seja tratada com ferro o mais rápido possível. Se o balanço de ferro continua negativo, instala-se sua segunda fase;

II – Eritropoiese ferro deficiente: nesse período ocorre a diminuição do ferro sérico, saturação da transferrina abaixo de 16% e elevação da protoporfina. Nessa fase inicia-se a diminuição da capacidade de trabalho;

III – Anemia por deficiência de ferro: o nível de hemoglobina situa-se abaixo dos padrões específicos para cada idade e sexo. Ocorre o aparecimento de disfunções como função muscular inadequada, anormalidades no crescimento, distúrbios epiteliais, redução da imunocompetência, entre outros (QUEIRÓZ; TORRES, 2000; MAHAN, 2005).

3.1.3 Prevenção

A prevenção da anemia pode ser feita com base em quatro tipos de abordagem: educação nutricional, incluindo o incentivo ao aleitamento materno, suplementos medicinais, controle de infecções e a fortificação de alimentos (QUEIRÓZ; TORRES, 2000).

4.0 FORTIFICAÇÃO DE ALIMENTOS

A fortificação de alimentos é um assunto muito discutido há alguns anos, e tem como proposta, corrigir ou atenuar problemas de nutrição e saúde pública (ZANCUL, 2004).

4.1 HISTÓRICO

Em 1974, a Divisão de Alimentação e Nutrição dos Estados Unidos divulgou um documento intitulado “Propostas de Políticas de Fortificação para Cereais”, que trazia condições a serem seguidas para que fosse aprovada a fortificação de alimentos. Alguns anos depois, a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos publicou “Políticas de Fortificação”, que era um guia geral de orientação para a indústria sobre a fortificação com vitaminas e minerais. No Brasil, a regulamentação para a fortificação com micronutrientes, foi divulgada em 2002, pela ANVISA, tornando-se obrigatória a fortificação de farinhas de trigo e milho, com ferro e ácido fólico, a partir de junho de 2004 (ZANCUL, 2004).

Em 2006, a OMS (Organização Mundial da Saúde) e a FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) publicaram as Orientações para Fortificação de Alimentos com Micronutrientes. Nessas orientações são descritos princípios básicos para estratégias de fortificação de alimentos como, os níveis adequados de nutrientes, a estabilidade do fortificante, o alimento veículo da fortificação, a aceitabilidade dos consumidores, entre outros (WHO, 2009).

4.2 FORTIFICAÇÃO COM FERRO

Devido à alta prevalência de anemia por carência de ferro, um dos meios encontrados para se corrigir, erradicar ou prevenir tal doença é a fortificação de alimentos com ferro. Porém, para que a fortificação seja vantajosa, os alimentos utilizados como veículos devem reunir certos requisitos como, por exemplo, ser um alimento amplamente consumido pelos grupos mais atingidos pela deficiência. Os principais alimentos fortificados são os cereais e produtos lácteos, pois são os mais usados desde a infância (ZANCUL, 2004).

4.2.1 Fortificação da farinha de trigo e milho

Mais de 600 milhões de toneladas de farinha de trigo e milho, no mundo, são moídas por ano e consumidas como pães, macarrão e outros produtos. Por isso, a fortificação de farinhas de trigo e milho, é uma estratégia eficaz, simples e barata de suprir às dietas de grandes segmentos da população mundial (WHO, 2009).

4.3 POLÍTICAS DE FORTIFICAÇÃO NO BRASIL

Segundo a Resolução - RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002 da ANVISA/MS, a partir de junho de 2004, tanto as farinhas de trigo e de milho vendidas diretamente ao consumidor, quanto àquelas utilizadas como matéria-prima pelas indústrias, na fabricação de outros produtos, devem ser enriquecidas com ferro e ácido fólico (ANVISA, 2002).

De acordo com essa Resolução, cada 100g de farinha de trigo e de milho deve conter 4,2 mg de ferro e 150 mcg de ácido fólico. Os compostos de ferro que podem ser utilizados na fortificação são: sulfato ferroso desidratado (seco); fumarato ferroso; ferro reduzido – 325 mesh Tyler; ferro eletrolítico – 325 mesh Tyler; EDTA

de ferro e sódio (NaFeEDTA) e ferro bisglicina quelato. Podem ser utilizados outros composto, desde que atendam, no mínimo, o mesmo nível de biodisponibilidade de ferro.

4.4 COMPOSTOS UTILIZADOS NA FORTIFICAÇÃO

Os compostos utilizados na fortificação de ferro podem ser classificados como:

- solúveis em água: sulfato ferroso, gluconato ferroso e lactato ferroso;
- pouco solúveis em água, mas solúveis em ácidos diluídos: fumarato ferroso e succinato ferroso;
- pouco solúveis em água e em soluções ácidas: pirofosfato férrico, ortofosfato férrico e ferro elementar;
- protegidos por compostos: hemoglobina, NaFeEDTA e ferro bisglicina quelato (SAMPAIO,2009).

O sulfato ferroso, uma das formas mais utilizadas, é um composto solúvel em água e tem a maior biodisponibilidade comparado aos outros, sendo que apenas 10 a 20% deste ferro é absorvido. É relativamente instável, podendo reduzir a qualidade do alimento-veículo. Pode provocar oxidação de lipídios, rancidez em farinhas estocadas por longos períodos, alterações indesejáveis em produtos a base de cacau e, freqüentemente, causa sabor metálico em produtos líquidos. É encontrado comercialmente na forma monohidratada ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), bihidratada ($\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), heptahidratada ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e seco (em pó) (SAMPAIO, 2009).

Tanto o ferro reduzido como o eletrolítico, possuem baixo custo e não causa a rancidez, porém têm baixa biodisponibilidade. Já o NaFeEDTA (figura 3) possui muitas vantagens como melhor absorção do que o sulfato ferroso e é estável durante o processamento e estocagem. A maior desvantagem é seu alto custo – quase seis vezes mais caro que o sulfato ferroso (SAMPAIO, 2009).

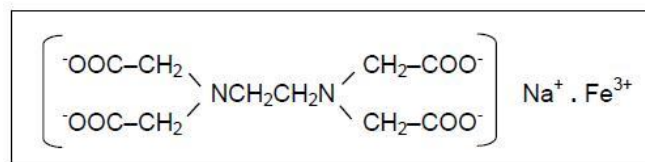


Figura 3 – Estrutura química do NaFeEDTA (In: SAMPAIO, 2009, p.35)

4.5 BIOFORTIFICAÇÃO

A biofortificação é uma nova área de estudos, da engenharia genética, que pode representar um novo e importante papel na redução de deficiências de micronutrientes. Esta técnica consiste em adicionar os micronutrientes na semente dos alimentos, sem modificar sua aparência, gosto ou textura. Assim, os alimentos biofortificados podem ser usados na alimentação direta, bem como, na produção de alimentos enriquecidos (ZANCUL, 2004).

Nas Filipinas, já está sendo produzidas sementes de arroz biofortificadas com ferro. Na Alemanha, introduziram β -caroteno no endosperma do arroz para a produção do chamado “*Golden Rice*” (figura 4), destinado à venda em países com deficiência em vitamina A. Na Uganda, a batata-doce “laranja”, como é conhecida, é enriquecida com vitamina A e é um dos principais alimentos em regiões muito pobres e sem acesso a alimentos industrializados (ZANCUL, 2004).



Figura 4 – Diferença do arroz comum e do arroz ‘Golden rice’, à direita (In:goldenrice.org)

A estratégia da biofortificação é cientificamente possível, efetiva e complementar a outros métodos que ajudam na erradicação de deficiências nutricionais (ZANCUL, 2004).

5.0 A QUÍMICA NO ENSINO MÉDIO

A maioria dos alunos tem certo preconceito quanto à aula de Química, pois a associam com a memorização da tabela periódica ou de longos conteúdos teóricos, que não têm muita ou nenhuma ligação com seu dia-a-dia. Por isso, a aplicação de aulas práticas envolvendo assuntos conhecidos para explicar tais conteúdos, tem sido bem sucedida (ROCHA et al. , 2010).

Pode-se afirmar que a experimentação é importante na atividade pedagógica porque dá sentido aos conceitos químicos vistos em sala de aula. Assim, cabe ao professor a preparação de um plano de aula que tenha o intuito de ajudar os alunos a compreender a matéria por meio de inter-relações entre a teoria e a prática (SALVADEGO; LABURÚ, 2009).

Salvadego e Laburú (2009) ainda afirmam que uma aula experimental bem sucedida não está ligada à sua sofisticação, mas sim à sua organização, discussão e análise.

O ferro é um ótimo assunto a ser discutido em sala de aula para conscientização dos alunos da sua importância na dieta humana, devido à grande população atingida por anemia.

5.1 ESTUDO DO FERRO EM AULAS EXPERIMENTAIS

Eleotério et al. (2007) propõem uma atividade com materiais simples, de baixo custo e utilizados no cotidiano dos alunos, para identificar o íon ferro em medicamentos. O professor pode propor aos alunos um estudo sobre reações químicas, separação de misturas e identificação de um elemento químico. A aula proposta por Eleotério et al. (2007) está descrita abaixo.

5.1.1 - Materiais

- 3 béqueres de 50 mL (ou copo descartável);
- 3 béqueres de 100 mL (ou copo descartável);
- 4 seringas descartáveis de 10 mL;
- 1 seringa descartável de 5 mL;
- Almofariz e pistilo;
- 2 tubos de ensaio;
- 1 bastão de vidro (ou palito de churrasco);
- 1 espátula (ou colher de chá);
- 1 funil (ou coador de café);
- Papel de filtro (ou papel para coar café);
- Estilete;
- Balança simples;
- Água;
- Sulferrol® (ou Vitafer® ou Perfer®);
- Solução de hidróxido de sódio 1,0 M (ou soda cáustica comercial);
- Solução de ácido clorídrico 1,0 M (ou ácido muriático comercial);
- Solução de água oxigenada 10 V (ou água oxigenada comercial).

5.1.2 Preparo das soluções

- Solução A de ácido clorídrico 1,0 M: Em um béquer de 100 mL, adicione 50 mL de água e em seguida, vagarosamente, adicione 8 mL de ácido clorídrico concentrado. Mexa com o bastão de vidro e complete com água para o volume de 100 mL.
- Solução B de hidróxido de sódio 1,0 M: Em um béquer de 100 mL, dissolva 4g de hidróxido de sódio em 50 mL de água. Mexa até dissolução e complete o volume para 100 mL.

5.1.3 Procedimentos

Com o estilete, remover a película protetora de 2 drágeas do medicamento e com auxílio do almofariz e pistilo, triture-os. Pesar em béquer de 50 mL, 0,7 g do medicamento triturado (equivalente a uma colher das de café) e em seguida, adicionar 10 mL da solução de ácido clorídrico e mexer. Acrescente 10 mL de água oxigenada e filtre a solução. Descartar o resíduo sólido. Do líquido filtrado, medir 2 mL e transferir para um tubo de ensaio e adicionar 10 mL da solução de hidróxido de sódio. Observar a formação de um precipitado de cor marrom-avermelhado.

5.1.4 Discussão

O professor pode começar pedindo aos alunos que observem a bula do medicamento para a identificação do princípio ativo sulfato ferroso e a quantidade existente em cada drágea. Em seguida, explicar com reações químicas (figura 5) o que aconteceu no experimento, onde a adição de ácido clorídrico no medicamento dissolve o sulfato ferroso e ocorre a liberação dos íons Fe^{2+} . Com a adição da água oxigenada e o hidróxido de sódio, os íons de ferro(II) são oxidados a ferro(III),

surgindo assim a coloração avermelhada.

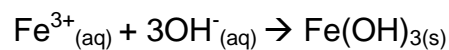
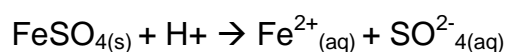


Figura 5 – Reações químicas do experimento (In: Adaptada de ELEOTÉRIO et al., 2007, p.38-39)

Para finalizar, pode-se comentar sobre a ação do medicamento no organismo e sobretudo, a importância do ferro para uma boa saúde.

6.0 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 - EQUIPAMENTOS

- Espectrofotômetro FEMTO 700 plus
- Balança analítica TECNAL AG 200
- Mufla Quimis
- Chapa aquecedora
- pHmetro
- Bico de Bunsen
- Dessecador

6.2 - MATERIAIS

- Béqueres de 100, 250 e 500 mL
- Balões volumétricos de 50, 100, 500 e 1000 mL
- Barra magnética
- Bureta de 25 mL
- Funil
- Pipetas graduadas de 2, 4 e 10 mL

- Pipeta volumétrica de 10 mL
- Proveta de 100 mL
- Bastão de vidro
- Cadinhos de porcelana

6.3 REAGENTES

- Acetato de Sódio anidro
- Ácido acético glacial
- Ácido clorídrico
- Ácido nítrico
- 1,10 – Fenantrolina
- Cloridrato de hidroxilamina
- Sulfato ferroso amoniacal hexahidratado
- Água deionizada
- Farinha de trigo

6.4 METODOLOGIA

6.4.1 Solução-padrão de ferro (100 ppm de Fe)

Pesou-se 0,702 g de sulfato ferroso amoniacal hexahidratado em um béquer de 50 mL, dissolveu-se em 50 mL de água deionizada e transferiu-se para um balão de 1000 mL. Em seguida, adicionou-se 5 mL de ácido sulfúrico e completou-se o volume com água deionizada (IAL, 2008).

6.4.2 Solução de cloridrato de hidroxilamina

Pesou-se 10 g de cloridrato de hidroxilamina e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL. Completou-se o volume com água deionizada (IAL, 2008).

6.4.3 Solução-tampão de acetato de sódio

Pesou-se 125 g de acetato de sódio e dissolveu-se em 75 mL de água deionizada, em béquer de 250 mL. Sob agitação e aquecimento, adicionou-se lentamente cerca de 200 mL de ácido acético glacial até que o pH atingisse o valor de 4,3. Transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se com água deionizada. Após resfriamento, transferiu-se para frasco de vidro âmbar e armazenou-se em geladeira (IAL, 2008).

6.4.4 Solução-reagente de orto-fenantrolina

Pesou-se 1 g de 1,10-Fenantrolina e dissolveu-se em 100 mL de água, sob agitação e aquecimento. Transferiu-se para um balão volumétrico de 1000 mL e completou-se o volume com água deionizada (IAL, 2008).

6.4.5 Obtenção da curva-padrão

Pipetou-se 10 mL da solução-padrão 100 ppm de Fe e transferiu-se para um balão de 100 mL , completando o volume com água deionizada. Esta solução trabalho contém 10 mg/L de Fe. A partir desta solução preparou-se soluções-padrão contendo 0; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg/L de ferro, adicionando 0; 2,0; 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mL, da solução-estoque, em balões volumétricos de 50 mL (figura 6). Completou-se com água deionizada. Transferiu-se cada uma das soluções para béqueres de 100 mL e adicionou-se 4 mL de HCl 50% e 1 mL da solução de hidroxilamina. Levou-se à chapa elétrica para fervura até que se reduzisse o volume a 15 ou 20 mL. Deixou-se em repouso até temperatura ambiente e adicionou-se, em seguida, 10 mL da solução-tampão de acetato de sódio e 2 mL da solução de orto-fenantrolina. Transferiram-se cada mistura para um balão volumétrico de 50 mL, lavando as paredes dos béqueres e completando o volume do balão com água deionizada. Após homogeneização, os balões ficaram em repouso por 15 minutos até completo desenvolvimento da cor. Em seguida, mediu-se a absorvância de cada solução, em espectrofotômetro, utilizando comprimento de onda igual a 510 nm (IAL, 2008).

6.4.6 Preparo das amostras

Foram selecionadas três marcas diferentes de farinha de trigo enriquecida, respectivamente A, B e C. Pesaram-se 10,000 g de cada amostra e foram

calcinadas em bico de bunsen e deixadas em mufla a 550 °C por 4 horas. Adicionou-se 2 mL de ácido nítrico concentrado e retornou-se à mufla por mais 4 horas, até obtenção de cinzas. Dissolveu-se as cinzas com 1 mL de ácido clorídrico e colocou-se em chapa aquecedora até total dissolução. Filtrou-se a solução para balões de 50 mL e completou-se o volume com água destilada. Em seguida, transferiu-se para béqueres de 100 mL, nos quais foram adicionados 1,5 mL de ácido clorídrico 50% e 1 mL da solução de hidroxilamina e colocadas em fervura até o volume de 15 mL. Após resfriamento para temperatura ambiente, transferiu-se as amostras para balões de 50 mL, adicionou-se 2 mL de solução de fenantrolina e 5 mL da solução-tampão e completou-se o volume com água destilada. Após 15 minutos de repouso, as absorvâncias foram lidas no espectrofotômetro em 510 nm (IAL, 2008).

7.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As soluções-padrão utilizadas para a construção da curva padrão podem ser visualizadas na figura 6:

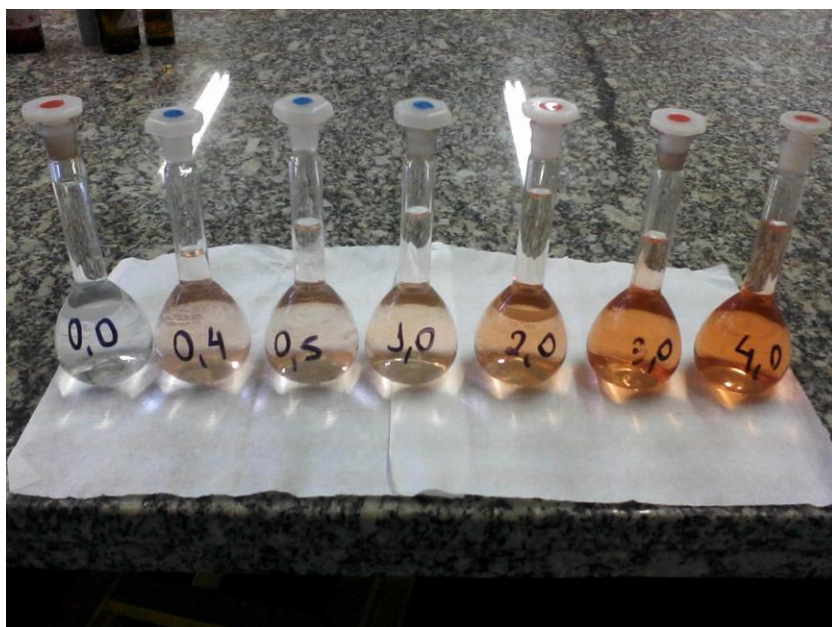


Figura 6 – Soluções-padrão utilizadas para a construção da curva padrão de ferro

Os valores das absorbâncias obtidos por meio da leitura espectrofotométrica, são apresentados na tabela 4.

Concentração (ppm)	Absorbância
0,0 (branco)	0,000
0,4	0,047
0,5	0,051
1,0	0,066
2,0	0,146
3,0	0,242
4,0	0,300

Tabela 4 – Valores de absorbância da curva padrão de Ferro

Com os resultados das absorbâncias das soluções-padrão utilizando programa Excel, construiu-se a curva padrão com base na absorbância e na concentração de ferro, expressa em mg/L. A curva padrão, a equação da reta e r^2 podem ser visualizadas na figura 7.

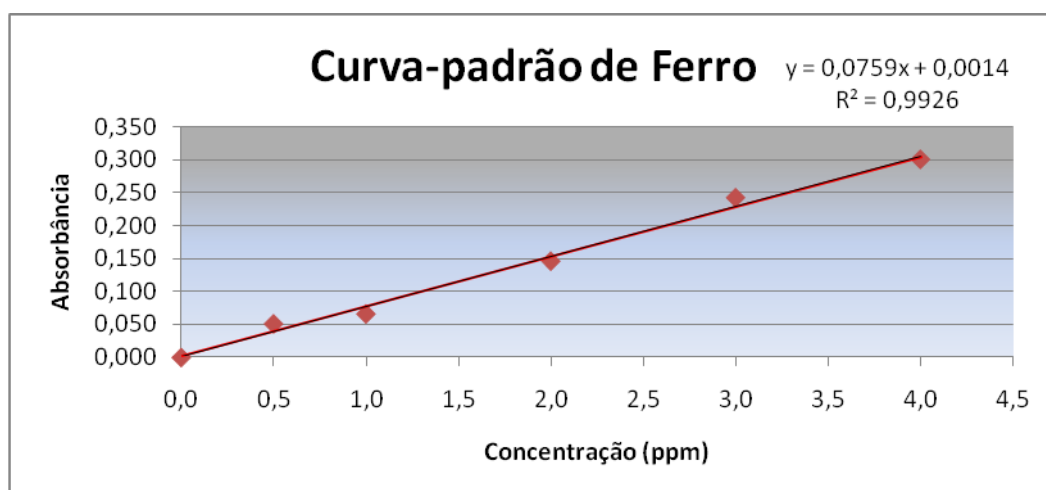


Figura 7 – Curva padrão de ferro (mg/L)

As soluções das amostras de farinha de trigo para análise da concentração de ferro são apresentadas na figura 8.



Figura 8 – Soluções das amostras de farinha de trigo para análise da concentração de ferro

Os resultados das análises das farinhas de trigo de 3 marcas diferentes denominadas “A”, “B” e “C” são apresentadas na tabela 5

Amostra	mg de ferro / 100 g de farinha
A	2,7
B	2,5
C	3,0

Tabela 5 – Concentração de ferro em amostras de farinha de trigo

A análise dos dados referentes a concentração de ferro em amostras de farinha de trigo mostrou que os valores variaram de 2,5 a 3,0 mg/100g de amostra. A legislação específica para esse produto estabelece que a concentração de ferro deve ser no mínimo 4,2 mg/100g. Portanto, todas as amostras analisadas estavam em desacordo com a legislação vigente.

Os valores encontrados nas análises podem indicar adição insuficiente de ferro no processo de fortificação. A ocorrência de erro em alguma etapa do procedimento experimental também é uma hipótese que deve ser considerada, uma vez que antes da medida espectrofotométrica, ocorrem várias etapas desde o preparo da amostra até a obtenção das cinzas e posterior isolamento do ferro na forma desejada para a medida.

Diversas metodologias de análise têm sido empregadas para a determinação de ferro nas mais diversas matrizes, sendo a espectrofotometria na região do visível, a técnica mais simples, rápida e econômica para determinação de ferro numa ampla gama de amostras. Entretanto, no que se refere à análise de ferro em farináceos, o tempo dispensado ao preparo da amostra para a análise torna o sistema pouco atraente (DUTRA et al., 2008).

8.0 CONCLUSÃO

O ferro é um nutriente essencial necessário para o desenvolvimento normal do sistema hematopoiético e diversos outros processos metabólicos.

A identificação dos grupos de risco, o desenvolvimento de medidas preventivas e intervencionistas, como a suplementação nutricional, fortificação de alimentos e o estímulo à alimentação saudável e diversificada, representam fortes aliados no combate aos estados carenciais de ferro a médio e longo prazo (LÍBERA et al., 2008) .

Uma avaliação criteriosa dos métodos deve ser realizada. Procedimentos de comparação associados a validação de métodos são estratégias que permitem a determinação da precisão, exatidão, limites de quantificação e recuperação do método e são importantes para a definição do método mais adequado à análise de ferro em produtos farináceos.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Ministério da Saúde. **Consulta Pública nº80, de 13 de dezembro de 2004**. Disponível em <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8989-1-0%5D.PDF>> acesso em: 13/07/2010.

ANVISA. Ministério da Saúde. **Resolução-RDC nº 344 de 13 de dezembro de 2002**. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1679>>. Acesso em 15/04/2010.

CARVALHO, Miriam Corrêa; BARACAT, Emílio Carlos Elias; SGARBIERI, Valdemiro Carlos. **Anemia ferropriva e anemia de doença crônica: distúrbios do metabolismo de ferro**. Segurança alimentar e nutricional, Campinas, v. 13, n.2, p.54-63, 2006.

DESPERTAI. Revista Despertai. **O projeto maravilhoso da molécula de hemoglobina**. Setembro de 2010, p. 26-27.

ELEOTÉRIO, Izabel Cristina; KIILL, Keila Bossolani; SENE, Jeosedaque José de; FERREIRA, Luiz Henrique; HARTWIG, Dácio Rodney. **Experimentos para a identificação de íons ferro em medicamentos comerciais**. Química Nova na Escola, n.26, nov, p. 37-39, 2010.

GOLDEN RICE. Disponível em <<http://goldenrice.org>> Acesso em: 13/07/2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físicos e químicos para análises de alimento**. 4ª Ed, São Paulo, p. 359 – 361, 2008.

KIRA, Carmen Silva; BUZZO, Márcia Liane; CARVALHO, Maria de Fátima Henrique; DURAN, Maria Cristina; SAKUMA, Alice Momoyo. **Avaliação dos teores de ferro em farinhas fortificadas**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, p. 181-185, 2006.

LÍBERA, Beatriz Della; SOUZA, Gisele Gonçalves de; PADILHA, Patrícia de Carvalho; LEITE, Patrícia Martins; SAUNDERS, Cláudia; ACCIOLY, Elizabeth. **Estratégias de combate às microdeficiências no grupo materno-infantil**. Revista Brasileira de Nutrição Clínica, v. 23, n.3, jul.-set., p. 190 – 198, 2008.

MAHAN, L. Kathleen; ESCOTT-STUMP, Sylvia. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**, São Paulo: Roca, 2005, p. 130 -137; 799-807.

MEDEIROS, Miguel de Araújo. **Ferro**. Química Nova na Escola, v.32, n.3, ago, p.208-210, 2010.

QUEIRÓZ, Suzana de Souza; TORRES, Marcos A. de A. **Anemia ferropriva na infância**. Jornal de Pediatria, v.76, n.3, p. 298-304, 2000.

ROCHA, Maria tereza Lobianco; DONATO JUNIOR, Giuseppe Francesco Antonio; OLIVEIRA JUNIOR, Gilson Irineu de; MESSEDER, Jorge Cardoso. **Sugestão de**

abordagem para o ensino de ciências: o uso de um seriado de TV. Revista Ciências & Idéias, v.1, n.2, abr.-set., p. 1-12, 2010.

SALVADEGO, Wanda Neves Cocco; LABURÚ, Carlos Eduardo. **Uma análise das relações do saber profissional do professor do ensino médio com a atividade experimental no ensino de química.** Química Nova na Escola, v.31, n.3, ago., p. 216-223, 2009.

SAMPAIO, Camila Ramos Pinto. **Desenvolvimento e estudo das características sensoriais e nutricionais de barras de cereais fortificadas com ferro.** Dissertação (Mestrado) – Setor de Tecnologia – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2009.

TUMA, Rahilda Brito; YUYAMA, Lucia Kiyoko Ozaki; AGUIAR, Jaime Paiva Lopes; MARQUES, Hedylamar Oliveira. **Impacto da farinha de mandioca fortificada com ferro aminoácido quelato no nível de hemoglobina de pré-escolares.** Revista de Nutrição, v.16, n.1, jan./mar., p. 29 – 39, 2003.

VELLOZO, Eliana P.; FISBERG, Mauro. **A contribuição dos alimentos fortificados na prevenção da anemia ferropriva.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v.32, n.2, maio, p. 140-147, 2010.

ZANCUL, Mariana de Senzi. **Fortificação de alimentos com ferro e vitamina A.** Medicina, Ribeirão Preto, v.37, jan.-jun., p. 45-50, 2004.

WHO. **Recommendations on wheat and maize flour fortification. Meeting Report: Interim Consensus Statement.** Geneva, World Health Organization, 2009. Disponível em: <http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/wheat_maize_fort.pdf>, Acesso em: 10/07/2010.