

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CAMPUS CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA – PGEAGRI**

RAQUEL GORETI ECKERT

**SEGURANÇA ALIMENTAR DE PRODUTOS DERIVADOS DE MILHO CONSUMIDOS EM
CASCAVEL-PR**

**CASCAVEL
2011**

RAQUEL GORETI ECKERT

**SEGURANÇA ALIMENTAR DE PRODUTOS DERIVADOS DE MILHO CONSUMIDOS EM
CASCAVEL-PR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Agrícola, Área de concentração Sistemas Agroindustriais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE.

Orientador: Dr. Divair Christ

CASCAVEL

2011

Eckert, Raquel Goreti

E19 Segurança alimentar de produtos derivados de milho consumidos em Cascavel-PR. / Raquel Goreti Eckert. – Cascavel, 2011.
60f.

Orientador: Prof. Dr. Divair Christ.
Dissertação(Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Cascavel.

Revisora: Dhandara Soares de Lima.

1. Milho - Alimento. 2. Aflatoxina. 3. Milho - Produtos. 4. Milho – Características nutricionais. 5. *Zea mays* L. I. Christ., Divair. II. Título.

CDD – 664.07

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Unioeste
(Sandra Regina Mendonça CRB – 9/1090)

TERMO DE APROVAÇÃO

RAQUEL GORETI ECKERT

SEGURANÇA ALIMENTAR DE PRODUTOS DERIVADOS DE MILHO CONSUMIDOS EM CASCAVEL-PR

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *campus* Cascavel, pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Dr. Divair Christ
Orientador

Prof^a. Dra. Janesca Alban Roman

Prof^a. Dra. Rozane Aparecida Toso Bleil

Prof^a. Dra. Silvia Renata Machado Coelho

Cascavel, 08 de julho de 2011.

BIOGRAFIA RESUMIDA

Raquel Goreti Eckert nasceu em 14 de agosto de 1985 no município de Cascavel – Paraná, filha de Fernando Rogério Eckert (*in memoriam*) e Neusa Terezinha Bayer Eckert. Estudou desde o pré II até a quarta série na Escola Sagrada Família e, posteriormente, no Colégio Estadual Marilis Faria Pirotelli, onde concluiu o segundo grau em 2002. No ano seguinte, ingressou na Faculdade Assis Gurgacz – FAG, Cascavel-PR, onde se graduou em Nutrição, no ano de 2006. Trabalhou durante cinco anos (2003 a 2008) como técnica do Laboratório de Controle de Qualidade – LCQ da Pronabel Laboratório Industrial, situada no município de Cascavel-PR. Em 2008 especializou-se em Segurança de Alimentos na Universidade Panamericana de Ensino – UNIPAN, Cascavel-PR, tendo como Trabalho de Conclusão de Curso “Qualidade físico-química do leite UHT, pasteurizado e cru, comercializados em Cascavel-PR”. Em 2009 ingressou como aluna regular, bolsista CNPQ, no Mestrado em Engenharia Agrícola – Unioeste, *campus* Cascavel. Em agosto de 2009, adquiriu vínculo empregatício no Hospital do Câncer de Cascavel – UOPECCAN, onde passou a atuar como nutricionista. Em 2011 concluiu a Especialização em Nutrição Clínica na Faculdade Assis Gurgacz – FAG, Cascavel-PR, tendo como Trabalho de Conclusão de Curso “Atenção Multiprofissional a crianças e adolescentes atendidos na oncopediatria de uma instituição em Cascavel-PR”. No mesmo ano concluiu o Aprimoramento em Nutrição e Câncer pelo Instituto Adriana Garófolo – IAG, São Paulo-SP. Atualmente atua como nutricionista responsável técnica pelo Serviço de Nutrição e Dietética da UOPECCAN.

*“Impossível não é uma palavra...
é apenas uma razão para alguém não tentar!”*

Kutless

DEDICATÓRIA

Ao meu paizinho Rogério (*in memoriam*),
pelo apoio e incentivo para que
este sonho se concretizasse!
[Saudades eternas!]

À minha mãezinha Neusa,
por tranquilizar-me e dizer palavras doces,
todas as vezes que eu pensei em desistir...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sabedoria, paciência, saúde e graças recebidas...

Ao professor Divair Christ um agradecimento especial: pelo tempo dedicado, pelas valiosas orientações, por incentivar-me a concluir este trabalho apesar das inúmeras dificuldades que encontramos pelo caminho...

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola (PGEAGRI), por acolher e acreditar na proposta de trabalho de um profissional graduado em área tão distante das Ciências Agrárias...

À professora Silvia Coelho, pelo auxílio na execução das análises laboratoriais...

Aos professores do programa, responsáveis pelas disciplinas que serviram de alicerce para a conclusão deste trabalho...

Aos meus incansáveis anjinhos, Adriana e Aline, pelo apoio imensurável durante toda a coleta de dados deste trabalho... Com toda a certeza sem o auxílio de vocês este trabalho não teria sido concluído...

À minha colega e amiga Ariane, pelo auxílio nas análises microbiológicas, pelas conversas, pelos desabafos... Você é muito especial e merece todo o sucesso do mundo!

A diretoria, gerências geral e administrativa da Uopeccan, por permitirem minha ausência na instituição em vários momentos, quando me dedicava à execução deste trabalho...

Aos meus pais, Rogério (*in memoriam*) e Neusa, pelo amor, zelo, carinho, atenção e incentivo... Tudo o que sou e ainda serei devo a vocês!

Aos meus irmãos Va e Rê, pelo apoio, pelas orações e pelo incentivo...

Ao Jonnyinho, pela compreensão e apoio nos inúmeros momentos em que os compromissos da faculdade nos distanciaram...

Aos meus tios, tias, primos, primas e demais familiares, que mesmo de longe sempre estiveram presentes nesta caminhada...

À “galerinha” Uopecan (Laisa, Giovana, Simone), pelo apoio e incentivo, pelos puxões de orelha, pelas broncas quando não comparecia às reuniões da faculdade... Vocês são muito especiais; agradeço a Deus imensamente por ter colocado vocês no meu caminho...

Às minhas “meninhas” da copa (Uopecan), por cuidarem da “nossa casa” e pacientes com todo zelo e carinho durante minhas ausências..

Sou eternamente grata a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para que o dia de hoje finalmente chegasse!!

SEGURANÇA ALIMENTAR DE PRODUTOS DERIVADOS DE MILHO CONSUMIDOS EM CASCAVEL-PR

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) contribui de forma significativa para a alimentação do ser humano, em virtude de suas características nutricionais. Em contrapartida, estas mesmas características também favorecem o crescimento de determinados fungos, os quais, durante seu metabolismo secundário, produzem compostos tóxicos denominados micotoxinas. Dentre as micotoxinas encontradas com maior frequência em grãos de milho e produtos derivados, estão as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, classificadas como substâncias carcinogênicas para o ser humano e também para animais. Considerando a diversidade de subprodutos oriundos deste grão, e que a maioria está presente diariamente na mesa da população brasileira, este trabalho teve por objetivo avaliar a segurança alimentar de produtos derivados de milho comercializados no município de Cascavel – Paraná, com ênfase em identificar o risco de exposição desta população às aflatoxinas. Inicialmente foi realizado um inquérito populacional para verificar quais são os produtos derivados de milho mais consumidos no município de Cascavel – Paraná, por meio da aplicação de um questionário à população deste município, estratificada em quatro categorias: crianças (2 a 9 anos), adolescentes (10 a 18 anos), jovens/adultos (19 a 59 anos) e idosos (60 anos ou mais). O município foi dividido em cinco quadrantes geográficos (leste, oeste, norte, sul e centro), e em cada uma das regiões foi selecionado, de maneira aleatória, um supermercado de grande porte, definido então como o local para aplicação dos questionários. Após a finalização do inquérito populacional, foram coletadas quatro amostras de cada um dos três produtos derivados de milho mais consumidos no município. Estas amostras foram submetidas a testes de qualidade microbiológica (contagem de fungos), físico-química (umidade, cinzas, acidez, teor de proteínas e lipídios) e toxicológica (identificação e quantificação de aflatoxina B1, B2, G1 e G2). Após o término destas análises, estimou-se a Ingestão Diária Provável Média (IDPM) para AFB1, com o objetivo de verificar se a população estava exposta aos malefícios ocasionados pela ingestão deste composto. A partir do inquérito populacional, identificou-se que os produtos derivados de milho mais consumidos no município eram o fubá, a pipoca e o amido de milho. Os ensaios microbiológicos realizados nestas amostras não puderam ser analisados como parâmetro indicador de qualidade destes produtos, tendo em vista a ausência de uma legislação em vigência quanto a este aspecto, porém, salienta-se que nas culturas de fubá foram visualizadas culturas semelhantes a leveduras, enquanto que, nas culturas de pipoca, verificou-se a presença de colônias de fungos semelhantes ao gênero *Aspergillus*. Os ensaios físico-químicos identificaram que todas as amostras estavam adequadas para o consumo humano, quanto aos aspectos avaliados. Quanto à presença de aflatoxinas, o subgrupo B1 foi detectado somente em uma amostra de amido de milho, na concentração de 1 µg/kg, ou seja, quantidade inferior ao limite preconizado pela legislação vigente. Na análise de risco, estimou-se a IDPM de AFB1 para todas as categorias populacionais analisadas, e o público identificado como eminentemente em risco foram as crianças, com IDPM variando de 0,0963 a 0,1438 ng/kg peso corpóreo/dia. Concluiu-se que, mesmo em populações que adquiram produtos com baixa incidência e quantidade de aflatoxinas, o risco quanto aos malefícios deste composto deve ser periodicamente observado, tendo em vista que neste estudo apenas uma amostra foi positiva para AFB1, entretanto, a IDPM para as crianças foi considerada limítrofe.

Palavras-chave: Aflatoxina; Inquérito alimentar; Análise de risco.

FOOD SAFETY OF CORN DERIVATES CONSUMED IN CASCAVEL-PR

ABSTRACT

Corn (*Zea Mays L.*) contributes significantly to the human being nourishment because of its nutritional characteristics. However, these characteristics also support fungus growing, which during their secondary metabolism produce toxic substances, named mycotoxins. Among mycotoxins, found more frequently in corn grains and derived products, aflatoxins B1, B2, G1 and G2 can be found and are also rated as cancer developers for human beings, as well as animals. Considering the diversity of sub products from this grain and that most of them is daily on the table of the Brazilian population, this research has the goal of evaluating the safety of corn derivates traded in the city of Cascavel – Paraná, focusing on identifying the risk of the population's exposition to aflatoxins. Initially, a population survey was done to check which corn derivates products are the most consumed in the city of Cascavel – Paraná, through the application of a questionnaire to the population, stratified into four categories: children (between 2 to 9 years old), teenagers (between 10 to 18 years old), young adults (between 19 to 59 years old) and elderly (above 60 years old). The city was divided into five geographical parts: East, West, North, South and downtown, and in each one of the regions one large supermarket was selected randomly and defined as the place to apply the questionnaires. After carrying out this survey, four samples of each one of the three most consumed corn products were collected. Collection was done every 15 days at the chosen supermarkets. Such samples were submitted to microbiological quality (fungus scoring) physical chemical (moist, ashes, acidity, proteins and lipids levels) and toxicological (identification and quantification of aflatoxins B1, B2, G1 and G2) tests. After finishing these analyses, the likely daily ingestion for AFB1 was estimated with the goal of checking if population was exposed to harms caused by these substances. From the population survey, it was observed that the most consumed corn derivates in the city were corn flour, popcorn and corn starch. Microbiological tests performed in those samples couldn't be analyzed as a pattern indicating quality in the products, considering the absence of a current legislation on this aspect. However, it was observed cultures similar to yeasts in the corn flour harvests whereas fungi similar to genus *Aspergillus* were noticed in popcorn cultures. Physical chemical tests identified that all samples were suitable to human consumption, considering the evaluated aspects. As for aflatoxins presence, subgroup B1 was detected only in one sample of corn starch, under concentration of 1 µg/kg, or in an amount under the limit recommended to current legislation. In risk analyses, an IDPM of AFB1 was estimated to all population categories and the people category identified as eminently in risk were children, with IDPM varying from 0,0963 t 0,1438 ng/kg body weight/day. The conclusion was that even the population layers that acquired products with low aflatoxins incidence and amount, the risk regarding harms of this substance must be periodically checked, considering that in this research only one sample was positive for AFB1. However, IDPM for children was considered going nearly beyond limit.

Keywords: Aflatoxin; Food Inquiry; Risk analysis.

SUMÁRIO

Lista de tabelas	xi
Lista de figuras	xiii
1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	02
2.1 Objetivo geral	02
2.2 Objetivos específicos	02
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
3.1 Milho	03
3.1.1 Estrutura anatômica	03
3.1.2 Características nutricionais	04
3.1.3 Aspectos econômicos	05
3.1.4 Beneficiamento e consumo	05
3.2 Micotoxinas	07
3.2.1 <i>Aspergillus</i> e aflatoxinas	09
3.2.1.1 <i>Aspergillus</i> : caracterização	09
3.2.1.2 Aflatoxinas	10
3.3 Avaliação de risco das micotoxinas para a saúde	14
3.4 Segurança Alimentar	17
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Inquérito populacional	18
4.1.1 Critérios éticos	18
4.1.2 Local de realização da pesquisa e infra-estrutura necessária	18
4.1.3 População e amostra	18
4.1.4 Critérios de inclusão/exclusão	19
4.1.5 Grau de vulnerabilidade dos sujeitos e medidas protetoras	20
4.1.6 Critérios para interromper a pesquisa	20
4.1.7 Propriedades das informações	20
4.1.8 Análise dos dados	20
4.2 Controle de qualidade	20
4.2.1 Amostragem	21
4.2.2 Controle microbiológico	21
4.2.2.1 Preparo da amostra	21
4.2.2.2 Determinação de fungos	21

4.2.3 Controle físico-químico	23
4.2.3.1 Determinação de umidade	24
4.2.3.2 Determinação de cinzas	24
4.2.3.3 Determinação de acidez	25
4.2.3.4 Determinação de proteínas	26
4.2.3.5 Determinação de lipídios	28
4.2.4 Controle toxicológico	29
4.2.4.1 Preparo e envio da amostra	29
4.2.4.2 Determinação de aflatoxinas	29
4.2.5 Análise dos dados	29
4.3 Análise de risco	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Inquérito populacional	31
5.2 Controle de qualidade	39
5.2.1 Controle microbiológico	41
5.2.2 Controle físico-químico	43
5.2.3 Controle toxicológico	48
5.3 Análise de risco	50
6 CONCLUSÕES	52
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
8 REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição nutricional do grão de milho in natura	04
Tabela 2 Área plantada, produtividade e produção nacional de milho nas safras 2001/2002 a 2010/2011	05
Tabela 3 Aquisição domiciliar per capita anual de milho e subprodutos (POF 2008-2009) ..	06
Tabela 4 Aquisição alimentar domiciliar de acordo com a renda média familiar – Região Sul (POF 2008-2009)	07
Tabela 5 Efeitos e sintomas ocasionados pela ingestão de aflatoxinas em diferentes espécies animais	08
Tabela 6 Estimativa da amostra mínima para cada categoria populacional	19
Tabela 7 Perfil geral da população entrevistada quanto à região geográfica, número de indivíduos e idade	32
Tabela 8 Comparativo entre amostra mínima estimada e amostra real entrevistada de indivíduos por categoria populacional	33
Tabela 9 Perfil geral da população entrevistada quanto à escolaridade e a região geográfica	34
Tabela 10 Renda média familiar dos indivíduos entrevistados de acordo com a região geográfica	35
Tabela 11 Peso corpóreo médio da população entrevistada	36
Tabela 12 Aquisição alimentar domiciliar per capita estratificada por unidades de federação – Região Sul (POF 2008-2009)	38
Tabela 13 Descritivo das amostras coletadas	40
Tabela 14 Contaminação fúngica em amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializados no município de Cascavel-PR (UFC/g)	41
Tabela 15 Umidade (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR	43
Tabela 16 Teor de cinzas (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR	44
Tabela 17 Tabela comparativa da composição nutricional (cinzas) das amostras analisadas com o preconizado em uma tabela de composição de alimentos	45
Tabela 18 Índice de acidez (N%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR	46
Tabela 19 Teor de proteínas (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR	47
Tabela 20 Teor de lipídios (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR	47

Tabela 21 Tabela comparativa da composição nutricional (proteínas e lipídios) das amostras analisadas com o preconizada em uma tabela de composição de alimentos	48
Tabela 22 Pesquisa de aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas no município de Cascavel-PR.....	49
Tabela 23 Ingestão Diária Provável Média de AFB1 na população de Cascavel-PR	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura anatômica de um grão de milho	03
Figura 2 Placa de Petri com cultivo de fungos do gênero <i>Aspergillus</i>	10
Figura 3 Estrutura química das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2	11
Figura 4 Interação entre a AFB1 e uma base nitrogenada do DNA (guanina)	12
Figura 5 Etapas da análise do risco	15
Figura 6 Esquematização das diluições seriadas para análise microbiológica	22
Figura 7 Localização geográfica dos supermercados selecionados para o estudo no município de Cascavel – Paraná	31
Figura Esquematização gráfica da lista de produtos apresentada aos entrevistados.....	36
Figura 9 Representação gráfica dos produtos derivados de milho consumidos no município de Cascavel – Paraná	37
Figura 10 Representação gráfica da frequência de consumo dos produtos derivados de milho no município de Cascavel – Paraná	38
Figura11 Representação gráfica do motivo que estimula o consumo de produtos derivados de milho no município de Cascavel – Paraná	39
Figura 12 Representação gráfica de uma cultura de pipoca, contendo uma colônia de <i>Aspergillus</i> , e uma cultura de fubá contendo colônias com aspecto de leveduras.....	42
Figura 13 Representação gráfica da relação entre os índices de acidez e a contaminação microbiológica em amostras de fubá	46
Figura 14 Representação gráfica da relação entre os índices de acidez e a contaminação microbiológica em amostras de pipoca	46

1 INTRODUÇÃO

O milho é o segundo grão mais produzido no Brasil; sua produção anual perde somente para o grão de soja. A produção nacional de milho estimada para o ano de 2011 é de 58.237.191 t do grão, um acréscimo de 3,9% em relação à safra do ano de 2010 (56.060.436 t) (IBGE, 2010).

Este cereal consumido *in natura* ou na forma de produtos industrializados tem grande contribuição na alimentação humana, em virtude de seu elevado valor energético, alto teor de amido, lipídios, proteínas, vitaminas e minerais (KRAUSE, 2010).

Os produtos derivados de milho (farinha de milho, flocos de milho, quirera, pipoca, canjica, amido de milho, dentre outros) também são muito apreciados na culinária brasileira, tendo participação efetiva como componente básico na dieta alimentar da população (IBGE, 2011; PAES, 2006).

Entretanto, em virtude de suas características nutricionais e das condições de cultivo e armazenamento, o milho se torna propício ao desenvolvimento de fungos, o que, além de causar danos à produção, pode produzir compostos tóxicos, denominados micotoxinas. Estas causam danos à saúde dos consumidores destes produtos (LAZZARI, 1997; MIDIO; MARTINS, 2000; AMARAL et al., 2006).

Dentre as micotoxinas frequentemente encontradas no milho estão as aflatoxinas e ocratoxina, produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, e as fumonisinas e zearalenona, produzidas por fungos do gênero *Fusarium* (ALI; YAMASHITA; YOSKIZAWA, 1998; PATEL, 2000; MACHINSKI JUNIOR et al., 2001; SCUDAMORE; MORENO et al., 2009).

As micotoxinas têm sido frequentemente detectadas em grãos de milho e subprodutos (SABINO et al., 1988; ALI, YAMASHITA, YOSKIZAWA, 1998; MACHINSKI JUNIOR et al., 2001; FANDOHAN et al., 2005; ABBAS et al., 2006; AMARAL et al., 2006; KAWASHIMA; SOARES, 2006; CASTELLS et al., 2008; REYES-VELÁSQUEZ et al., 2008), em quantidades superiores ao preconizado pela legislação brasileira (RDC n.º 7, de 18 de fevereiro de 2011 (BRASIL, 2011)). Esta ocorrência deve-se principalmente a dois fatores: a biodisponibilidade de nutrientes e as condições de armazenamento deste grão (temperatura e umidade) que favorecem o crescimento de determinados organismos biológicos produtores destes compostos (MACHINSKI JUNIOR et al., 2001; AMARAL et al., 2006).

Considerando a presença frequente destas micotoxinas nos grãos de milho e, conseqüentemente, em seus derivados, é importante a monitorização de toda a cadeia produtiva, com o intuito de se evitar as condições ideais para o desenvolvimento destes fungos e a posterior produção de micotoxinas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a segurança alimentar de produtos derivados de milho comercializados no município de Cascavel – Paraná, com ênfase na identificação do risco de exposição desta população às aflatoxinas.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar os três produtos derivados de milho de maior consumo no município de Cascavel – Paraná;
- Determinar o peso corpóreo médio da população do município de Cascavel – Paraná, estratificada em quatro grupos etários;
- Verificar a qualidade físico-química dos produtos derivados de milho comercializados em Cascavel – Paraná;
- Determinar a presença de contaminantes microbiológicos (fungos) em produtos derivados de milho comercializados em Cascavel – Paraná;
- Quantificar as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 nos produtos derivados de milho comercializados no município de Cascavel – Paraná;
- Comparar a somatória das aflatoxina B1, B2, G1 e G2 detectada nos produtos derivados de milho, com o limite máximo permitido pela Resolução RDC n.º 7, de 18 de fevereiro de 2011 (BRASIL, 2011);
- Estimar a Ingestão Diária Provável Média – IDPM de AFB1 entre os habitantes do município de Cascavel – Paraná e comparar com a Ingestão Diária Tolerável – IDT desta micotoxina;
- Analisar o grau de exposição aos efeitos nocivos do consumo de aflatoxinas na população do município de Cascavel – Paraná.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Milho

3.1.1 Estrutura anatômica

O milho (*Zea mays* L.) é uma cariopse pertencente à família *Gramineae*. A coloração de seus grãos pode variar do preto até o vermelho; porém, a maioria deles apresentam-se em tons amarelados, com peso individual médio de 275 mg. Seus grãos são formados por quatro estruturas básicas, conforme representado na Figura 1 (PAES, 2006):

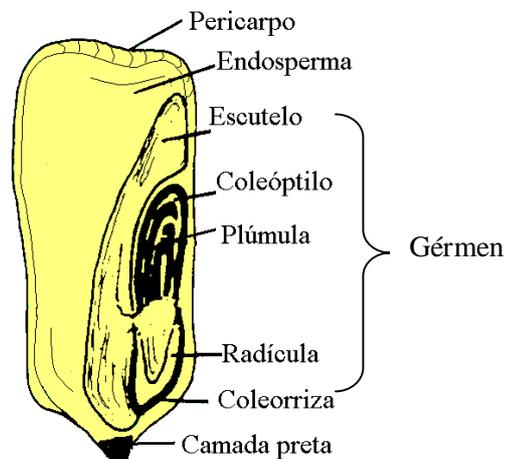


Figura 1 Estrutura anatômica de um grão de milho.
Fonte: Silva (2000).

O pericarpo é responsável por proteger as demais estruturas do grão de milho de elevadas taxas de umidade externa, além de proteger contra o ataque de insetos e outros microrganismos. O pericarpo representa cerca de 5% do grão e é constituído principalmente por hemicelulose (67%) e celulose (23%), ambos polissacarídeos (PAES, 2006).

O endosperma, por sua vez, representa cerca de 83% do peso seco do grão, sendo constituído principalmente por amido (88%) e proteínas de reserva¹ (8%). É nesta estrutura que se encontra também os carotenóides (zeaxantina luteína, α -caroteno e β -caroteno), compostos lipídicos responsáveis pela coloração amarelada dos grãos (PAES, 2006).

O gérmen é a estrutura que concentra o maior percentual de gorduras (83%) e minerais (78%) do grão. O óleo extraído do gérmen tem como principal constituinte o ácido graxo linolênico (ômega 3), assemelhando-se ao óleo de soja e girassol. Além disso, no

¹ As proteínas de reserva são ricas em metionina, cisteína, glutamina, leucina, alanina e prolina, porém, contêm quantidades mínimas de lisina e triptofano, aminoácidos essenciais à nutrição do ser humano (PAES, 2006).

gérmen se encontram quantidades significativas de carboidratos (70% em média) e proteínas (cerca de 26%), com destaque para a albumina e globulina (PAES, 2006).

Finalmente, a ponta ou camada preta consiste da menor estrutura do grão, correspondendo a cerca de 2% de sua massa total, e composta basicamente por material lignocelulósico (PAES, 2006).

3.1.2 Características nutricionais

Com relação às características nutricionais deste grão, pode-se afirmar que o mesmo apresenta quantidade significativa de carboidratos (79,6%), proteínas (8,8%) e lipídios (1,2%), além de inúmeros micronutrientes, dos quais se destacam vitamina A, complexo B, potássio, fósforo, magnésio, cálcio e ferro (PHILIPPI, 2002). Na Tabela 1 é apresentada a composição nutricional do grão de milho *in natura*.

Tabela 1 Composição nutricional do grão de milho *in natura*

Nutrientes	Grão de milho (100g)
Carboidrato	79,60 g
Proteína	8,80 g
Gordura total	1,20 g
- Poliinsaturada	0,51 g
- Monoinsaturada	0,29 g
- Saturada	0,16 g
Fibra total	11,50 g
- Fibra solúvel	9,90 g
- Fibra insolúvel	1,60 g
Vitamina A	44,00 RE
Vitamina B1	0,64 mg
Vitamina B2	0,38 mg
Vitamina B3	4,97 mg
Vitamina B6	0,15 mg
Folato	5,00 mcg
Vitamina E	1,6 mg
Sódio	1,00 mg
Cálcio	2,00 mg
Magnésio	27,00 mg
Zinco	0,41 mg
Manganês	0,11 mg
Potássio	137,00 mg
Fósforo	73,00 mg
Ferro	3,92 mg
Cobre	0,08 mg
Selênio	17,00 mcg

Fonte: Adaptado de Philippi (2002).

Paes (2006) acrescenta que o milho tem extrema importância para a alimentação de homens e também de animais devido a sua riqueza de nutrientes, ressaltando que além do teor expressivo de carboidratos disponível, o óleo obtido do gérmen é rico em ácido graxo

ômega 3, com propriedades funcionais de prevenção de doenças cardiovasculares e controle de dislipidemias.

Os grãos de milho dispõem ainda de quantidades significativas de carotenóides e tocoferóis, com atividade funcional de prevenção contra o câncer e ação antioxidante, respectivamente (SHILS et al., 2003).

3.1.3 Aspectos econômicos

O milho é um cereal de cultivo mundial, sendo que na safra 2008/2009 os Estados Unidos ocuparam o primeiro lugar no “ranking” mundial de produção (307.384 t), seguido da China (166.035 t) (FAO, 2009). O Brasil encontra-se em terceiro lugar no ranking mundial de produção, porém, apresenta-se em ascensão no que diz respeito à produção de milho, conforme se observa na Tabela 2.

Tabela 2 Área plantada, produção e produtividade nacional de milho nas safras 2001/2002 a 2010/2011

Safra	Área plantada (1000 ha)	Produção (1000 t)	Produtividade (kg ha ⁻¹)
2001/2002	12.318,8	35.280,7	2.868
2002/2003	13.226,2	47.410,9	3.585
2003/2004	12.783,0	42.128,5	3.296
2004/2005	12.208,2	34.976,9	2.867
2005/2006	12.963,9	42.514,9	3.279
2006/2007	14.054,9	51.369,7	3.655
2007/2008	14.765,7	58.652,2	3.972
2008/2009	14.171,8	51.003,9	3.599
2009/2010	12.993,9	56.018,0	4.311
2010/2011*	13.388,1	56.732,9	4.238

* Área plantada, produção e produtividade estimadas.

Fonte: Adaptado de CONAB (2011).

3.1.4 Beneficiamento e consumo

Após a colheita, o milho é transportado até uma unidade beneficiadora, onde é submetido aos processos de pré-limpeza, pesquisa de pontos de fluorescência e determinação de umidade – um dos parâmetros de maior significância para atestar a qualidade do grão (MENEGAZZO et al., 2001).

Em seguida o milho é comercializado e inúmeros subprodutos podem ser obtidos a partir dele, como quirera, canjica, farinha de milho, flocos de milho, amido de milho, óleo, salgadinhos, por exemplo (PAES, 2006). Essa diversidade de subprodutos e sua presença quase que diária na mesa da população brasileira justificam o consumo significativo deste grão, conforme atesta a Pesquisa de Orçamento Familiar – POF (2008-2009) (IBGE, 2010).

Na Tabela 3 são apresentados os resultados desta pesquisa quanto à aquisição domiciliar nacional, regional e estadual de milho e subprodutos.

Tabela 3 Aquisição domiciliar per capita anual de milho e subprodutos (POF 2008-2009)

Alimento/Preparação	Per capita anual média (kg)		
	Brasil	Região Sul	Paraná
Milho em grão	2,116	1,915	1,680
Milho enlatado	0,182	0,285	0,287
Milho espiga	0,506	0,693	0,512
Amido de milho	0,103	0,130	0,135
Creme de milho	0,204	0,006	0,000
Flocos de milho	0,612	0,365	0,334
Farinha de milho	2,303	1,514	1,608
Pão de milho	0,118	0,212	0,069
Salgadinho tipo “chips”	0,258	0,499	0,520
Per capita anual (kg) ¹	6,402	5,619	5,145
Per capita/dia (g) ²	17,54	15,39	14,09

¹Per capita de consumo considerando apenas os produtos derivados de milho pesquisados na POF (2008-2009).

²Per capita diária estimada considerando um ano com 365 dias.

Fonte: Adaptado de IBGE (2010).

Ainda de acordo com a POF (2008-2009) (IBGE, 2010), a Região Sul ocupa o quarto lugar no ranking nacional de consumo de milho e derivados, com per capita média de 15,39 g/dia. A Região Nordeste lidera o ranking nacional com per capita média de 28,94 g/dia, o que é justificado pela culinária típica local, com muitas preparações à base de farinha de milho, como por exemplo, a farofa branca, farofa de jerimum, farofa de batata doce e cuscuz (MAIOR, 1984).

Os segundo, terceiro e quinto lugares no ranking nacional de consumo de milho e subprodutos pertencem à Região Centro-Oeste, à Região Norte e à Região Sudeste, respectivamente, com per capita diárias médias de 18,79 g; 15,74 g e 10,76 g, respectivamente (IBGE, 2010).

A mesma pesquisa verificou ainda a relação entre a renda familiar e a aquisição de milho e seus subprodutos. A Tabela 4 apresenta esta relação de acordo com o inquérito alimentar realizado na Região Sul.

Conforme se verifica na Tabela 4, as famílias de maior renda mantêm um consumo expressivo de milho enlatado e salgadinho tipo “chips”, enquanto as famílias de menor renda apresentam maior de farinha de milho e milho em grão do que as famílias de maior renda (IBGE, 2010).

Tabela 4 Aquisição alimentar domiciliar de acordo com a renda média familiar – Região Sul (POF 2008-2009)

Alimento/Preparação	Per capita anual média (kg)					
	Renda familiar (R\$)					
	Até 830	Mais 830 a 1245	Mais 1245 a 2490	Mais 2490 a 4150	Mais 4150 a 6225	Mais 6225
Milho em grão	4,153	1,297	1,319	0,551	3,094	3,713
Milho enlatado	0,104	0,149	0,286	0,287	0,394	0,533
Milho espiga	0,100	0,167	0,414	1,876	0,56	0,723
Amido de milho	0,146	0,063	0,152	0,102	0,192	0,121
Creme de milho	0,000	0,000	0,005	0,007	0,000	0,029
Flocos de milho	0,067	0,049	0,349	0,309	0,259	1,342
Farinha de milho	1,870	1,535	1,455	1,682	1,175	1,303
Pão de milho	0,042	0,119	0,160	0,311	0,233	0,460
Salgadinho tipo "chips"	0,272	0,283	0,318	0,522	0,836	1,215
Per capita anual (Kg) ¹	6,754	3,662	4,458	5,647	6,743	9,439
Per capita/dia (g) ²	18,5	10,03	12,21	15,47	18,47	25,86

¹ Per capita de consumo considerando apenas os produtos derivados de milho pesquisados na POF (2008-2009).

² Per capita diária estimada considerando um ano com 365 dias.

Fonte: Adaptado de IBGE, 2010.

3.2 Micotoxinas

A ocorrência de algumas espécies de fungos em alimentos tem servido de alerta para o risco de contaminação com micotoxinas, contribuindo para a perda da qualidade do produto e prejuízos à saúde dos seres humanos (CALORI-DOMINGUES, et al., 2007; SILVA et al., 2007).

As micotoxinas são compostos químicos resultantes do metabolismo secundário de fungos filamentosos. Quando presentes nos alimentos e rações animais podem produzir efeitos agudos ou crônicos, tornando-se então uma preocupação para a saúde humana e animal (NUNES et al., 2003; ZUMMO; SCOTT, 1992).

Os efeitos agudos são caracterizados pela ingestão de altas doses de micotoxinas em um único período, causando efeitos similares a uma infecção alimentar. Os efeitos crônicos, em contrapartida, são os mais severos, pois se caracterizam pelo consumo de pequenas quantidades de micotoxinas ao longo de muito tempo, podendo contribuir para o desenvolvimento de um tumor (JARDIM; CALDAS, 2009).

Os efeitos e sintomas ocasionados pela ingestão de aflatoxinas em diferentes espécies animais são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 Efeitos e sintomas ocasionados pela ingestão de aflatoxinas em diferentes espécies animais

Espécie	Efeitos/Sintomas
Perus e Marrecos	- Hepatomegalia - Hemorragia - Esteatose hepática - Anorexia e fraqueza nas pernas e asas - Morte
Frangos	- Redução do crescimento e desenvolvimento de embriões - Diminuição da produção de ovos - Hemorragia - Anorexia e fraqueza nas pernas e asas - Redução do ganho de peso - Palidez de fígado e rins - Esteatose hepática e renal
Suínos	- Complicações renais - Hemorragia - Perda de peso e morte
Bovinos	- Infecção do miocárdio - Infertilidade - Anorexia - Menor percentual de gordura no leite
Equinos, Coelhos e Peixes	- Complicações hepática e renal - Morte
Seres Humanos	- Imunossupressão - Susceptibilidade a hepatite B - Hepatocarcinoma e morte

Fonte: Adaptado de Fonseca (2003).

Segundo o potencial carcinogênico para o homem, as micotoxinas avaliadas nos estudos experimentais com animais de laboratório e epidemiológicos são distribuídas em cinco grupos distintos, conforme preconizado pela Agência Internacional para pesquisa do Câncer - IARC (WHO, 1979):

- Grupo 1: o toxicante é carcinogênico, existindo evidências suficientes de carcinogenicidade em estudos que incluem o homem (estudos epidemiológicos);
- Grupo 2: o toxicante é provavelmente carcinogênico. Este grupo compreende dois subgrupos: subgrupo 2A (existem evidências limitadas de carcinogenicidade em seres humanos e evidências suficientes em animais de laboratório); subgrupo 2B (é usado quando existem evidências inadequadas ou inexistência de carcinogenicidade em relação ao homem e evidências suficientes em animais de laboratório);
- Grupo 3: o agente tóxico é possivelmente carcinogênico para o homem. Neste grupo estão incluídos os compostos com evidências limitadas em estudos com animais de laboratório e ausência de evidências no homem;

- Grupo 4: o agente tóxico não pode ser classificado em função da ausência de informações ou pela existência de estudos, no homem e em animais, com evidências inadequadas;
- Grupo 5: o toxicante não é carcinogênico, existindo estudos que comprovam a ausência de efeitos ao homem e animais de laboratório.

A contaminação de alimentos com micotoxinas é um grande problema, pois além de causar danos a saúde do consumidor, também acarreta perdas na produção. Apesar disso, as micotoxicoses foram negligenciadas durante muitos anos, ganhando destaque somente em 1960 com a doença “X” dos perus, quando a atenção mundial voltou-se para o estudo das micotoxinas (AMARAL et al., 2006).

A doença “X” dos perus caracterizou-se como um dos maiores acidentes econômicos ocorridos na Inglaterra, quando cerca de 100.000 perus morriam por causa desconhecida. As aves adoeciam, tornavam-se apáticas, perdiam as forças das asas e morriam em cerca de uma semana. Após uma intensa investigação, verificou-se que as aves morriam por necrose hepática, ocasionada pela ingestão de quantidades significativas de aflatoxina B1, presente na ração oferecida aos animais (CALDAS et al., 2008).

Atualmente, cerca de 300 micotoxinas já foram isoladas, contudo, apenas seis são consideradas importantes do ponto de vista de saúde pública: aflatoxina (B1, B2, G1 e G2), ocratoxina A, patulina, fumonisina, desoxinivalenol e zearalenona (FAO, 1995).

3.2.1 *Aspergillus* e aflatoxinas

3.2.1.1 *Aspergillus*: caracterização

Os fungos do gênero *Aspergillus* são frequentemente encontrados em regiões tropicais e subtropicais, com temperatura oscilando entre 15 e 30°C, além de locais com taxas de umidade elevadas. Suas condições ideais para crescimento são umidade em torno de 18%, pH ácido (menor que 7,0) e temperatura na faixa de 18 a 25°C (GONÇALVES et al., 2001).

Em cultivo de laboratório as colônias de *Aspergillus* apresentam-se inicialmente de cor branca e posterior coloração verde amarelada (DILKIN et al., 2002). Na Figura 2 é apresentada uma placa com colônias de *Aspergillus*.



Figura 2 Placa de Petri com cultivo de fungos do gênero *Aspergillus*.

Fonte: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/08/Aspergillus_fumigatus.jpg

Farias et al. (2000) analisaram 60 amostras de milho na pós-colheita, produzido no estado do Paraná, quanto à contaminação fúngica. Ao final da pesquisa, os autores observaram que 64% das amostras apresentaram-se contaminadas por *A. flavus*, 19% por *E. amstelodami*, 10% por *E. chevalieri* e 7% *A. parasiticus*.

Richard et al. (2007) avaliaram amostras de silagem de milho maduro provenientes de uma fazenda de gado leiteiro da Normandia (França). As amostras foram coletadas no silo em dois níveis, sendo o primeiro a 0,75m do topo e, a segunda amostra no fundo do silo. Os autores puderam identificar vinte e cinco espécies diferentes de fungos nestas amostras, sendo que *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* foram os mais encontrados. Algumas espécies foram encontradas somente no topo do silo, outras somente no fundo do silo, e outras, ainda, em ambos os lugares, como é o caso do *Aspergillus fumigatus*, *Malbranchea pulchella* e *Thermomyces lanuginosus*.

3.2.1.2 Aflatoxinas

As aflatoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos, principalmente do gênero *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nomius* e *Aspergillus parasiticus*. O *A. flavus* produz apenas aflatoxinas do grupo B, enquanto os *A. parasiticus* e *A. nomius* produzem aflatoxinas do grupo B e G (AMARAL et al., 2006). Miller (1995) salienta que medidas para controlar a presença do *Aspergillus* em grãos de milho, continua sendo a melhor alternativa para controlar a incidência de aflatoxinas nestes grãos.

Até o momento já foram detectadas cerca de 20 subtipos de aflatoxinas, porém, as mais comumente encontradas são AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2. As aflatoxinas apresentam em comum um núcleo central cumarínico ligado a uma molécula bifuranóide. Diferem,

porém, quanto ao anel ciclopentano observado nas aflatoxinas B e um anel lactona nas aflatoxinas G, conforme apresentado na Figura 3 (SWEENEY; DOBSON, 1999).

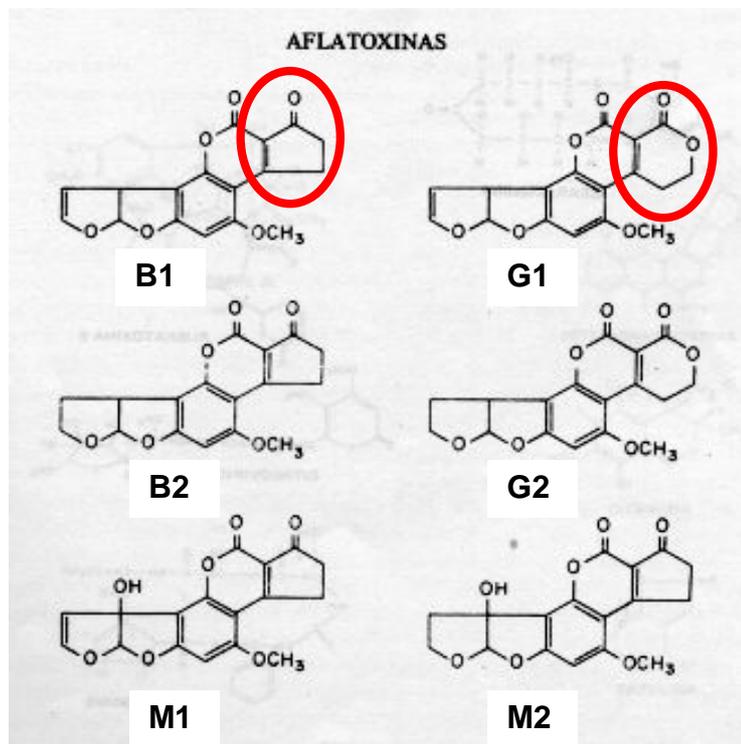


Figura 3 Estrutura química das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.

Fonte: Adaptado de <http://www.micotoxinas.com.br/aflatoxinas.jpg>

Silva et al. (2004) acrescentam, porém, que apesar desta semelhança em sua estrutura química, as aflatoxinas têm potencial de toxicidade diferente, sendo que a aflatoxina B1 apresenta maior atividade biológica.

O risco da exposição contínua às aflatoxinas se deve aos seus efeitos carcinogênicos², mutagênicos³, teratogênicos⁴ e hepatotóxicos⁵ (SABINO et al, 1988; WHO, 1979).

Estes compostos severamente tóxicos para os seres humanos são provavelmente responsáveis por necroses no fígado e podem estar envolvidos na epidemiologia de câncer

² A carcinogênese ou oncogênese é um processo anormal, não-controlado, de diferenciação e proliferação celular, inicialmente localizado, mas que pode ser disseminado pelo organismo provocando a sua morte. Este processo pode ser identificado desde o seu início, quando alterações moleculares do DNA são sucedidas por alterações fenotípicas e bioquímicas das células, num contínuo em direção a malignidade (SABINO et al, 1988).

³ Mutação   toda altera o do material genético de uma célula que não resulta de segrega o ou recombina o. O processo quando não   letal para a célula pode propagar-se pelo organismo em crescimento caracterizando uma muta o somática, ou transmitir-se às gera es posteriores caracterizando uma muta o germinal (SABINO et al, 1988).

⁴ A teratog nese está relacionada, sobretudo, a fertilidade e desempenho reprodutivo de uma determinada espécie. Assim, o efeito teratog nico pode manifestar-se pela dificuldade de engravidar (no caso de seres humanos), a abortos espontâneos e, ainda, ao nascimento de beb s com anormalidades físicas (SABINO et al, 1988).

⁵ Compostos tóxicos que causam lesão ao fígado (SABINO et al, 1988).

hepático em algumas partes do mundo, talvez em sinergismo com o vírus da hepatite B (MOSS, 1996; SILVA et al., 2007), conforme representação esquemática apresentada na Figura 4.

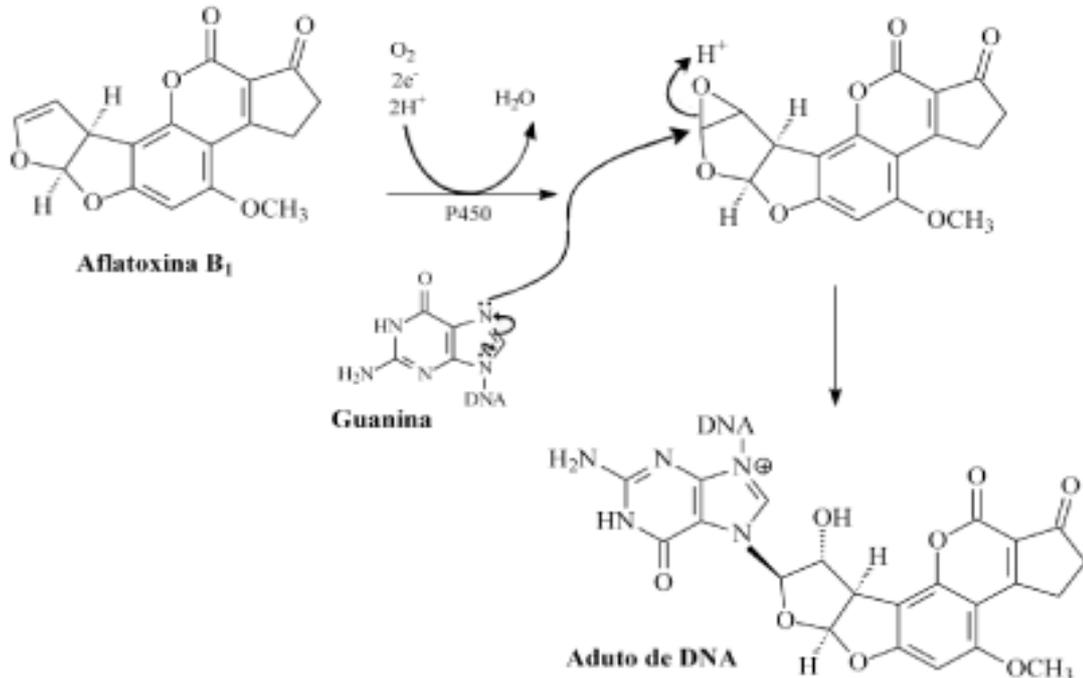


Figura 4 Interação entre a AFB₁ e uma base nitrogenada do DNA (guanina).
Fonte: Jardim e Caldas (2009).

A AFB₁ dá início ao processo de carcinogênese formando um epóxido, através de uma reação química mediada pela enzima mono-oxigenase do citocromo P450. Este epóxido é atacado pelo nitrogênio da base guanina, formando o aduto de DNA (JARDIM; CALDAS, 2009).

Diante disso, a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC) declarou que a aflatoxina B₁ possui o maior potencial carcinogênico para o homem e, por essa razão, esta micotoxina foi enquadrada no grupo 1 (existência de evidências suficientes que comprovem a carcinogênese em homens e animais) (CREPPY, 2002).

Os principais substratos para a produção dessas toxinas são os cereais (milho, trigo, aveia e arroz), além de oleaginosas como amendoim, castanha e nozes (DILKIN et al., 2002).

Salay e Mercadante (2002) publicaram uma revisão bibliográfica de artigos entre os anos de 1999 e 2000 que apresentaram a contaminação de milho por aflatoxinas. Os autores concluíram que a incidência de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em milho cultivado no estado de São Paulo é menor do que o milho cultivado nos estados da Região Norte e Sul do país. Em contrapartida, a contaminação por fumonisinas apresenta-se de

forma generalizada em todo o país, e a incidência de ácido ciclopiazônico, desoxinivalenol e toxina T-2 não são significativas nas culturas nacionais.

Fandohan et al. (2005) avaliaram o destino de aflatoxinas e fumonisinas durante o processamento do milho para obtenção de subprodutos⁶ comercializados em Benin. Os autores observaram que os processos de seleção, trituração e lavagem foram os processos que contribuíram para a redução significativa de micotoxinas, enquanto que os processos de fermentação e cozimento demonstraram pouca eficiência.

Considerando uma grande infestação de fungos em grãos de milho produzidos nos Estados Unidos em 1998, Abbas et al. (2006) avaliaram a presença de micotoxinas (aflatoxinas e fumonisinas) em 65 amostras de milho híbridos infectados com *Fusarium* spp e *Aspergillus* spp, durante os anos de 1998 e 2001. Os autores verificaram que todas as amostras provenientes da safra de 1998 apresentaram índices de aflatoxinas que variaram de 21 a 699 ppb, valores estes superiores ao permitido pela legislação nacional (máximo 20 ppb) e contaminação por fumonisinas que variou de 23 a 79 ppm. Na safra de 1999 a 2001 a contaminação por aflatoxinas variou de 0 a 255,3 ppb e os níveis de fumonisina observados foram de 0,3 a 83,6 ppm. Os autores observaram ainda uma correlação positiva entre a contaminação por aflatoxinas e fumonisinas no milho durante o período estudado, evidenciando que a infestação natural por *Fusarium* spp não diminui a incidência de *Aspergillus* spp e a posterior produção de aflatoxinas.

Amra (2007) estudou 80 amostras de grão de milho local e importado quanto aos teores de aflatoxinas, zearalenona e ocratoxina, durante o verão e o inverno do ano de 2004. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que durante o inverno quatro das quarenta amostras (10%) foram positivas para aflatoxinas, sendo que as concentrações de AFB1 variaram de 5,8 a 7,5 µg/Kg e as concentrações de AFB2 foram em média de 2,7 µg/Kg. Em contrapartida, no verão cinco das quarenta amostras (12,5%) apresentaram positividade para aflatoxinas, sendo que a concentração de AFB1 variou de 4,2 a 5,3 µg/Kg, e AFB2 apresentou concentração média de 3,9 µg/Kg. Deste modo, o autor concluiu que a origem do grão (nacional ou importado) e as condições de armazenamento (temperatura e umidade) são fatores determinantes para a contaminação do milho por fungos e, posteriormente, para a presença de micotoxinas.

Reyes-Velásquez et al (2008) verificaram a ocorrência de fungos e micotoxinas em amostras de milho armazenadas em silos no estado de Jalisco, México, coletadas durante seis meses. Os resultados indicaram que os parâmetros físico-químicos mantiveram-se inalterados durante o período de análise. Quanto à análise microbiológica, observou-se que *Mucor*, *Penicillium* e *Aspergillus* foram as espécies de fungos mais frequentemente

⁶ Os subprodutos avaliados foram “Mawe makume”, “ogi”, “akassa” e “owo”, alimentos típicos de Benin, África Ocidental, obtidos a partir do milho (FANDOCHAN et al., 2005).

encontradas, em quantidades que variaram de $1,7 \times 10^3$ a 9×10^8 UFC/g. Quanto à presença de micotoxinas, todas as amostras avaliadas apresentaram-se positivas para fumonisinas, aflatoxinas, ocratoxina A, zearalenona e desoxinivalenol; porém, apenas os níveis de desoxinivalenol estavam acima dos limites estabelecidos pelo FDA. A concentração de aflatoxinas total variou de 12,5 a 15,7 ppb durante os meses de avaliação.

Sugiyama, Hiraoka e Konishi (2008) avaliaram a relação entre a presença de AFM1 no leite e a contaminação da cultura de milho oferecida ao gado leiteiro com AFB1 no Japão. Os níveis de AFM1 no leite cru e AFB1 na cultura de milho foram verificados em três épocas distintas entre janeiro (n=101), fevereiro (n=97) e junho/2004 (n=101). Os níveis de AFM1 detectados foram de 0,011ng/g em janeiro, 0,007ng/g em fevereiro e 0,005ng/g em junho. A presença de AFB1 na cultura do milho foi superior entre os meses de janeiro e fevereiro/2004. Assim, este estudo evidencia que a presença de AFM1 no leite ocorre paralelamente à contaminação de AFB1 no milho oferecido ao gado leiteiro e, por isso, é importante o monitoramento desta para diminuir o risco de contaminação do leite no Japão.

Amaral et al. (2006) enfatizam que a escassez de pesquisas nacionais sobre a incidência de micotoxinas deve-se principalmente ao custo elevado para aquisição e manutenção dos equipamentos necessários para a realização das análises e à escassez de pessoal qualificado para a condução de pesquisas. Neste contexto, Silva et al. (2007) salientam a necessidade de novos estudos que aprimorem a metodologia para detecção e quantificação de micotoxinas, com o intuito de garantir a confiabilidade dos resultados encontrados.

Quanto à legislação brasileira vigente para controle de micotoxinas, o Ministério da Saúde disponibiliza a Resolução RDC n.º 7, de 18 de fevereiro de 2011. Com relação à contaminação do milho e derivados, a legislação preconiza o limite de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$, considerando a somatória de AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 (BRASIL, 2002).

3.3 Avaliação de risco das micotoxinas para a saúde

A análise de risco para micotoxinas segue o esquema apresentado na Figura 5, proposto por Jardins e Caldas (2009).

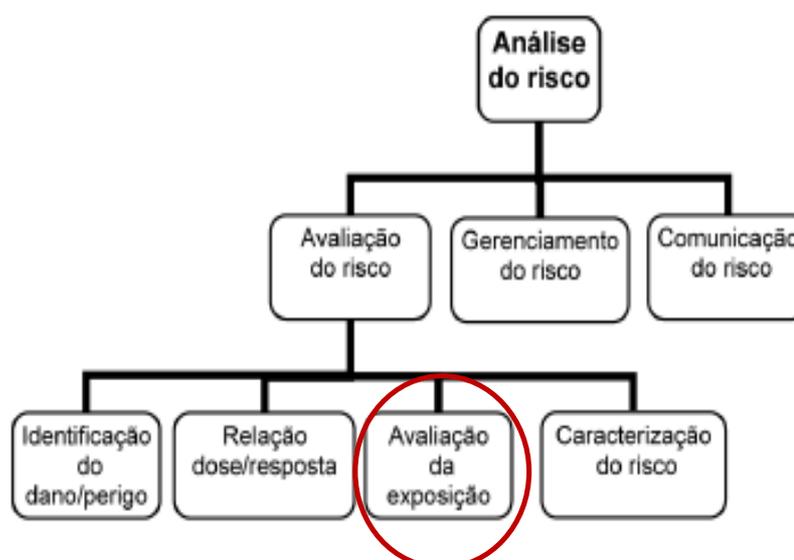


Figura 5 Etapas da análise do risco.
Fonte: Jardins e Caldas (2009).

A análise de risco é composta por três partes: avaliação de risco, gerenciamento e comunicação de risco. Cada uma destas grandes esferas de influência sobrepõe-se com as outras. Logicamente, a avaliação do risco de uma determinada micotoxina para uma população específica requer um levantamento toxicológico completo, um estudo epidemiológico, um estudo de exposição da população ao composto e a caracterização do risco (AMARAL et al., 2006; JARDINS; CALDAS, 2009).

A avaliação do risco compreende as etapas de identificação do dano ou perigo, determinação da dose resposta, avaliação da exposição ao risco e caracterização do risco (JARDINS; CALDAS, 2009):

- Identificação do dano ou perigo: esta etapa tem como objetivo identificar os potenciais efeitos adversos causados a saúde humana devido à exposição a uma determinada substância.
- Determinação da dose resposta: nesta etapa são estimadas as doses que não causam nenhum efeito adverso em animais testados (*No Observed Adverse Effect Level* - NOAEL) e a menor dose na qual um determinado efeito adverso foi observado (*Lowest Observed Adverse Effect Level* - LOAEL). Determinam-se ainda os parâmetros de ingestão crônica segura, definidos como Ingestão Diária Tolerável Máxima Provisória (*Provisional Maximum Tolerable Daily Intake* - PMTDI) e Ingestão Tolerável Semanal Provisória (*Provisional Tolerable Weekly Intake* – PTWD). Estes parâmetros (PMTDI e PTWD) indicam a quantidade de um determinado composto que pode ser ingerido diariamente e semanalmente, respectivamente, sem que efeitos adversos sejam observados.

- Avaliação da exposição ao risco: esta etapa tem como objetivo estimar qualitativa e quantitativamente a ingestão provável de um determinado composto. Para isso, necessita-se de três dados específicos de uma população em estudo; a concentração da substância em análise no alimento (mg kg^{-1}), o per capita de consumo diário deste alimento (kg) e o peso corpóreo (kg). A partir destes dados, manipulados na Equação 1, verifica-se a exposição de uma determinada população em relação ao composto em análise.

$$\text{Exposição} = \frac{\text{Concentração da substância} \times \text{consumo do alimento}}{\text{Peso corpóreo}} \quad \text{Eq. (1)}$$

- Caracterização do risco: etapa definida como a estimativa qualitativa ou quantitativa, quando possível, da probabilidade de ocorrência de um determinado efeito adverso ocasionado por um determinado composto tóxico em uma determinada população, com condições de exposição previamente definidas. Inúmeras metodologias podem ser adotadas para que este objetivo possa ser alcançado, dependendo das características toxicológicas do composto em análise.

Egal et al. (2005) realizaram um estudo transversal com 480 crianças tendo idade entre nove meses e cinco anos, moradoras de Togo e Benin (África Ocidental), com o intuito de verificar o efeito da exposição a aflatoxinas durante o crescimento destas crianças. O referido estudo comprovou que o milho é uma importante fonte de exposição à aflatoxinas, sendo até mesmo mais preocupante que o amendoim, de acordo com os hábitos alimentares desta população.

Jolly et al. (2006) conduziram um estudo transversal em quatro aldeias (Nkwanta, Kasci, Hiawoanwu e Dromankuma) do distrito de Sekyedumase Ejura (Gana), com o objetivo de verificar os níveis sanguíneos de AFB1-albumina e os níveis de AFM1 excretados na urina. A população amostrada foi composta de 162 participantes adultos, sendo 80 do gênero masculino e 82 do gênero feminino. Todos os indivíduos da amostra tinham o hábito de consumir amendoim e milho comercializados no local. Os resultados apontaram altos níveis de AFB1-albumina no plasma ($0,89 \pm 0,46 \text{ pmol/mg albumina}$) e de AFM1 na urina ($1800,14 \pm 2602,01 \text{ pg/mg creatina}$). Os autores observaram uma correlação significativa entre a presença de AFB1-albumina e AFM1 na urina ($p=0,007$). Quanto aos fatores sócio-demográficos, o grupo étnico ($p=0,04$), a aldeia em que os participantes viviam ($p=0,02$) e o número de pessoas que compunham a família ($p=0,01$) foram fatores significativos para os elevados níveis de AFB1 detectados.

Os estudos conduzidos por Kuiper-Goodman (1985) estabelecem ainda a Ingestão Diária Tolerável (IDT) para aflatoxina B1, ou seja, a quantidade do composto tóxico que pode ser ingerido sem que ocorram efeitos adversos à saúde. De acordo com dados epidemiológicos de países asiáticos e africanos, este autor estabeleceu-se a IDT para AFB1 entre 0,11 e 0,19 ng Kg⁻¹ de peso corpóreo/dia.

Estes parâmetros de ingestão segura não são valores fixos e definitivos, visto que caracterizam estudos toxicológicos específicos. Assim sendo, a qualquer momento outros órgãos e países podem conduzir novos estudos e redefinir outros níveis de ingestão segura para determinados compostos (JARDINS; CALDAS, 2009).

3.4 Segurança Alimentar

O conceito de segurança alimentar ganhou destaque a partir da segunda guerra mundial, quando grande parte da Europa estava devastada e sem condições de cultivar seu próprio alimento. A segurança alimentar considera principalmente três aspectos: quantidade, qualidade⁷ e regularidade⁸ no acesso aos alimentos (BELIK, 2003).

Os programas municipais, estaduais e nacionais de segurança alimentar devem propiciar um controle de qualidade efetivo de toda a cadeia alimentar, incluindo os processos de produção, armazenamento e distribuição (CAVALLI, 2001).

No Brasil, o projeto “Fome Zero” coordena alguns aspectos relacionados a alimentação de qualidade a população. Ele propõe intervenções variadas que visam abordar desde questões estruturais como a melhoria da renda das famílias, bem como ações específicas e diretas a assistência alimentar (CAVALLI, 2001).

⁷ A qualidade dos alimentos refere-se a oferta de alimentos/preparações em condição higiênico-sanitário adequado, além, da possibilidade de consumi-los em ambiente adequado e com utensílios higienizados corretamente.

⁸ Direito de acesso constante a alimentação e, não somente de forma sazonal.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Inquérito populacional

4.1.1 Critérios éticos

Para a realização desta etapa da pesquisa foram seguidos os critérios éticos descritos na Resolução Nacional de Saúde 196/96 (CNS, 1996), sendo que a coleta de dados foi iniciada somente após parecer favorável pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Faculdade Assis Gurgacz (FAG).

O projeto foi submetido ao CEP da Faculdade Assis Gurgacz – FAG e aprovado sob parecer n.º 268/2009, conforme apresentado no Anexo A.

4.1.2 Local de realização da pesquisa e infra-estrutura necessária

A pesquisa foi realizada em supermercados do município de Cascavel – Paraná. O município foi dividido em cinco quadrantes geográficos (leste, oeste, norte, sul e centro), e em cada um destes quadrantes escolheu-se, de maneira aleatória, um supermercado, o qual ficou definido como o ponto de aplicação do formulário.

Como a coleta de dados foi realizada por meio de um formulário, não se fez necessária infra-estrutura específica. Necessitou-se apenas de uma balança para aferir o peso corpóreo dos entrevistados; entretanto, a pesquisadora responsabilizou-se por disponibilizar este equipamento nos pontos de coleta. Os dados apenas foram coletados após autorização prévia do responsável por cada local.

Antes da efetiva ida ao campo para aplicação do formulário, o mesmo foi submetido a um teste piloto, com dez pessoas da comunidade, também selecionadas de maneira aleatória.

4.1.3 População e amostra

A amostra entrevistada foi distribuída em quatro categorias: crianças (2 a 9 anos), adolescentes (10 a 18 anos), jovens/adultos (19 a 59 anos) e idosos (60 anos ou mais). A partir da população de cada categoria⁹, estabeleceu-se a amostra mínima para cada uma delas, de acordo com a Tabela 6:

⁹ Este número foi estimado, tendo-se por base a população de 245.369 habitantes do município de Cascavel – Paraná (IBGE, 2000), a 5% de significância. No ano de 2000 publicou-se o último censo

Tabela 6 Estimativa da amostra mínima para cada categoria populacional

Categoria populacional	População*	Amostra mínima
Crianças	39.768	100
Adolescentes	45.312	114
Jovens/Adultos	136.072	341
Idosos	15.302	39
Total	236.454	594

*Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2000).

Os dados foram coletados após a aprovação do comitê de ética, entre os meses de janeiro a outubro/2010, em supermercados do município de Cascavel, utilizando-se um formulário semi-estruturado (Anexo B).

4.1.4 Critérios de inclusão/exclusão

Foram inclusos no projeto os dados de crianças com idade mínima de 02 anos, adolescentes (10 a 18 anos), jovens/adultos (19 a 59 anos) e idosos (acima de 60 anos).

Os indivíduos eram abordados quando entravam no estabelecimento selecionado como ponto de coleta e, a partir daí, receberam informações referentes à pesquisa para, posteriormente, serem convidados a participar da mesma. A pesquisadora responsável informou aos participantes os objetivos do projeto, os riscos e os benefícios envolvidos a fim de esclarecer eventuais dúvidas por meio da leitura do termo informativo.

Quando o indivíduo concordava em participar da pesquisa, o mesmo assinava o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e em seguida era convidado a responder o formulário, sendo utilizada como forma de aplicação a entrevista com preenchimento do formulário feito pelo pesquisador. Os participantes receberam a orientação de que poderiam desistir da pesquisa a qualquer momento, caso sentissem desconforto ou não quisessem mais responder as questões, não sofrendo dano algum pela desistência.

O peso corpóreo atual foi verificado pelo pesquisador no momento da entrevista, a partir da pesagem de cada indivíduo em uma balança com capacidade até 150 Kg, aferida e calibrada pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial – INMETRO. Solicitou-se ao participante da pesquisa para que, no momento da aferição do peso, retirasse roupas excedentes, como casacos, e adornos, como bolsas e sacolas, por exemplo.

Foram excluídos do projeto crianças menores de 02 anos, gestantes, amputados e cadeirantes. Os indivíduos que não assinaram o termo de consentimento e que quiseram

estratificado por idade, por isso, o mesmo foi utilizado como parâmetro para estabelecer a amostra deste estudo.

participar de forma voluntária, bem como os menores de 18 anos que não estavam acompanhados dos pais ou responsáveis, não fizeram parte da amostra. Porém, para evitar qualquer constrangimento, esses dados foram coletados, no entanto, não foram contabilizados.

4.1.5 Grau de vulnerabilidade dos sujeitos e medidas protetoras

O grau de vulnerabilidade dos sujeitos foi considerado mínimo, a identidade do participante não foi divulgada, pois o formulário era anônimo e os dados foram apresentados com valores médios e não-individuais.

4.1.6 Critérios para interromper a pesquisa

A pesquisa poderia ser interrompida caso solicitado pelo relator do Comitê de Ética que acompanhou o projeto, ou em caso de não-aprovação. Também poderia ser interrompida caso os responsáveis pelos supermercados selecionados não autorizassem a coleta de dados. Entretanto, nenhum destes eventos ocorreu, e a pesquisa transcorreu de acordo com o planejado.

4.1.7 Propriedades das informações

As informações coletadas foram utilizadas para a elaboração da dissertação que contempla o trabalho final do Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da pesquisadora. Posteriormente, esta ficará à disposição dos usuários na biblioteca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE). Os dados também serão divulgados em publicações científicas na forma de resumos e artigos.

Os dados coletados estarão armazenados por cinco anos, conforme solicitação do Comitê de Ética e Pesquisa – CEP.

4.1.8 Análise dos dados

Os resultados obtidos foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e as possíveis diferenças entre as médias ($p < 0,05$) pelo teste de Scott Knot, utilizando-se o software SisVar 5.3 (FERREIRA, 2010).

4.2 Controle de qualidade

Foram realizadas análises referentes a controles físico-químicos, microbiológicos e toxicológicos em amostras de produtos derivados de milho comercializados em Cascavel – Paraná.

Os testes físico-químicos e microbiológicos foram realizados em triplicata, em laboratórios situados nas dependências da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Os testes para detecção e quantificação de aflatoxinas foram realizados em um laboratório terceirizado.

4.2.1 Amostragem

A partir do inquérito populacional foram selecionados os três produtos derivados de milho mais consumidos no município de Cascavel – Paraná. Foram coletadas quatro amostras de cada um destes produtos para análise, totalizando doze amostras. Cada amostra correspondia a um lote distinto do produto em análise.

As amostras foram coletadas, quinzenalmente, em supermercados selecionados de maneira aleatória, sendo que em cada quinzena foi coletada uma amostra de cada um dos três produtos pré-definidos. O peso mínimo de cada amostra era de 0,5 kg. Após a coleta, as amostras eram encaminhadas imediatamente para o laboratório de microbiologia da universidade, e posteriormente para os demais laboratórios, onde eram realizadas as demais análises.

A coleta de amostras foi realizada entre os meses de fevereiro e março de 2011.

4.2.2 Controle microbiológico

4.2.2.1 Preparo da amostra

As análises microbiológicas foram realizadas nas primeiras 24 horas após a coleta das amostras. Até este momento, as mesmas eram mantidas no recipiente em que eram comercializadas, evitando qualquer contato com o ambiente.

Antes de iniciar a análise microbiológica, sob uma bancada higienizada com álcool 70%, realizava-se o quarteamento das amostras, separando em pacotes diferenciados e identificados as amostras que seriam utilizadas para o controle microbiológico, físico-químico e toxicológico.

4.2.2.2 Determinação de fungos

A contagem de fungos foi realizada por meio da técnica de plaqueamento em superfície de Ágar Batata Dextrose Acidificado, conforme metodologia proposta pela ABNT MB 2750 (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

A) Reagentes e meios de cultura

Para a contagem de fungos nas amostras de produtos derivados de milho, foram utilizados os seguintes reagentes/meios de cultura: Água peptonada 0,1% e Ágar Batata Dextrose Acidificado.

B) Diluições seriadas

Separou-se 25 g da amostra de cada produto analisado e adicionou-se 225 mL de água peptonada 0,1%; esta foi identificada como a primeira solução (diluição 1:10 ou 10^{-1}). Para o preparo da segunda diluição (10^{-2}) transferiu-se, para um tubo de ensaio, de forma asséptica, 1 mL da diluição 10^{-1} e, em seguida, adicionou-se 9 mL de água peptonada 0,1%. As diluições subsequentes foram obtidas da mesma maneira, transferindo-se 1 mL da diluição anterior para um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%, conforme apresentado na Figura 6.

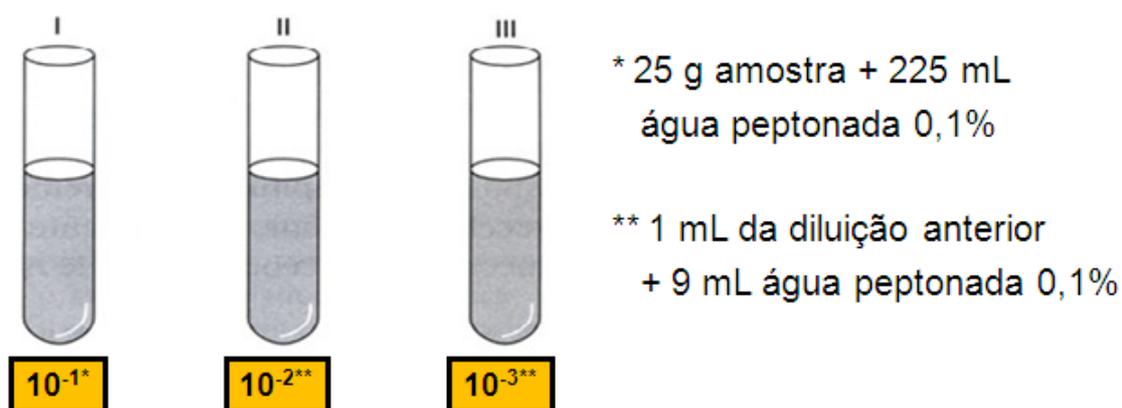


Figura 6 Esquematização das diluições seriadas para análise microbiológica.
Fonte: O autor.

C) Preparação das placas

Para o plaqueamento em superfície, as placas foram previamente preparadas com 15 a 20 mL do meio selecionado (Ágar Batata Dextrose).

Para o preparo do meio, pesou-se 11,7 g do mesmo e, este foi adicionado a um balão volumétrico contendo 300 mL de água destilada (volume aferido na proveta). Após procedimento na autoclave (Marca Prismatec Autoclaves, Modelo CS, capacidade 18 litros), o meio era distribuído em placas de Petri (previamente esterilizadas e secas em estufa a 50°C por 2 h); estas permaneciam por cerca de uma hora, dentro da capela de fluxo laminar (Marca Pachene, Modelo Pa-50), com as tampas parcialmente abertas para secagem do meio.

D) Inoculação

Foram selecionadas três diluições (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) e, de cada uma delas, era retirado 0,1 mL da amostra (com auxílio de pipeta esterilizada), para inoculação na superfície das placas de Petri. Com o auxílio da alça de Drigalski, o inóculo era espalhado por toda a superfície do meio, até que todo o excesso de líquido era absorvido.

Todo este procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar, com intuito de evitar que o meio externo contaminasse as amostras inoculadas.

E) Incubação

Após quinze minutos da inoculação, em média, as placas eram incubadas em estufa bacteriológica (Marca Solab, Modelo SL 101) a 25°C durante cinco dias. No terceiro dia de incubação as placas eram observadas e, em caso de crescimento de colônias espalhadas, a contagem era realizada neste dia, com intuito de prevenir a perda de placas por espalhamento das colônias. Quando no terceiro dia não se observava risco de espalhamento, as placas eram novamente incubadas e a contagem total era realizada no quinto dia de incubação.

Cada diluição foi inoculada em triplicata. Por essa razão, considerou-se como número de colônias a média aritmética obtida em cada uma das diluições.

F) Contagem das colônias e cálculo dos resultados

Após o quinto dia de incubação efetuava-se a contagem do número de colônias contidas em cada placa de Petri. O número de unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de amostra foi calculado multiplicando o número de colônias observadas pelo inverso da diluição inoculada.

4.2.3 Controle físico-químico

As análises para controle físico-químico foram iniciadas até 48 horas após a realização das análises microbiológicas.

As amostras em grãos eram previamente moídas com utilização de um Moinho de bancada (Marca Tecnal, Modelo TE 631/2), em porções médias de 30 g, durante um minuto e em rotação máxima. Em seguida, a amostra era peneirada com o uso de peneira 50 mesh e armazenada em pacotes individuais lacrados para a posterior realização das análises.

4.2.3.1 Determinação de umidade

A determinação de umidade das amostras foi realizada por meio da técnica 012/IV proposta pelo Instituto Adolf Lutz (2008).

A) Procedimento

Foram pesados em balança analítica (Marca Shimadzu, Modelo AY 220) 2 a 10 g da amostra em cápsula de porcelana tarada e, em seguida, a mesma era levada para estufa de secagem (Marca Tecnal, Modelo TE 394/1) em temperatura de 70°C por seis horas. Posteriormente, a mesma era resfriada em dessecador até temperatura ambiente.

B) Cálculo

Para a determinação do teor de umidade das amostras, utilizou-se a equação 2, apresentada a seguir:

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{100 \times N}{P} \quad \text{Eq. (2)}$$

em que:

N - perda de massa em gramas

P - número de gramas da amostra

4.2.3.2 Determinação de cinzas

A determinação de cinzas totais das amostras foi realizada por incineração a 550°C, de acordo com a técnica 018/IV proposta pelo Instituto Adolf Lutz (2008).

A) Procedimento

Foram pesados 5 a 10 g da amostra em cápsula de porcelana tarada e, em seguida, a mesma foi incinerada em mufla (Marca Quimis) a 550°C, até eliminação completa do carvão (neste momento as cinzas estavam brancas ou ligeiramente acinzentadas). Posteriormente, a mesma era resfriada em dessecador até temperatura ambiente.

B) Cálculo

Para a determinação do teor de cinzas das amostras, utilizou-se a equação 3, apresentada a seguir:

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{100 \times N}{P} \quad \text{Eq. (3)}$$

em que:

N - número de gramas de cinza

P - número de gramas da amostra

4.2.3.3 Determinação de acidez

A determinação de acidez das amostras foi realizada de acordo com a técnica 016/IV proposta pelo Instituto Adolf Lutz (2008).

A) Procedimento

Foram pesados 1 a 5 g da amostra em cápsula de porcelana tarada e, em seguida, a mesma era transferida para um frasco Erlenmeyer com auxílio de 50 mL de água destilada. A este frasco eram adicionadas de 2 a 4 gotas de fenolftaleína e, em seguida, titulado até coloração rósea, com solução de hidróxido de sódio 0,1 M.

B) Cálculo

Para a determinação do teor de acidez das amostras, utilizou-se a equação 4, apresentada a seguir:

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{V \times f \times 100}{P \times c} \quad \text{Eq. (4)}$$

em que:

V - n.º de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 M utilizado na titulação

f - fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 M

P - n.º de gramas da amostra

c - correção para solução de hidróxido de sódio (10 para solução de NaOH 0,1 M e 100 para solução de NaOH 0,01 M).

4.2.3.4 Determinação de proteínas

A determinação de proteínas das amostras foi realizada pelo método de Kjeldhal, de acordo com a técnica 036/IV proposta pelo Instituto Adolf Lutz (2008).

A) Procedimento

A.1 Preparo da amostra para a digestão

Foram pesados 0,2 g da amostra em papel alumínio e, em seguida, transferidos para um tubo digestor de proteínas micro Kjeldhal. A este tubo foi adicionado 0,5 g da mistura digestora de proteínas e 3 mL de ácido sulfúrico concentrado P.A.

A.2 Prova em branco

Para a prova em branco, no tubo digestor de proteínas micro Kjeldhal foi adicionado somente a mistura digestora de proteínas (0,5 g) e ácido sulfúrico concentrado P.A. (3 mL). Neste tubo não foi adicionado a amostra em análise.

A.3 Digestão das amostras

No processo de digestão todos os tubos (incluindo a prova em branco) foram acondicionados nas cavidades do bloco digestor, com os tubos acoplados em sistema de exaustão de gases (Scrubber Marca Tecnal, Modelo Te 152). Inicialmente o aparelho digestor e o sistema de exaustão eram ligados e programou-se para a temperatura inicial de 50°C. A temperatura¹⁰ era aumentada de forma gradativa, em intervalos de 50°C até atingir

¹⁰ A temperatura era controlada por equipamento acoplado ao bloco digestor: Marca Tecnal, Modelo

a temperatura de 350°C. Quando atingia a temperatura máxima (350°C), os tubos permaneciam por mais duas horas dentro do bloco, para finalizar a digestão.

Em seguida, o bloco era desligado e aguardava-se o resfriamento das amostras para prosseguir a destilação (em média 3 horas, no mínimo).

A.4 Destilação das amostras

Inicialmente ligava-se a torneira de abastecimento de água no aparelho e sua chave correspondente, até que o nível de água estivesse entre as duas marcas de nível presentes no equipamento.

Em seguida, acrescentava-se em média 5 mL de água destilada em cada tubo, e este era acoplado ao aparelho. Em um Erlenmeyer era adicionado 25 mL da solução de ácido bórico (utilizado como indicador) e, em seguida, acoplada a saída do condensador do aparelho de destilação¹¹.

A chave geral do aparelho era ligada e em seu reservatório eram adicionados 25 mL da solução de NaOH, que após a abertura da chave stop-flow era acrescida ao tubo de Kjeldahl.

Neste momento a chave de aquecimento era ligada e a temperatura ajustada para a potência média. A destilação era concluída quando o volume do Erlenmeyer atingia 50 mL e a solução tinha coloração castanho esverdeado.

A.5 Titulação

No conteúdo final do Erlenmeyer era realizada a titulação com solução de HCl 0,01 N, até viragem para a cor vinho (similar a cor inicial da solução de ácido bórico utilizado como indicador). A titulação da prova em branco também foi realizada e o volume gasto em todos os tubos foi anotado para os cálculos.

B) Cálculo

Para o cálculo da % de nitrogênio (%N) em cada amostra, utilizou-se a equação 5, apresentada a seguir:

TE 007MP.

¹¹ Marca Tecnal, Modelo TE 0363.

$$\% N = \frac{(V_a - V_b) \times 0,00014 \times 100}{P} \quad \text{Eq. (5)}$$

em que:

%N - porcentagem de nitrogênio presente na amostra

V_a - volume (em mL) de HCl utilizado na titulação da amostra

V_b - volume (em mL) de HCl utilizado na titulação da amostra em branco

P - número de gramas da amostra

Para o cálculo da quantidade de proteínas da amostra, utilizou-se a equação 6 expressa a seguir:

$$\% \text{ proteína} = \%N \times 6,25 \quad \text{Eq. (6)}$$

em que:

%N - porcentagem de nitrogênio da amostra

6,25 - fator de conversão para amostras como milho, feijão e soja.

4.2.3.5 Determinação de lipídios

A determinação de lipídios das amostras foi realizada de acordo com a técnica 032/IV proposta pelo Instituto Adolf Lutz (2008).

A) Procedimento

Foram pesados 2 a 5 g da amostra em papel filtro e, em seguida, este foi amarrado com um fio. O cartucho era transferido para o aparelho extrator tipo Soxhlet¹² e, a este, acoplado ao balão de fundo chato previamente tarado. Adicionou-se éter em quantidade suficiente para um Soxhlet e meio. Manteve-se sob aquecimento em chapa elétrica, extração contínua por oito horas. Após este período o papel filtro era retirado e o balão com o resíduo extraído era levado à estufa por uma hora a 105°C. Em seguida era resfriado em dessecador até temperatura ambiente.

B) Cálculo

Para a determinação do teor de lipídios das amostras, utilizou-se a equação 7,

¹² Marca Tecnal, Modelo TE 004.

apresentada a seguir:

$$\text{Lipídios (\%)} = \frac{N \times 100}{P} \quad \text{Eq. (7)}$$

em que:

N = número de gramas de lipídios

P = número de gramas da amostra

4.2.4 Controle toxicológico

4.2.4.1 Preparo e envio da amostra

Após a realização das análises microbiológicas, parte da amostra coletada foi enviada ao laboratório para a realização dos testes toxicológicos. As amostras eram enviadas ao laboratório em caixas de isopor, próprias para o transporte destas amostras.

4.2.4.2 Determinação de Aflatoxinas

A metodologia utilizada para determinação e quantificação de aflatoxinas consiste em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC); a metodologia de extração, clarificação e derivação 100% automatizada, foi desenvolvida e validada pelo laboratório, baseado no modelo proposto por Mallmann et al. (2000).

4.2.5 Análise dos dados

Os resultados obtidos foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA) e as possíveis diferenças entre as médias ($p < 0,05$) pelo teste de Scott Knot, utilizando-se o software SisVar 5.3 (FERREIRA, 2010).

4.3 Análise de risco

A análise de risco foi mensurada por meio da estimativa da Ingestão Diária Provável Média – IDPM para um determinado composto (AFB1). Para esta estimativa foram considerados:

- Média de peso corpóreo atual (kg) de cada categoria populacional (crianças, adolescentes, jovens/adultos e idosos);

- Consumo médio diário de produtos derivados de milho disponível na Pesquisa de Orçamento Familiar 2008/2009;
- Concentração média de Aflatoxina B1¹³ detectada nas amostras analisadas.

A Ingestão Diária Provável Média (IDPM) foi calculada utilizando a concentração média de aflatoxina B1 encontrada nas amostras analisadas, multiplicado, pela quantidade ingerida diariamente do alimento (derivados de milho), dividido pelo peso corpóreo médio da população em análise. Assim, pode-se obter o consumo diário médio de aflatoxina/kg de peso corpóreo (HERRMAN; YOUNES, 1999).

O dado obtido (IDPM) foi comparado com os limites propostos nos estudos de Kuiper Goodman (1985). Este estabelece como Ingestão Diária Tolerável para AFB1 0,11 a 0,19 ng/kg de peso corpóreo/dia, ou seja, a ingestão de quantidades superiores a esta podem acarretar danos à saúde do consumidor.

¹³ Concentração média AFB1 = Somatório de AFB1 detectada ÷ número total de amostras.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Inquérito populacional

O município de Cascavel – Paraná foi dividido em cinco quadrantes geográficos (leste, oeste, norte, sul e centro). Em cada um destes quadrantes realizou-se um levantamento dos grandes mercados disponíveis e, após, escolheu-se de forma aleatória um supermercado em cada região geográfica para aplicação do formulário. Na Figura 7 está representada a localização de cada um dos supermercados selecionados.



Figura 7 Localização geográfica dos supermercados selecionados para o estudo no município de Cascavel – Paraná.

Fonte: Adaptado de Google Maps[®]. Disponível em: <<http://maps.google.com.br>> (2011)

Foram incluídos na pesquisa 549 indivíduos, sendo 314 (57,2%) do gênero feminino e 235 (42,8%) do gênero masculino. Não houve casos de participantes que responderam o formulário e não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Como todos os formulários eram preenchidos pelo entrevistador, nenhum formulário foi desconsiderado por

preenchimento errôneo ou incompleto. Deste modo, todos os dados coletados foram contabilizados no resultado final.

A primeira parte do formulário teve como intuito caracterizar a população quanto à idade, gênero, profissão, estado civil, peso corpóreo¹⁴, escolaridade e renda média familiar. A Tabela 7 apresenta o perfil geral da população entrevistada com relação à região geográfica, número de indivíduos e idade.

Tabela 7 Perfil geral da população entrevistada quanto à região geográfica, número de indivíduos e idade. Cascavel, 2011

Região geográfica	População	n.º de indivíduos	Idade*
Região Oeste (n = 103)	Crianças	00	00
	Adolescentes	11	15,27 ± 2,7961
	Jovens/Adultos	83	35,87 ± 10,0649
	Idosos	09	73,44 ± 10,3212
Região Centro (n = 124)	Crianças	18	6,94 ± 2,0996
	Adolescentes	27	14,44 ± 2,3424
	Jovens/Adultos	55	38,78 ± 11,5015
	Idosos	24	66,91 ± 5,3965
Região Sul (n = 112)	Crianças	15	7,2 ± 1,2649
	Adolescentes	31	14,54 ± 2,5276
	Jovens/Adultos	40	32,65 ± 12,0905
	Idosos	26	68,92 ± 7,3697
Região Leste (n = 106)	Crianças	18	7,5 ± 1,2485
	Adolescentes	29	14,24 ± 2,0985
	Jovens/Adultos	36	36,19 ± 7,4956
	Idosos	23	70,43 ± 7,2790
Região Norte (n = 104)	Crianças	09	7,88 ± 1,1666
	Adolescentes	32	13,28 ± 2,4127
	Jovens/Adultos	40	38,35 ± 13,3081
	Idosos	23	67,17 ± 5,3142

* Na coluna "Idade" está descrito a idade média ± desvio padrão para cada categoria populacional.

Conforme se observa na Tabela 7 obteve-se uma homogeneidade populacional no que tange a distribuição geográfica, tendo em vista que em todos os supermercados foram entrevistados um número similar de indivíduos. Quanto às categorias populacionais deve-se ressaltar algumas divergências em relação à amostra mínima proposta inicialmente, conforme apresentado na Tabela 8.

¹⁴ Utilizado posteriormente para a estimativa da Ingestão Diária Provável Média de aflatoxina B1.

Tabela 8 Comparativo entre amostra mínima estimada e amostra real entrevistada de indivíduos por categoria populacional. Cascavel, 2011

Categoria populacional	Amostra mínima estimada	Amostra real entrevistada
Crianças	100	60
Adolescentes	114	130
Jovens/Adultos	341	254
Idosos	39	105
Total	594	549

As categorias “crianças” e “jovens/adultos” não contabilizaram a amostra mínima estimada. Com relação às crianças, a maior dificuldade para incluí-las no estudo deveu-se a baixa incidência desta população nos supermercados amostrados, nos horários destinados a entrevista (manhã e tarde), período no qual, frequentemente, estes indivíduos estão em horário escolar. Com relação à população de jovens/adultos, esta apresentou adesão satisfatória à pesquisa; possivelmente se o tempo disponível para aplicação do formulário fosse maior, a amostra mínima teria sido atingida.

Em contrapartida, a população de adolescentes e idosos, contabilizou um número de entrevistados maior que o proposto inicialmente. A adesão destes dois grupos à entrevista surpreendeu de forma satisfatória, tendo em vista que na maioria das vezes o público de adolescentes não demonstra interesse em participar deste tipo de pesquisa.

Quanto ao grau de escolaridade dos entrevistados, observaram-se variações condizentes com a faixa etária de cada grupo. Entre as crianças, por exemplo, a maioria (58,4%) está cursando as séries iniciais do ensino fundamental. Entre os adolescentes, observou-se que 74,6% (97) estão cursando séries que correspondem na antiga grade escolar, às séries de 5ª a 8ª; os demais (25,4%) estão cursando o ensino médio. O grupo de jovens/adultos foi o que apresentou a maior variedade quanto à escolaridade. Um índice que chama a atenção neste grupo populacional é o percentual reduzido (8,7%) de indivíduos com pós-graduação completa. Finalmente, no grupo de idosos, observaram-se as maiores taxas de ensino fundamental incompleto (87,6%).

Na Tabela 9 apresenta-se o descritivo quanto à escolaridade dos indivíduos entrevistados em relação à região geográfica.

Verificou-se também a renda média familiar dos indivíduos entrevistados. Os dados detalhados quanto a este parâmetro estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 9 Perfil geral da população entrevistada quanto à escolaridade e a região geográfica. Cascavel, 2011

Região geográfica	Escolaridade*	n.º de indivíduos	%
Região Oeste (n = 103)	Ensino fundamental incompleto	19	18,40
	Ensino fundamental completo	04	3,90
	Ensino médio incompleto	10	9,70
	Ensino médio completo	25	24,30
	Graduação incompleta	10	9,70
	Graduação completa	10	9,70
	Pós-graduação incompleta	00	0,00
	Pós-graduação completa	25	24,30
Região Centro (n = 124)	Ensino fundamental incompleto	37	29,80
	Ensino fundamental completo	14	11,30
	Ensino médio incompleto	19	15,32
	Ensino médio completo	26	20,97
	Graduação incompleta	05	4,06
	Graduação completa	12	9,68
	Pós-graduação incompleta	01	0,81
	Pós-graduação completa	10	8,06
Região Sul (n = 112)	Ensino fundamental incompleto	27	24,11
	Ensino fundamental completo	15	13,39
	Ensino médio incompleto	26	23,21
	Ensino médio completo	19	16,96
	Graduação incompleta	13	11,61
	Graduação completa	06	5,36
	Pós-graduação incompleta	00	0,00
	Pós-graduação completa	06	5,36
Região Leste (n = 106)	Ensino fundamental incompleto	36	33,96
	Ensino fundamental completo	05	4,72
	Ensino médio incompleto	23	21,70
	Ensino médio completo	31	29,24
	Graduação incompleta	02	1,89
	Graduação completa	04	3,77
	Pós-graduação incompleta	00	0,00
	Pós-graduação completa	05	4,72
Região Norte (n = 104)	Ensino fundamental incompleto	34	32,7
	Ensino fundamental completo	19	18,27
	Ensino médio incompleto	29	27,89
	Ensino médio completo	16	15,38
	Graduação incompleta	02	1,92
	Graduação completa	01	0,96
	Pós-graduação incompleta	01	0,96
	Pós-graduação completa	02	1,92

* A divisão de escolaridade adotada neste estudo contempla a antiga grade escolar. Deste modo, o ensino fundamental corresponde às séries iniciais até a 8ª série e o ensino médio corresponde ao período do 1º ao 3º ano do segundo grau. Os indivíduos eram orientados quanto a esta divisão no momento de preencher o formulário.

Tabela 10 Renda média familiar dos indivíduos entrevistados de acordo com a região geográfica. Cascavel, 2011

Região geográfica	Renda média familiar*	n.º de indivíduos	%
Região Oeste (n = 103)	Até R\$ 510,00	06	5,82
	R\$ 510,01 a R\$ 1000,00	25	24,27
	R\$ 1000,01 a R\$ 2000,00	33	32,04
	R\$ 2000,01 a R\$ 3000,00	20	19,42
	Acima R\$ 3000,01	17	16,50
	Não sei	02	1,95
Região Centro (n = 124)	Até R\$ 510,00	04	3,23
	R\$ 510,01 a R\$ 1000,00	24	19,35
	R\$ 1000,01 a R\$ 2000,00	33	26,61
	R\$ 2000,01 a R\$ 3000,00	18	14,52
	Acima R\$ 3000,01	34	27,42
	Não sei	11	8,87
Região Sul (n = 112)	Até R\$ 510,00	01	0,89
	R\$ 510,01 a R\$ 1000,00	19	16,96
	R\$ 1000,01 a R\$ 2000,00	44	39,29
	R\$ 2000,01 a R\$ 3000,00	15	13,39
	Acima R\$ 3000,01	24	21,43
	Não sei	09	8,04
Região Leste (n = 106)	Até R\$ 510,00	00	0,00
	R\$ 510,01 a R\$ 1000,00	11	10,38
	R\$ 1000,01 a R\$ 2000,00	32	30,19
	R\$ 2000,01 a R\$ 3000,00	31	29,25
	Acima R\$ 3000,01	22	20,75
	Não sei	10	9,43
Região Norte (n = 104)	Até R\$ 510,00	04	3,85
	R\$ 510,01 a R\$ 1000,00	40	38,46
	R\$ 1000,01 a R\$ 2000,00	36	34,62
	R\$ 2000,01 a R\$ 3000,00	11	10,57
	Acima R\$ 3000,01	06	5,77
	Não sei	07	6,73

* A divisão inicial para a renda média familiar, considerou o salário mínimo vigente no ano de 2010 (R\$ 510,00), decretado pela Lei n.º 12.255 de 15 de junho de 2010.

Em relação à renda familiar dos indivíduos entrevistados, de um modo geral, observou-se que a maioria dos indivíduos (43,2%) relata renda mensal que varia de R\$ 1000,01 a R\$ 3000,00. Um percentual significativo (21,7%) enquadra-se na classe média baixa, com mensal que varia de R\$ 510,01 a R\$ 1000,00. Enquanto isso, se observou que 18,8% da população entrevistada relataram renda mensal superior a R\$ 3000,00; nota-se que esta população está concentrada principalmente na região central do município. Felizmente, um pequeno número de indivíduos, apenas 2,7%, afirmou renda mensal inferior a um salário mínimo (R\$ 510,00).

O peso corpóreo de cada indivíduo também foi aferido, com o intuito de, posteriormente, calcular a Ingestão Diária Provável Média de aflatoxina B1 (Avaliação da exposição). A Tabela 11 apresenta o peso corpóreo médio de cada categoria populacional analisada.

Tabela 11 Peso corpóreo médio da população entrevistada. Cascavel, 2011

Categoria populacional	Peso corpóreo (média ± desvio padrão)
Crianças	30,21 ± 5,9751
Adolescentes	52,05 ± 12,6996
Jovens/Adultos	71,04 ± 16,7718
Idosos	73,53 ± 12,6095

A estatura dos indivíduos entrevistados não foi aferida, pois não fazia parte dos objetivos deste trabalho analisar o estado nutricional dos indivíduos, pelo cálculo do IMC¹⁵. Entretanto, chama a atenção, na Tabela 11, o peso corpóreo médio da população infantil (30,21 kg ± 5,9757). Considerando que a maioria dos indivíduos desta categoria populacional tinha idade entre seis e sete anos, pode-se supor que a maioria destes já apresenta excesso de peso na infância.

A segunda parte do formulário teve como objetivo analisar o consumo de produtos derivados de milho no município de Cascavel. Uma lista contendo todos os produtos derivados de milho, disponíveis nos supermercados do município, era apresentada ao entrevistado e o mesmo deveria eleger os três produtos mais consumidos. Na Figura 8 apresenta-se a esquematização gráfica da lista de produtos apresentada aos entrevistados.

PRODUTOS DERIVADOS DE MILHO
<ul style="list-style-type: none"> • Quirera • Óleo de milho • Milho enlatado • Pamonha • Flocos de milho • Amido de milho • Cereal matinal • Pipoca • Milho espiga • Pão de milho • Margarina • Fubá • Canjica • Salgadinho tipo “chips” • Biscoito de milho

Figura 8 Esquematização gráfica da lista de produtos apresentada aos entrevistados.

¹⁵ O Índice de Massa Corpórea – IMC não pode ser utilizado como indicativo isolado do estado nutricional de um indivíduo; ele deve ser analisado em conjunto com medidas que denotam reservas de massa gorda e muscular.

Para que não houvesse qualquer tipo de interferência na resposta do entrevistado quanto a esta questão, como, por exemplo, escolher os primeiros da lista, a ordem de apresentação dos produtos foi definida de forma aleatória.

Na Figura 9 apresenta-se o resultado quanto aos produtos derivados de milho mais consumidos no município de Cascavel – Paraná. Conforme se podem verificar os produtos mais consumidos, em ordem do maior para o menor, foram respectivamente, fubá (17%), pipoca (16%) e amido de milho (11%).

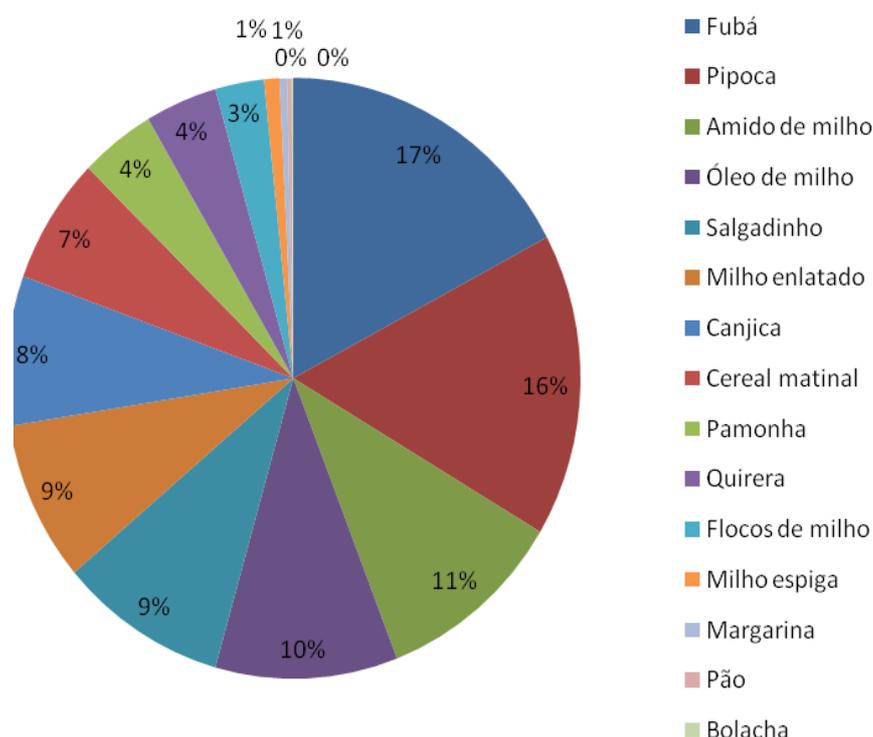


Figura 9 Representação gráfica dos produtos derivados de milho consumidos no município de Cascavel – Paraná, 2011.

Quando se comparam os produtos mais consumidos na população analisada com os resultados de consumo apresentados pela Pesquisa de Orçamento Familiar (POF 2008-2009) no estado do Paraná, observa-se que, nesta, os três produtos mais consumidos foram o milho em grão, o fubá e o salgadinho tipo “chips”. No município de Cascavel, o salgadinho tipo “chips” foi o quinto produto mais consumido (9% da população), com ênfase importante para o consumo pela maioria da população infantil (76,6%), o que denota hábitos alimentares inadequados para a faixa etária e pode justificar o perfil desta população com relação ao peso médio aferido durante a entrevista.

Outra divergência significativa é com relação ao consumo de amido de milho. Na população em análise, este foi o terceiro produto mais consumido (11% da população), e na Pesquisa de Orçamento Familiar sua aquisição é inferior a diversos outros produtos (7º

produto mais consumido no estado do Paraná). Esta informação pode ser justificada pelo fato de que todos os indivíduos idosos entrevistados (100%) listaram este produto como um dos derivados de milho mais consumidos, utilizado principalmente para o preparo de mingaus.

Os produtos pipoca, óleo de milho, canjica, cereal matinal, pamonha, quirera, margarina e biscoito de milho não foram pesquisados na Pesquisa de Orçamento Familiar e, por isso, seus dados de consumo não podem ser comparados com os dados de consumo da população de Cascavel.

A Tabela 12 apresenta de forma detalhada a aquisição alimentar domiciliar per capita de produtos derivados de milho, na região Sul do país, estratificado por unidades de federação.

Tabela 12 Aquisição alimentar domiciliar per capita estratificada por unidades de federação – Região Sul (POF 2008-2009)

Alimento/Preparação	Per capita anual média (kg)		
	Unidades de Federação		
	Paraná	Santa Catarina	Rio Grande do Sul
Milho em grão	1,68	0,82	2,76
Milho enlatado	0,287	0,409	0,213
Milho espiga	0,512	1,238	0,564
Amido de milho	0,135	0,189	0,092
Creme de milho	0	0,020	0,005
Flocos de milho	0,334	0,468	0,338
Farinha de milho	1,608	1,542	1,405
Pão de milho	0,069	0,350	0,274
Salgadinho tipo “chips”	0,520	0,516	0,468

Fonte: Adaptado de IBGE, 2010.

Avaliou-se também a frequência de consumo dos produtos derivados de milho e a razão que motiva este consumo. Estes dados estão apresentados na Figura 10 e 11, respectivamente.

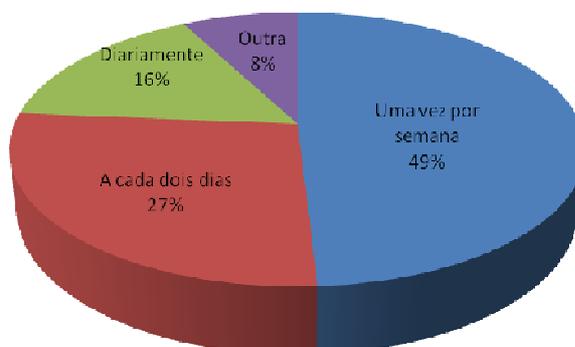


Figura 10 Representação gráfica da frequência de consumo dos produtos derivados de milho no município de Cascavel – Paraná.

Observou-se que a maioria da população entrevistada consome os produtos derivados de milho semanalmente (49%), e que apenas 16% mantém consumo diário. Quando avaliado o consumo diário e a cada dois dias, obteve-se um percentual de 43% da população, ou seja, praticamente metade da amostra mantém consumo mais esporádico (semanal) e outros 43% mantém consumo em menor frequência (diário ou a cada dois dias). Apenas 8% relataram consumo diferente dos mencionados.

Quanto à razão para o consumo destes alimentos, a maioria (63%) relatou que consome porque gosta do sabor; outro percentual expressivo (25%) é devido ao consumo por hábito. O preço acessível, tido inicialmente como um dos fatores que mais motivariam a população para a aquisição destes alimentos, de forma surpreendente correspondeu a apenas 2% da amostra. O valor nutritivo destes alimentos também foi citado por 9% da população, o que denota que a cada dia mais os indivíduos buscam melhorar a qualidade de sua alimentação, inserindo na mesma, alimentos de elevado valor nutritivo, como os produtos derivados de milho, por exemplo.

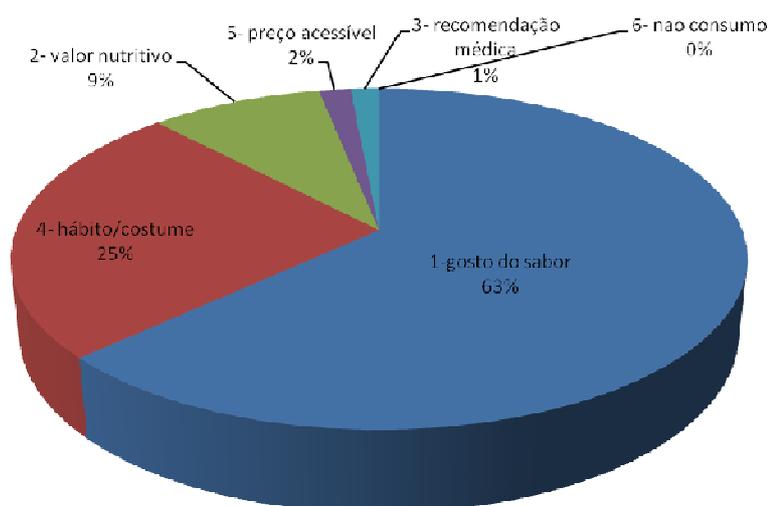


Figura 11 Representação gráfica do motivo que estimula o consumo de produtos derivados de milho no município de Cascavel – Paraná.

5.2 Controle de qualidade

Com a realização do inquérito populacional, obtiveram-se os três produtos derivados de milho mais consumidos no município de Cascavel. Estes foram então levados para o laboratório com o intuito de verificar seus aspectos microbiológicos, físico-químicos e toxicológicos.

Definiu-se que as amostras seriam coletadas quinzenalmente nos supermercados em que o inquérito populacional foi realizado. A coleta destas amostras foi esquematizada da seguinte maneira:

- a) Realizou-se uma visita nos cinco supermercados (selecionados para o inquérito populacional), com o intuito de coletar informações referentes a todas as marcas disponíveis de fubá, amido de milho e pipoca;
- b) Em seguida, de forma aleatória escolheu-se o supermercado para coleta de cada uma das amostras;
- c) Finalmente, elegeu-se a marca a ser amostrada também de forma aleatória, considerando as marcas disponíveis no mercado selecionado;
- d) Em todas as coletas subsequentes, manteve-se o mesmo esquema produto/marca/supermercado, com o intuito de evitar a interferência de fatores externos nos dados laboratoriais, como, por exemplo, forma de acondicionamento dos produtos em cada supermercado;
- e) Quinzenalmente, a pesquisadora responsável realizava uma visita aos supermercados selecionados, coletava as amostras pré-determinadas e encaminhava ao laboratório para análise;

Na Tabela 13 é apresentada a descrição detalhada quanto ao perfil das amostras de fubá, amido de milho e pipoca coletadas.

Tabela 13 Descritivo das amostras coletadas

Data da coleta	Produto	Marca	Lote	Qtde amostrada	Ponto de coleta
04/02/11	Fubá	A	Não descrito	3 unid – 500g	Região Sul
04/02/11	Pipoca	B	60	3 unid – 500g	Região Norte
04/02/11	Amido de milho	C	GG	3 unid – 500g	Região Centro
18/02/11	Fubá	A	Não descrito	3 unid – 500g	Região Sul
18/02/11	Pipoca	B	63	3 unid – 500g	Região Norte
18/02/11	Amido de milho	C	M8	3 unid – 500g	Região Centro
04/03/11	Fubá	A	Não descrito	3 unid – 500g	Região Sul
04/03/11	Pipoca	B	64	3 unid – 500g	Região Norte
04/03/11	Amido de milho	C	SG	3 unid – 500g	Região Centro
18/03/11	Fubá	A	Não descrito	3 unid – 500g	Região Sul
18/03/11	Pipoca	B	67	3 unid – 500g	Região Norte
18/03/11	Amido de milho	C	VG	3 unid – 500g	Região Centro

É importante salientar que todas as amostras foram analisadas antes de expirar sua data de validade e que todos os cuidados durante a manipulação foram adotados a fim de evitar a interferência de fatores externos nos ensaios de cada amostra.

5.2.1 Controle microbiológico

Na Tabela 14 estão descritos os resultados obtidos com a análise microbiológica (contagem de fungos) realizadas no fubá, amido de milho e pipoca.

Tabela 14 Contaminação fúngica em amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializados no município de Cascavel-PR (UFC/g)

Produto	Semana	Diluição		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Fubá	1	0,066 ± 0,057 ^b	0,033 ± 0,057 ^a	0 ^a
	2	2,366 ± 0,551 ^a	0,036 ± 0,026 ^a	0 ^a
	3	0,066 ± 0,115 ^b	0,006 ± 0,011 ^a	0 ^a
	4	0,566 ± 0,305 ^b	0,266 ± 0,305 ^a	0,066 ± 0,115 ^a
Pipoca	1	0 ^b	0 ^a	0 ^a
	2	0 ^b	0 ^a	0 ^a
	3	0,033 ± 0,057 ^b	0,003 ± 0,005 ^a	0 ^a
	4	0,533 ± 0,493 ^a	0 ^a	0 ^a
Amido de milho	1	0,100 ± 0,173 ^a	0 ^a	0 ^a
	2	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	3	0 ^a	0 ^a	0 ^a
	4	0,066 ± 0,057 ^a	0,033 ± 0,057 ^a	0 ^a

Os resultados (média ± desvio padrão) seguidos por uma mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. A análise estatística compara a diferença entre os resultados encontrados para cada produto em cada semana de coleta; não compara produtos entre si.

Dentre os produtos analisados, observou-se que o fubá foi o alimento mais frequentemente contaminado por fungos, tendo em vista que em todas as coletas as culturas foram positivas. A amostra mais contaminada foi a coletada na segunda semana, cuja cultura identificou em média 2,366 UFC/g.

Em nível nacional, a Resolução RDC n.º 12, de 02 de janeiro de 2001, preconiza os limites de contaminação microbiológica para alimentos (BRASIL, 2001). Para o amido de milho e fubá esta legislação estabelece os limites para *Bacillus cereus*, coliformes termotolerantes e *Salmonella* e, para a pipoca, a contaminação por coliformes termotolerantes e *Salmonella*; porém, não apresenta limites para contaminação fúngica nestes alimentos. Deste modo, não é possível comparar os resultados encontrados com os aspectos legais em vigência no país.

Todas as colônias identificadas nas culturas de fubá e amido de milho tinham aspecto de levedura; porém, as colônias observadas nas culturas de pipoca, assemelhavam-se a *Aspergillus*. Todavia é necessário enfatizar que a técnica para identificação das colônias não fazia parte dos objetivos iniciais deste projeto. As afirmações

quanto à presença de leveduras e *Aspergillus* são baseadas em características morfológicas de cada estrutura, capazes de serem observadas a olho nu¹⁶.

Na Figura 12 são apresentadas suas placas de cultivo para ilustrar a diferença visual entre a colônia de fungos filamentosos(12a) e a colônia de leveduras (12b).

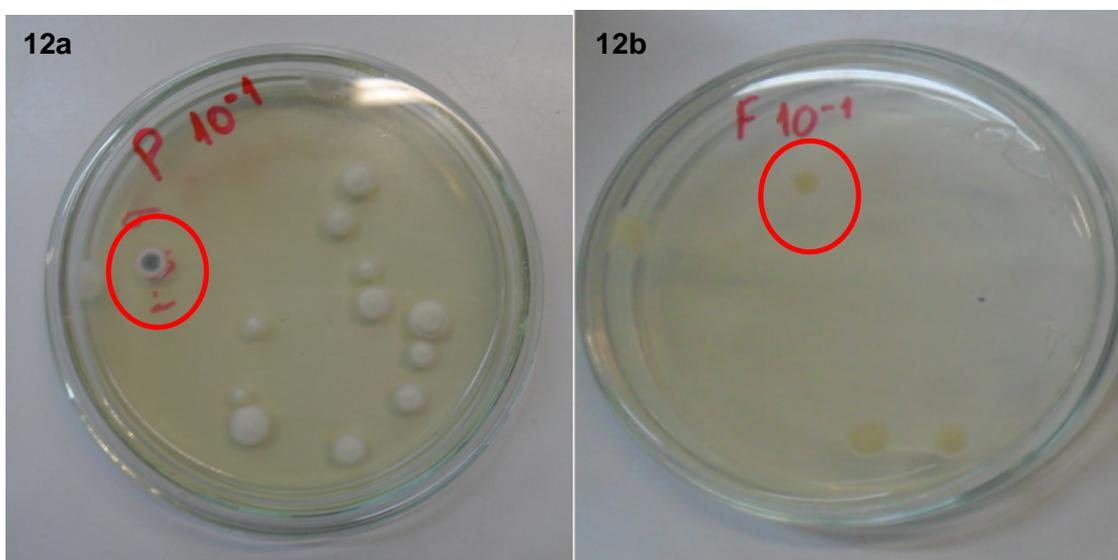


Figura 12 Representação gráfica de uma cultura de pipoca, contendo uma colônia de *Aspergillus*, e uma cultura de fubá contendo colônias com aspecto de leveduras.

Márcia e Lázari (1998) analisaram 81 amostras de milho em grão, 81 amostras de fubá e 81 amostras de grits¹⁷ quanto à presença de fungos. Os autores concluíram que a maioria das amostras de milho apresentaram-se contaminadas por *Aspergillus* (100%), *Fusarium* (97,5%) e *Penicillium* (82,7%). Em contrapartida, os grits apresentaram níveis de infecção baixos para estes fungos; 16% das amostras apresentaram-se contaminadas por *Aspergillus*, 13,6% por *Fusarium* e 1,2% por *Penicillium*. Em relação às amostras de fubá, 96,3% apresentaram-se positivas para *Penicillium*, 95,1% para *Aspergillus* e 79% para *Fusarium*.

Ribeiro et al, (2003) analisaram amostras de fubá, xerém¹⁸ e farinha de milho pré-cozida comercializadas na região metropolitana de Recife. De cada produto, foi retirada uma amostra para isolamento e identificação dos fungos. Foram isoladas 23 espécies de fungos filamentosos distribuídas em oito gêneros. Os autores constataram que o maior número de espécies isoladas foi detectado no fubá de milho (47%), seguido do xerém (29,5%) e da farinha de milho (23,5%).

¹⁶ Macroscopicamente, as colônias de *Aspergillus* apresentam aspecto filamentosos, de coloração verde amarelada, enquanto as leveduras, de forma geral, apresentam uma colônia gelatinosa (DILKIN et al., 2002).

¹⁷ Milho quebrado.

¹⁸ Prato típico de Portugal e trazido para o Brasil; preparado a base de farinha de milho acompanhado de leite, carne assada ou galinha guisada.

Em plataformas para consulta de artigos científicos é escasso o número de publicações que pesquisam a microbiota fúngica em produtos derivados de milho. A maioria dos estudos, concentra-se na pesquisa destes microorganismos no grão de milho durante o seu armazenamento. Outra questão de grande importância refere-se ao delineamento do estudo. Em nenhum deles se pesquisou a contaminação fúngica em número absoluto, o foco era a identificação das espécies. Sendo assim, não foram encontrados trabalhos que pudessem ser comparados com os resultados apresentados neste estudo.

5.2.2 Controle físico-químico

Após a conclusão dos ensaios microbiológicos realizou-se os testes para controle físico-químico (umidade, cinzas, acidez, proteína e lipídio).

Independente do processo de industrialização, todos os alimentos mantém um percentual de água em maior ou menor proporção, que corresponde a sua umidade (IAL, 2008).

Na Tabela 15 são apresentados os resultados obtidos nos ensaios para determinação da umidade das amostras de fubá, pipoca e amido coletadas nos supermercados do município.

Tabela 15 Umidade (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR

Análises	Fubá	Pipoca	Amido de milho
Semana 1	9,553 ± 0,117 ^a	8,133 ± 0,046 ^a	10,71 ± 0,265 ^a
Semana 2	2,853 ± 0,144 ^b	5,833 ± 0,240 ^c	3,146 ± 0,043 ^b
Semana 3	1,810 ± 0,093 ^c	6,133 ± 0,107 ^b	2,920 ± 0,070 ^b
Semana 4	1,450 ± 0,428 ^c	5,720 ± 0,228 ^c	2,310 ± 0,401 ^c

Obs. Os resultados (média ± desvio padrão) seguidos por uma mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

A Resolução RDC n.º 263, de 22 de setembro de 2005, aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos, excluindo desta legislação somente a farinha desengordurada de soja (BRASIL, 2005). Com relação ao teor de umidade, único critério de qualidade preconizado pela legislação, o limite máximo estabelecido é de 15% para farinhas, amidos de cereais e farelos. De tal modo, quando se observam os teores de umidade das amostras de fubá e amido de milho analisadas, conclui-se que todas estavam adequadas em relação a este parâmetro de qualidade.

Quando se analisam os teores de umidade para os diferentes lotes de fubá amostrados, obtêm-se diferença estatística significativa ($p = 0,0001$). O mesmo é observado com os lotes de amido de milho inspecionados ($p = 0,0002$).

As recomendações para os ensaios de qualidade da pipoca estão descritas na Portaria n.º 845, de 08 de novembro de 1976¹⁹ (BRASIL, 1976), ainda em vigência no país. Quanto ao teor de umidade a portaria preconiza um limite máximo de 14,5%. Assim sendo, todas as amostras analisadas estavam adequadas quanto a este critério de qualidade. Na comparação entre os lotes amostrados, observou-se diferença estatística significativa ($p = 0,0001$).

De um modo geral, visualiza-se ainda na Tabela 15 que na primeira semana, todas as amostras analisadas, apresentaram teores de umidade maiores que as determinações nas semanas seguintes. Deve-se salientar que na semana da coleta e realização destas análises, o tempo estava chuvoso e, conseqüentemente, a umidade relativa do ar estava aumentada. Considerando que no laboratório as técnicas adotadas foram as mesmas durante todo o experimento (dois meses), concluiu-se que os maiores teores de umidade devem-se ao acondicionamento incorreto destas amostras nos supermercados, que não dispõem de controle de temperatura e umidade nas gôndolas onde estes produtos ficam dispostos para a venda.

Outro parâmetro de qualidade avaliado foi o teor de cinzas²⁰ das amostras. Na Tabela 16 estão apresentados os resultados obtidos nestes ensaios.

Tabela 16 Teor de cinzas (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR

Análises	Fubá	Pipoca	Amido de milho
Semana 1	0,806 ± 0,003 ^a	1,183 ± 0,048 ^a	0,070 ± 0,029 ^a
Semana 2	0,960 ± 0,011 ^a	1,133 ± 0,148 ^a	0,063 ± 0,016 ^a
Semana 3	0,823 ± 0,036 ^a	1,326 ± 0,419 ^a	0,053 ± 0,005 ^a
Semana 4	0,970 ± 0,011 ^a	1,150 ± 0,051 ^a	0,063 ± 0,018 ^a

Obs. Os resultados (média ± desvio padrão) seguidos por uma mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Observa-se na Tabela 16 que os níveis de cinzas não oscilaram de forma expressiva quando analisados os quatro lotes de cada produto (fubá, pipoca e amido de milho). Em nenhum dos casos houve diferença estatisticamente significativa entre os lotes avaliados em cada produto.

Atualmente no país, não há parâmetro legal que estabeleça o mínimo/máximo teor de cinzas para os alimentos avaliados. Neste estudo, na ausência de um parâmetro legal, utilizou-se uma tabela de composição de alimentos para comparar os resultados obtidos. Deste modo, a Tabela 17 apresenta o comparativo entre os dados obtidos pelos ensaios

¹⁹ A Portaria n.º 11, de 12 de abril de 1996, do Ministério da Agricultura complementa a legislação publicada em 1976, definindo conceitos antes omissos, referentes ao grão de milho como mofado, fermentado até ¼, fragmento e prejudicado por diferentes causas, todos de extrema importância para determinar a qualidade do produto.

²⁰ Representa o percentual de compostos inorgânicos contidos nos alimentos (IAL, 2008).

conduzidos neste estudo e o preconizado pela Tabela de Composição de Alimentos da USP (TACB/USP, 1998), quanto ao teor de cinzas.

Tabela 17 Tabela comparativa da composição nutricional (cinzas) das amostras analisadas com o preconizado em uma tabela de composição de alimentos

Nutriente	Amostra					
	Fubá		Pipoca		Amido	
	Amostra	Tabela	Amostra	Tabela	Amostra	Tabela
Cinzas (g/100g)	0,889	0,50	1,198	1,47	0,063	0,08

Obs. Os valores expressos indicam a média de todos os lotes analisados para cada produto. Fonte: Adaptado de TACB/USP, 1998.

A partir da comparação apresentada na Tabela 17, verificou-se que os índices de cinzas são similares ao preconizado pela tabela de composição utilizada. Porém, sabe-se que inúmeros fatores podem alterar o teor de cinzas de um alimento. No caso do milho, por exemplo, as condições do solo de cultivo pode ser um dos fatores determinantes para a composição do grão e, portanto, diretamente relacionada ao teor de cinzas. Talvez este possa ser um dos motivos que desobriga os produtores a manterem controle sobre este indicador.

A acidez de um alimento é outro parâmetro de extrema importância para avaliar seu estado de conservação. Qualquer que seja o processo de decomposição (oxidação e fermentação, por exemplo), sempre há alteração da concentração dos íons de hidrogênio e, conseqüentemente, alteração do grau de acidez de um alimento (IAL, 2008). Quando a análise refere-se a produtos em que a contaminação por fungos é frequente, como em cultura de milho, por exemplo, este parâmetro torna-se ainda mais importante, tendo em vista que estes microorganismos crescem preferencialmente em meios acidificados (GONÇALVES et al., 2001).

Na Tabela 18 são apresentados os resultados obtidos nos ensaios para determinação de acidez nas amostras.

Verifica-se na Tabela 18 que os índices de acidez pouco oscilaram entre os lotes de cada um dos produtos analisados. Como não há nenhum aspecto legal vigente no país, referente a controle de acidez nestes produtos, não há como afirmar se as amostras apresentaram valores satisfatórios quanto a este parâmetro.

Foram avaliados também aspectos referentes à composição nutricional das amostras de pipoca, fubá e amido. Os parâmetros avaliados foram aporte protéico e lipídico das amostras, apresentados na Tabela 19 e 20, respectivamente.

Tabela 18 Índice de acidez (N%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR

Análises	Fubá	Pipoca	Amido de milho
Semana 1	6,553 ± 1,112 ^a	6,713 ± 1,507 ^a	5,656 ± 0,420 ^a
Semana 2	4,733 ± 0,283 ^a	5,266 ± 0,332 ^b	2,153 ± 0,107 ^c
Semana 3	5,266 ± 0,449 ^a	5,263 ± 0,362 ^b	3,586 ± 0,505 ^b
Semana 4	4,563 ± 0,386 ^a	4,746 ± 0,309 ^b	3,353 ± 0,310 ^b

Obs. Os resultados (média ± desvio padrão) seguidos por uma mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 19 Teor de proteínas (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR

Análises	Fubá	Pipoca	Amido de milho
Semana 1	7,020 ± 0,155 ^a	10,316 ± 0,737 ^a	0,323 ± 0,050 ^c
Semana 2	6,836 ± 0,589 ^a	8,353 ± 0,352 ^b	0,053 ± 0,011 ^d
Semana 3	7,450 ± 0,259 ^a	10,586 ± 0,358 ^a	0,143 ± 0,019 ^b
Semana 4	6,296 ± 0,124 ^a	8,570 ± 0,291 ^b	0,386 ± 0,025 ^a

Os resultados (média ± desvio padrão) seguidos por uma mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 20 Teor de lipídios (%) nas amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas em Cascavel-PR

Análises	Fubá	Pipoca	Amido de milho
Semana 1	1,740 ± 0,380 ^a	4,206 ± 0,475 ^a	0,283 ± 0,246 ^a
Semana 2	2,123 ± 0,089 ^a	3,290 ± 0,008 ^a	0,080 ± 0,107 ^a
Semana 3	2,066 ± 0,383 ^a	4,413 ± 0,321 ^a	0
Semana 4	2,326 ± 0,269 ^a	2,740 ± 0,255 ^a	0

Os resultados (média ± desvio padrão) seguidos por uma mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

Os ensaios demonstraram o esperado quando analisadas as amostras de fubá e pipoca (elevado teor protéico e baixo teor lipídico). Os lotes analisados não apresentaram diferença estatisticamente significativa para estes parâmetros e nestas amostras, com exceção dos lotes de pipoca no ensaio para determinação de proteínas ($p = 0,03$).

Com relação ao amido de milho, composto basicamente por carboidrato, observou-se baixo aporte protéico, porém com diferença estatística entre os lotes ($p = 0,006$), e baixo teor de lipídios, sendo que em dois lotes não foi possível sequer identificar a presença deste nutriente. Enfatiza-se que na rotulagem nutricional deste produto, a maioria das marcas atualmente comercializadas, apresentam apenas na tabela de composição o aporte glicídico e acrescentam “este produto não contém quantidade significativa de proteína, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras trans, fibra alimentar e sódio” (BRASIL, 2003)²¹.

²¹ A Resolução RDC n.º 360, de 23 de dezembro de 2003, aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Até 31/07/2006, prazo estabelecido nesta resolução, todas as empresas deveriam adequar-se às novas normas de rotulagem. Dentre estas, tornou-se obrigatória a descrição do valor energético (em kcal e kJ) do alimento/preparação, quantidade de carboidrato, proteína, gorduras totais, gordura saturada, fibra alimentar e sódio.

Na Tabela 21 apresenta-se a comparação do teor de proteínas e lipídios das amostras analisadas com o estabelecido em tabelas de composição de alimentos (PHILIPPI, 2002; TBCA/USP, 1998).

Tabela 21 Tabela comparativa da composição nutricional (proteínas e lipídios) das amostras analisadas com o preconizado em uma tabela de composição de alimentos

Nutriente	Amostra					
	Fubá		Pipoca		Amido	
	Amostra	Tabela	Amostra	Tabela	Amostra	Tabela
Proteína (g/100g)	8,151	8,13	9,456	8,57	0,225	0,26
Lipídio (g/100g)	2,064	3,60	4,662	3,9*	0,091	0,05

Os valores expressos indicam a média de todos os lotes analisados para cada produto.

* A pipoca crua é citada apenas na Tabela de Composição de Alimentos da USP (TBCA/USP, 1998).

Fonte: Adaptado de Philippi, 2002; TBCA/USP, 1998.

Conforme se observa na Tabela 21, os ensaios conduzidos para determinação do aporte protéico e lipídico das amostras de fubá, pipoca e amido de milho, foram concluídos com êxito, tendo em vista, a similaridade dos dados obtidos com os dados preconizados em tabelas de composição de alimentos disponíveis para a população.

Não se encontrou na literatura trabalhos que realizaram análises bromatológicas para controle de qualidade em produtos derivados de milho (umidade, cinzas, acidez e análises de composição nutricional). Em virtude disso, os dados obtidos neste estudo não foram comparados com outros trabalhos científicos.

5.2.3 Controle toxicológico

Na Tabela 22 estão apresentados os resultados destes ensaios.

Tabela 22 Pesquisa de aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em amostras de fubá, pipoca e amido de milho comercializadas no município de Cascavel-PR

Período	Amostra											
	Fubá				Pipoca				Amido			
	B1	B2	G1	G2	B1	B2	G1	G2	B1	B2	G1	G2
Semana 1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1	nd	nd	nd
Semana 2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Semana 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Semana 4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Conforme se pode verificar na Tabela 22, neste estudo a incidência de aflatoxinas foi pequena. Considerando que a nível nacional o controle de aflatoxinas em produtos derivados de milho é gerido pela RDC n.º 7, de 18 de fevereiro de 2011, e que o limite máximo para este composto é de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (considerando o somatório de AFB1, AFB2,

AFG1 e AFG2), pode-se afirmar que todas as amostras analisadas apresentaram valores permitidos pela legislação brasileira em vigor; porém, estes resultados são muito importantes, tendo em vista que, mesmo em pequenas quantidades, as aflatoxinas podem causar prejuízos a saúde em longo prazo.

Sekiyama et al. (2005) analisaram 121 amostras de farinha de milho, pipoca e canjica comercializadas no município de Maringá – Paraná. Destas, 2,5% estavam contaminadas com aflatoxinas B1 e B2 em concentração que variou de 10,4 a 59 µg/Kg. Apesar da baixa incidência de amostras contaminadas, verificou-se que as mesmas apresentaram concentração muito acima do estabelecido pela Resolução RDC n.º7 (BRASIL, 2011) em vigência no país.

Kawashima e Soares (2006) analisaram 74 amostras de produtos à base de milho adquiridos no comércio de Recife e observaram que cinco amostras apresentaram-se positivas para aflatoxinas, sendo que, destas, duas ultrapassaram o limite preconizado pela legislação brasileira. Além disso, também concluiu-se que todas as amostras contaminadas com aflatoxinas, apresentaram-se positivas para a presença de fumonisina B1.

Zinedine et al. (2007) avaliaram 58 amostras de cereais destinados a alimentação humana, sendo que, destas, 20 amostras eram de farinha de milho. Os autores verificaram que cerca de 80% das amostras de farinha de milho estavam contaminadas com aflatoxinas em concentrações que variaram de 0,23 a 11,2 ng/g, limites superiores ao preconizado em regulamentos estabelecidos pela União Européia.

Castells et al. (2008) observaram a distribuição de aflatoxinas e fumonisinas em frações de milho durante o processamento industrial do cereal tipo *cornflake*. Foram analisados 92 lotes de milho através do método ELISA, e pode-se observar que as concentrações de aflatoxinas variaram de 2,6 a 5,9 µg/Kg, sendo que três amostras ultrapassaram o limite preconizado em legislação. Quanto à concentração de fumonisinas, observou-se valores entre 42 e 8268 µg/Kg.

Os dados obtidos neste estudo são inferiores a publicações que tinham como objetivo avaliar a presença de micotoxinas em produtos derivados de milho.

5.3 Análise de risco

Esta etapa da pesquisa tinha como objetivo avaliar o grau de exposição da população do município de Cascavel – Paraná aos riscos da ingestão de aflatoxina B1. Para isso, estimou-se a Ingestão Diária Provável Média (IDPM) deste composto em cada faixa etária, considerando:

- Concentração média de AFB1 detectada neste estudo: 0,083 µg/kg;

- Ingestão diária de milho e derivados: 42g/pessoa (WHO, 2003)²²
- Peso corpóreo médio da população (estratificado por faixa etária):
 - Crianças: 30,21 kg
 - Adolescentes: 52,05 kg
 - Jovens / Adultos: 71,04 kg
 - Idosos: 73,53 kg

Na Tabela 23 apresenta-se a Ingestão Diária Provável Média de AFB1 para os indivíduos do município analisado.

Tabela 23 Ingestão Diária Provável Média de AFB1 na população de Cascavel-PR

Categoria populacional	IDPM - AFB1 (ng/kg peso/dia)
Crianças	0,1153
Adolescentes	0,0669
Jovens/Adultos	0,0490
Idosos	0,0474

Os estudos conduzidos por Kuiper-Goodeman (1985) estabelecem a Ingestão Diária Tolerável para AFB1, ou seja, a quantidade diária que pode ser ingerida deste composto sem que ocorram efeitos deletérios a saúde. De acordo com os dados epidemiológicos de países asiáticos e africanos, este autor estabeleceu a IDT de AFB1 entre 0,11 a 0,19 ng/kg peso corpóreo/dia. Deste modo, conforme exposto na Tabela 23, todos os indivíduos do município de Cascavel mantém IDPM de AFB1 inferior ao preconizado pelo estudo.

É importante salientar, porém, que mesmo em uma população com produtos contaminados com aflatoxinas em quantidades permitidas pela legislação vigente, a IDPM pode ser maior do que o preconizado e tido como seguro.

Neste estudo apenas uma amostra estava contaminada com AFB1 (1 lote de amido de milho na concentração de 1 µg/kg) e, mesmo assim, a população infantil já consome quantidade alarmante deste composto (considerando o desvio padrão para o peso corpóreo desta categoria populacional temos IDPM de AFB1 entre 0,0963 a 0,1438 ng/kg peso corpóreo/dia).

Deve-se lembrar, ainda, que a população infantil consome quantidade expressiva de amido de milho diariamente, utilizado principalmente para o preparo de mamadeiras e mingaus e, por esse motivo, torna-se novamente uma população que deve ser constantemente monitorada quanto a este aspecto. Enfatiza-se ainda que a população com idade inferior a dois anos não foi incluída neste estudo por questões metodológicas; porém,

²² Preconizado na tabela *Global Environment Monitoring System – Food Contamination Monitoring and Assessment Programme*, considerando o consumo para a população da América do Sul.

supõe-se que se a IDPM de AFB1 fosse estimada para esta categoria populacional, possivelmente a mesma seria superior ao preconizado pelos estudos de Kuiper-Goodeman (1985).

É de extrema importância enfatizar também que os dados de IDPM de AFB1 estimados neste estudo consideram somente o consumo de produtos derivados de milho. Outras fontes de ingestão de AFB1 devem ser consideradas para avaliar de forma completa a exposição desta população.

O estudo conduzido por Amaral et al. (2006) na população de Maringá – Paraná, estimou a IDPM de AFB1 baseado em produtos à base de milho comercializados no município. Considerando a concentração média de AFB1 detectada nas amostras analisadas igual a 0,57 µg/kg, a ingestão diária de milho e derivados de 42g/dia e peso médio da população igual a 70 kg, a IDPM foi de 0,34 ng/kg peso corpóreo ao dia e, portanto, superior ao preconizado pelos estudos de Kuiper-Goodman (1985).

Carvalho (2005) conduziu estudo similar, porém utilizando a contaminação de amostras de amendoim disponíveis no comércio de Piracicaba – São Paulo. Considerando a concentração média de AFB1 detectada nas amostras analisadas igual a 1,71 ng/g, a ingestão diária de amendoim²³ e peso médio da população igual a 60 kg, a IDPM foi de 0,08 a 0,28 ng/kg peso corpóreo ao dia (quando se considerou dados de consumo obtidos no estudo) e 0,036 a 0,047 ng/kg peso corpóreo (quando considerou-se dados de consumo disponíveis na literatura). Este estudo enfatiza a necessidade de incluir dados de consumo reais para cada população, ao invés de basear-se nos dados de consumo disponíveis na literatura, com o intuito de apresentar dados de ingestão mais adequados à mesma.

²³ A autora utilizou dados de consumo de amendoim disponíveis na literatura e dados de consumo averiguados no estudo, por meio do inquérito alimentar.

6 CONCLUSÕES

Em Cascavel, com os dados do presente estudo, a Ingestão Diária Provável Média de AFB1 apresentou-se inferior ao preconizado pelos estudos de Kuiper-Goodman para todas as categorias populacionais analisadas. Enfatiza-se, porém, que apesar da presença de aflatoxina B1 em apenas uma amostra e em pequena quantidade, a IDPM deste composto aponta para o público infantil, com idade inferior a dois anos, como sendo uma população eminentemente em risco.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com relação ao inquérito populacional, sugere-se:

1) Mudar a forma de questionamento quanto a profissão: no formulário atual a questão era aberta e, por esse motivo, inúmeras profissões foram listadas e estes dados não puderam ser tabulados. Em outro momento, o questionamento poderia tornar-se questão fechada, estratificando algumas opções por área de atuação como, por exemplo, área da saúde, área administrativa, docência, dentre outras;

2) Readequar o questionamento quanto a estado civil: no formulário atual apresentam-se apenas as opções casado ou solteiro. Em outro momento, acrescentar estado civil viúvo e outros (pessoas que moram juntas e não são casadas, por exemplo);

3) Quanto a escolaridade, sugere-se descrever as séries e não suas nomenclaturas, como no formulário atual, tendo em vista que o mesmo torna-se de mais fácil compreensão no momento em que deve ser respondido;

4) Incluir no formulário a per capita de consumo diária do produto analisado, considerando que assim os dados de IDPM obtidos tornam-se mais adequados à população em questão;

5) Ao questionar sobre os produtos derivados de milho mais consumidos, tornar a questão do tipo fechada, reduzindo o tempo de aplicação do formulário;

Quanto aos ensaios laboratoriais, sugere-se:

1) Identificar as colônias que crescem no meio de cultura poderia ser um aliado na comparação dos resultados obtidos;

2) Desenvolver metodologia própria para análise de aflatoxinas;

3) Analisar um número maior de amostras e em diferentes estações do ano.

8 REFERÊNCIAS

ABBAS, H. K.; CARTWRIGHT, R. D.; XIE, W. P.; SHIER, W. T. Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. **Crop Protection**, [S.l.], v. 25, p. 1-9, 2006.

ALI, N.; YAMASHITA, A.; YOSKIZAWA, T. Natural co-occurrence of aflatoxins and Fusarium mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone) in corn from Indonésia. **Food Additives and Contaminants**, [S.l.], v. 15, n. 4, p. 377-384, 1998.

AMARAL, K. A. S.; NASCIMENTO, G. B.; SEKIYAMA, B. L.; JANEIRO, V.; MACHINSKI JUNIOR; M. Aflatoxinas em produtos à base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 336-342, 2006.

AMRA, H. Natural occurrence of some mycotoxins in local and imported corn grains (*Zea mays* L.) in Egypt. **Toxicology Letters**, [S.l.], v. 172S, p. 205, 2007.

BELIK, Walter. Perspectivas para segurança alimentar e nutricional no Brasil. **Saúde**, São Paulo, v.12, n.1, 2003.

BRASIL, Portaria n.º 845, de 08 de novembro de 1976. Aprova especificações para a padronização, classificação e comercialização interna do milho.

BRASIL, Resolução RDC n.º 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

BRASIL, Resolução RDC n.º 7, de 18 de fevereiro de 2011. Aprova o regulamento técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos.

BRASIL, Resolução RDC n.º 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o regulamento técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória rotulagem.

BRASIL, Resolução RDC n.º 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos.

CALDAS, G. M. M.; OLIVEIRA, R. C.; TESSMANN, D. J.; MACHINSKI JUNIOR, M. Ocorrência de patulina em uva fina (*Vitis vinifera* L. cv. "Rubi") com sinais de podridão ácida. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p.1 4-18, 2008.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; ALMEIDA, R. R.; TOMIWAKA, M. M.; GALLO, C. R.; GLORIA, E. M.; DIAS, C. T. S. Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 181-185, 2007.

CARVALHO, A. P. P. **Aflatoxinas**: ocorrência, distribuição e estimativa de ingestão através de produtos de amendoim na cidade de Piracicaba – São Paulo. Piracicaba: USP, 2005.

CASTELLS, Mi.; MARIN, S.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J. Distribution of fumonisins and aflatoxins in corn fractions during industrial cornflake processing. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 123, p. 81-87, 2008.

CAVALLI, Suzi Barletto. Segurança alimentar: a abordagem dos alimentos transgênicos. **Nutrição**, Campinas, v.14, sup.0, 2001.

CNS. Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Resolução nº.196, de 10 de Outubro de 1996. **Diário Oficial da União**, de 16 de Outubro, 1996.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO. Indicadores da agropecuária. Brasília: CONAB, 2011.

CREPPY, E. E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe: review article. **Toxicology Letters**, [S.l.], v. 127, p. 19-28, 2002.

DILKIN, P.; MALLMANN, C. A.; ALMEIDA, C. A. A.; STEFANON, E. B.; FONTANA, F. Z.; MILBRADT, E. L. Production of fumonisins by strains of *Fusarium moliniforme* according to temperature, moisture and growth period. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S.l.], n. 33, p. 111-118, 2002.

EGAL, S.; HOUNSA, A.; GONG, Y. Y.; TURNER, P. C.; WILD, C. P.; HALL, A. J.; HELL, K.; CARDWELL, K. F. Dietary exposure to aflatoxin from maize and groundnut in young children from Benin and Togo, West Africa. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 104, p. 215-224, 2005.

FANDOHAN, P.; ZOUMENOU, D.; HOUNHOUIGAN, D. J.; MARASAS, W. F. O.; WINGFIELDS, M. J.; HELL, K. Fate of aflatoxins and fumonisins during the processing of maize into food products in Benin. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 98, p. 249-259, 2005.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **World regulations for mycotoxins. A. compedium**. FAO Food and Nutrition Paper 64, Roma, 1995.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Estatísticas de produção. Disponível em: <<http://cimilho.cnpms.embrapa.br/estatisticas/estatisticas.php?tabela=004>>. Acesso em: 1 jun. 2011.

FARIAS, A. X. ROBBS, C. F.; BITTENCOURT, A. M.; ANDERSEN, P. M.; CORRÊA, T. B. S. et al. Contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho pós-colheita no estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 54-8, 2000.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 5.3 (Build 73). Lavras: Departamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Lavras, 2010.

FONSECA, H. **O amendoim e a aflatoxina**. Boletim Técnico. Disponível em <<http://www.micotoxinas.com.br>>. Acesso em: 28 maio 2010.

GEMS/FOOD REGIONAL DIETS – GLOBAL ENVIRONMENT MONITORING SYSTEM – FOOD CONTAMINATION MONITORING AND ASSESSMENT PROGRAMME. Geneva (regional per capita consumption of raw and semi-processed agricultural commodities), WHO (World Health Organization), 2003. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/chem/en/gems_regional_diet.pdf>. Acesso em: 12 maio. 2011.

GONÇALVES, E.; PINTO, M. M.; FELÍCIO, J. D. Análise de micotoxinas no Instituto Biológico de 1989 a 1999. **Biológico**, [S.l.], v. 63, n. 1, p. 15-19, 2001.

HERMANN, J. L.; YONES, M. Background to the ADI/TDI/PTWI. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [S.l.], p. 109-113, 1999.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Aquisição alimentar domiciliar per capita – Brasil e grandes regiões**, Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo 2000. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=200&i=P&nome=on&qtu8=137&qtu14=1¬arodape=on&tab=200&opn8=0&opn14=0&unit=0&pov=1&poc2=2&opc1=1&OpcTipoNivt=1&opn1=2&nivt=0&poc1=1&sec58=0&orp=6&qtu3=29&qtu13=27&opv=1&opc2=2&sec1=0&pop=3&opn2=0&orv=2&orc2=3&opc58=2&qtu2=5&sev=93&sec2=0&opp=2&opn3=0&qtu6=5508&opn13=0&orc1=4&poc58=2&qtu1=1&opn9=0&cabec=on&orc58=5&opn7=0&decm=99&ascendente=on&sep=23485&orn=1&qtu7=22&pon=2&qtu9=558&opn6=3&digit6=4104808&OpcCara=44&proc=1>> Acesso em: 25 maio 2009.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201004>. Acesso em 04 jun. 2011.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: 2008.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. **Química Nova**, [S.l.], v. 32, n. 7, p. 1898-1909, 2009.

JOLLY, P.; JIANG, Y.; ELLIS, W.; AWUAH, R.; NNEDU, O.; PHILLIPS, T.; WANG, J.; AFRIYIE-GYAWU, E.; TANG, L.; PERSON, S.; WILLIAMS, J.; JOLLY, C. Determinants of aflatoxin levels in Ghanaians: sociodemographic factors, knowledge of aflatoxin and food handling and consumption practices. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, [S.l.], v. 209, p. 345-358, 2006.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 516-21, 2006.

KRAUSE. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

KUIPER-GOODMAN, T. Mycotoxins: risk assessment and legislation. **Toxicology Letters**, [S.l.], v. 82/83, p. 853-859, 1985.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2 ed. Curitiba: Paranaset, 1997.

MACHINSKI JUNIOR, M.; SOARES, L. M. V.; SAWAZAKI, E.; BOLONHEZI, D. CASTRO, J. L.; BORTOLLETO, N. Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in Brazilian corn cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S.l.], v. 81, n. 10, p. 1001-7, 2001.

MAIOR, M. S. **Comes e bebes do nordeste**. Recife: FJN, Editora Massangana, 1984.

MALMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; ALMEIDA, C. A.; FONTANA, F.; MOSTARDEIRO, C. P.; STEFANON, E. C. **Automation of the analytical procedure for the simultaneous determination of aflatoxins AFB1, AFB2, AFG1 and AFG2**. In: International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins. 2000. Guarujá. Brasil. 21-25 de maio. P.35.

MÁRCIA, B. A.; LÁZZARI, F. A. Monitoramento de fungos em milho em grãos, grits e fubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 65-9, 1998.

MENEGAZZO, R.; GIACOMINI, V.; TRICHEZ, M. A.; LAZZARI, F. A. **Amostragem e monitoramento de micotoxinas em matérias primas para rações**. In: Seminário Nacional de Milho Safrinha, Londrina, p.161-171, 2001.

MIDIO, A. F.; MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000.

MILLER, J. D. Fungi and mycotoxins in grain; implications for stored product research. **Journal of Stored Products Research**, [S.l.], v. 31, n. 1, p. 1-16, 1995.

MORENO, E. C.; GARCIA, G. T.; ONO, M. A.; VIZONI, E.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y. ONO, E. Y. S. Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paraná State, Brazil. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 116, n. 1, p. 220-226, 2009.

MOSS, M. O. Mycotoxins. **Mycological Research**, Cambridge, v. 100, n. 5, p. 513-523, 1996.

NUNES, I. L.; MAGAGNIN, G.; BERTOLIN, T. E.; FURLONG, E. B. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.23, n.2, p.190-194, 2003.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. 1 ed. Circular técnica 75. Sete Lagoas: Embrapa, 2006.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de composição de alimentos**: suporte para decisão nutricional. 2 ed. São Paulo: Coronário, 2002.

REYES-VELAZQUEZ, W. P.; ESPINOZA, V. H. I.; ROJO, F.; JIMENEZ-PLASENCIA, C.; PALACIOS, E. D.; HERNANDEZ-GOBORA, J.; RAMIREZ-ALVAREZ, A. Occurrence of fungi and mycotoxins in corn silage, Jalisco State, Mexico. **Revista Iberoamericana de**

Micotologia, [S.l.], v. 25, n.3, p. 182-185, 2008.

RIBEIRO, S. A. L.; CAVALCANTI, M. A. Q.; FERNANDES M. J. S.; LIMA D. M. M. Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializado em Recife, Pernambuco. **Revista Brasileira de Botânica**, [S.l.], v. 26, n. 2, p. 223-9, 2003.

RICHARD, E.; HEUTTE, N.; SAGE, L.; POTTIER, D.; BOUCHART, V.; LEBAILLY, P.; GARON, D. Toxigenic fungi and mycotoxins in mature corn silage. **Food and Chemical Toxicology**, [S.l.], v. 45, p. 2420-2425, 2007.

SABINO, M.; LAMARDO, L.C.A ; INOMATA, E.I.; ICHIKAWA, A.H.; GIANNATTASIO, C.M.P. Ocorrência de aflatoxina B1 em produtos alimentícios e rações animais, consumidos no estado de São Paulo e várias regiões do Brasil, no período de 1980 a 1987. **Revista Instituto Adolf Lutz**, São Paulo, v. 48, n. 1/2, p. 81-85, 1988.

SALAY, E.; MERCADANTE, A. Z. Mycotoxins in Brazilian corn for animal feed: occurrence and incentives for the private sector to control the level of contamination. **Food Control**. V.13, p.87-92, 2002.

SCUDAMORE, G. S.; PATEL, S. Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom. **Food Additives and Contaminants**, [S.l.], v. 17, n. 5, p. 407-16, 2000.

SEKIYAMA, B. L.; RIBEIRO, A. B.; MACHINSKI, P. A.; MACHINSKI JUNIOR, M. Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in maize-based food products. **Brazilian Journal of Microbiology**, [S.l.], v.36, p.289-294, 2005.

SHILS, M.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**. 9 ed. v.1. São Paulo: Manole, 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997.

SILVA, J. B.; DILKIN, P.; FONSECA, H.; CORRÊA, B. Production of aflatoxins by *Aspergillus flavus* and of fumonisins by *Fusarium* species isolated from Brazilian sorghum. **Brazilian Journal Microbiology**, [S.l.], v. 35, p. 182-186, 2004.

SILVA, J. S. **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil. 502p. 2000.

SILVA, R. A.; CHALFOUNII, S. M.; SILVA, M. A. M; PEREIRA, M. C. Inquérito sobre o consumo de alimentos possíveis de contaminação por micotoxinas na ingesta alimentar de escolares da cidade de Lavras, MG. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 439-447, 2007.

SUGIYAMA, K.; HIRAOKA, H.; SUGITA-KONISUI, Y. Aflatoxin M1 contamination in raw bulk mild and the presence of aflatoxin B1 in corn supplied to dairy cattle in Japan. **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, [S.l.], v. 49, n. 5, p. 352-355, 2008.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Molecular biology of mycotoxin biosynthesis. **Microbiology Letters**, [S.l.], v. 175, p. 149-163, 1999.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/BRASILFOODS (1998). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos-USP. Versão 5.0. Disponível em: <<http://www.fcf.usp.br/tabela>>. Acesso em: 10 maio 2010.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Mycotoxins**. Geneva: UNEPWHO, p.127, 1979.

ZINEDINE, A.; JUAN, C.; SORIANO, J. M.; MOLTÓ, J. C.; IDRISSE, L.; MAÑES, J. Limited survey for the occurrence of aflatoxins in cereals and poultry feeds from Rabat, Morocco. **International Journal of Food Microbiology**, [S.l.], v. 115, p. 124-127, 2007.

ZUMMO, N.; SCOTT, G. E. Interaction of *Fusarium moniliforme* and *Aspergillus flavus* on kernel infection and aflatoxin contamination in maize ears. **Plant Disease**, [S.l.], v. 76, n. 1, p. 771-3, 1992.

ANEXO A



FACULDADE ASSIS GURGACZ



PARECER 268/2009 – CEP/FAG

O comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Assis Gurgacz, reunido em sessão ordinária, no dia 26/08/2009, ata 07/09, considera **APROVADO** o projeto abaixo especificado.

PROTOCOLO: 128/2009**PESQUISADOR:** RAQUEL GORETI ECKERT**PROJETO:** EXPOSIÇÃO AO CONSUMO DE AFLOTOXINAS EM PRODUTOS DERIVADOS DE MILHO COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CASCAVEL – PARANÁ.

Em atendimento à Resolução 196/96, deverá ser encaminhado ao CEP para acompanhamento da pesquisa o relatório final e a publicação de seus resultados, até o dia 01/12/2009, bem como a comunicação de qualquer intercorrência, efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata.

Cascavel, 26 de agosto de 2009.



Coordenadora do Comitê de Ética
Em Pesquisa com Seres Humanos
Karina Elaine de Souza Silva

KARINA ELAINE DE SOUZA SILVA

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Faculdade Assis Gurgacz

ANEXO B

INQUÉRITO ALIMENTAR**1ª PARTE: IDENTIFICAÇÃO**

Idade: _____ Gênero: () Feminino () Masculino
 Profissão: _____ Estado civil: () Casado () Solteiro
 Peso corpóreo atual: _____

Escolaridade:

- | | |
|-----------------------------------|------------------------------|
| () ensino fundamental incompleto | () graduação incompleta |
| () ensino fundamental completo | () graduação completa |
| () ensino médio incompleto | () pós-graduação incompleta |
| () ensino médio completo | () pós-graduação completa |

Renda média da família:

- | | |
|-------------------------------|-------------------------------|
| () até R\$ 510,00 | () R\$ 2000,01 a R\$ 3000,00 |
| () R\$ 510,01 a R\$ 1000,00 | () acima de R\$ 3000,01 |
| () R\$ 1000,01 a R\$ 2000,00 | () não sei |

2ª PARTE: ANÁLISE DO CONSUMO DE PRODUTOS DERIVADOS DE MILHO

1) Quanto ao consumo de produtos derivados de milho responda:

a) Quais são os quatro produtos derivados de milho que você mais consome? Liste o produto seguido da marca de sua preferência:

1º produto: _____
 2º produto: _____
 3º produto: _____
 4º produto: _____

b) Com que frequência você consome estes produtos?

- () todos os dias
 () a cada 2 dias
 () 1 vez por semana
 () outra. Qual? _____

c) Por quê você consome estes alimentos?

- () Porque eu gosto do sabor.
 () Somente por causa do seu valor nutritivo.
 () Só consumo por recomendação do médico ou nutricionista.
 () Por hábito/costume.
 () Porque eles tem um preço acessível.
 () Não consumo.