

Cremilda José André

**Avaliação de Aflatoxinas na Farinha de Milho (Top Score) Comercializada nas condições dos Mercados da Província de Maputo, Caso dos mercados de Boane, Benfica e Zimpeto**

Licenciatura em Agro-pecuária com Habilitações em Extensão Agrária

Universidade Pedagógica de Maputo

Maputo

2023

Cremilda José André

**Avaliação de Aflatoxinas na Farinha de Milho (Top Score) Comercializada nas condições dos Mercados da Província de Maputo, Caso dos mercados de Boane, Benfica e Zimpeto**

Monografia científica apresentada á Faculdade de Engenharias e Tecnologias (FET) da Universidade Pedagógica de Maputo (UPM), para a obtenção do grau académico de Licenciatura em Agro-pecuária com Habilitações em Extensão Agrária

**Supervisor:** dr. Justino Moiane

Universidade Pedagógica de Maputo

Maputo

2023

## ÍNDICE

LISTA DE TABELAS .....	i
LISTA DE FIGURAS .....	i
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ii
DECLARACAO DE HONRA .....	iii
DIDICATORIA .....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
RESUMO .....	vi
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. Problema do estudo .....	3
1.2. Justificativa .....	3
1.3. Objectivos .....	5
1.3.1. Objectivo geral.....	5
1.3.2. Objectivos específicos .....	5
1.4. Hipóteses .....	5
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
2.1.Micotoxinas .....	6
2.1.2. Natureza química das micotoxinas.....	6
2.2. Aflatoxinas.....	6
2.2.1. Efeitos da aflatoxinas B1 .....	6
2.2.2. Metabolismo de toxicidade e biotransformação da aflatoxina B1 .....	7
2.2.3. Características físicas e química das principais aflatoxinas .....	8
2.2.4. Estrutura química das aflatoxinas .....	8
2.2.5. Mecanismo de acção das aflatoxinas.....	9
2.2.6. Factores que favorecem o desenvolvimento de aflatoxina .....	9
2.2.7. Aflatoxinas (AFLA) e contaminação de alimentos.....	10
2.3. Câncer.....	13
2.4. Incidência de aflatoxinas em alimentos.....	12
2.5. Regulamentação de aflatoxinas no mundo .....	15
2.5.1. Regulamentação de aflatoxina em Moçambique .....	16
2.6.Perdas económicas devido á contaminações de alimentos por aflatoxinas .....	16

2.7. Formas que um estabelecimento de comercialização deve obedecer de modo a minimizar a contaminação e proliferação de doenças causadas pelas aflatoxinas (ROSALINA <i>et al</i> , 2012).	17
2.8. A farinha	17
2.8.1. Benefícios nutricionais da farinha de milho	17
2.8.2. Características físicas da farinha de milho atractivas ao consumidor	18
2.8.2.1. Cor	18
2.8.2.2. Aspecto das embalagens	18
2.8.2.3. Aspecto do conteúdo	18
2.9. Métodos usados para análise de aflatoxina na farinha de milho	18
3. METODOLOGIA	21
3.1. Descrição da área de estudo	21
3.1.1. Mercado Boane	21
3.1.2. Mercado Benfica	21
3.1.3. Mercado Zimpeto	21
3.2. Desenho experimental	21
3.3. Reagentes utilizados para análise das aflatoxina	22
3.3.1. Manipulação das amostras para análise	22
3.3.2. Análise e leitura na cromatografia em camada delgada	22
3.4. LIMITAÇÕES DE ESTUDO	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Condições de venda da farinha de milho da marca Top Score em três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto)	22
4.2. Características físicas observadas na farinha de milho da marca Top Score comercializada em três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto)	23
4.2.1. Características físicas analisadas	24
4.2.1.1. Cor	24
4.2.1.2. Aspecto das embalagens	24
4.2.1.3. Aspecto do conteúdo	24
4.3. Resultados da determinação de aflatoxina na farinha de milho Top Score pelo método de cromatografia em camada delgada	24
4.4. Fluorescência e R <sub>f</sub> das manchas frente a Luz UV-365nm	25
5. CONCLUSÕES	28
6. RECOMENDAÇÕES	29

6.1. Aos investigadores .....	29
6.2. Aos consumidores .....	29
6.3. Às autoridades municipais e da saúde .....	29
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	30
ANEXOS .....	33

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: características físicas e químicas das principais Aflatoxinas.....	8
Tabela 2: aflatoxinas e contaminantes de alimentos.....	10
Tabela 3:Frequência das médias do consumo alimentar dos alimentos contaminados por aflatoxinas considerados de risco no mundo.....	12
Tabela 4: estimativa de casos de câncer em Moçambique.....	14
Tabela 5: estimativa de mortalidade em Moçambique.....	14
Tabela 6: estimativa de casos de câncer em Moçambique .	14
Tabela 7: estimativa de mortalidade em Moçambique.....	14
Tabela 8: limites máximos de aflatoxinas admissíveis em alimentos a nível mundial...	15
Tabela 9: <i>layout</i> dos tratamentos.....	22
Tabela 10: parâmetros fisiológicos analisado.....	24

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: comparação visual da intensidade da fluorescência e o Rf das manchas frente a luz UV-365nm da amostra com correspondente padrão de referência nas amostras colhidas no mercado de Boane.....	26
Figura 2: comparação visual da intensidade da fluorescência e o Rf das manchas frente a luz UV-365nm da amostra com correspondente padrão de referência nas amostras colhidas no mercado de Benfica.....	26
Figura 3: comparação visual da intensidade da fluorescência e o Rf das manchas frente a luz UV-365nm da amostra com correspondente padrão de referência nas amostras colhidas no mercado de Zimpeto.....	27

**LISTA DE ABREVIATURAS**

%	percentagem
Afla	aflatoxina
AFLB1	aflatoxina AB1
AFB2	aflatoxina B2
AFG1	aflatoxina G1
AFG2	aflatoxina G2
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	cromatografia em camada delgada
CHCl3	clorofórmico
CH3-OH	metanol
DNA	ácido desoxirribonucleico
INCA	instituto nacional de câncer
IARC	internacionalagency for researchon câncer
G	grama
°C	graus Celsius
'	Segundos
Kg	quilograma
µg	micrograma
NaCl	cloreto de sódio
LNHAA	Laboratório nacional de higiene e águas e alimentos
Rf	factor de retenção
N	normalidade
ml	milímetros
Uv	ultravioleta
Sp	espécie
Spp	espécies
Apud	citação de uma citação

**DECLARACAO DE HONRA**

Eu Cremilda José André, declaro por minha honra que o presente trabalho intitulado “Avaliação de Aflatoxinas na Farinha de Milho top Score comercializada nas condições dos mercados da Província de Maputo caso dos mercados Boane, Benfica e Zimpeto”, nunca foi apresentado em nenhuma outra instituição de ensino para obtenção de qualquer grau académico que não seja para minha candidatura ao grau de Licenciatura em Agro-pecuária com a Habilitação em Extensão Rural na Faculdade de Engenharia e Tecnologia da Universidade Pedagógica de Maputo.

Maputo, Maio 2023

.....

(Cremilda José André)

**DIDICATORIA**

Dedico este trabalho a toda minha família, especialmente a minha mãe Beatriz Fumo, por fazer-me acreditar que tudo é possível, basta ter fé e lutar, a memória do meu pai José André e sem excluir os meus irmãos António José André, Paulina André Massingue e Jonas José André.

A todos meus sobrinhos especialmente ao Carson Francisco Ligeiro, na intenção de que essa monografia sirva de fonte de inspiração nos seus estudos.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradecer a Deus, pela vida e protecção que tem me proporcionado, ajudando-me principalmente nos momentos difíceis ao longo de toda jornada.

Ao meu supervisor doutor Justino Moiane, pela oportunidade de poder trabalhar e aprender com ele, pela transparência e lucidez de suas ideias, sobretudo por ter acreditado em mim para a execução deste trabalho.

A todos docentes do departamento de Agro- pecuária pelo conhecimento adquirido durante 4 anos da minha formação.

A toda minha família, em especial a minha mãe pela vida e educação, aos meus irmãos em particular ao António José André por exercer papel de pai dando-me a oportunidade de me formar e a Paulina Massingue pelas palavras sábias necessárias para a definição da minha personalidade e formação académica. Vocês são minha fonte de inspiração. E a minha irmã de alma Ofélia Mabunda pelo apoio e conselhos práticos.

Ao Laboratório Nacional de Higiene e Águas e Alimentos pela ajuda na realização das análises.

A todos colegas da turma do curso Agro-pecuária edição 2016, pelo apoio durante o curso, pelas conquistas que alcançamos juntos, por todas as dificuldades que conseguimos superar, trabalhar ao lado de pessoas tão maravilhosas e companheiras. É um grande privilégio.

As minhas amigas “quarteirão 18” Adélia Lobo, AventuraChambal, CélaMondlane, Graça Letela, Lúcia Busse, Ofélia Mabunda e MamunaAlmone por me suportarem, pela paciência e acompanhamento durante os quatro anos de frequência do curso, pois os verdadeiros amigos são aqueles que estão presentes em todos momentos da nossa vida principalmente nas horas ruins, vocês surgiram como anjos para adoçar a minha vida. Quero que saibam que vos amo e desejo do fundo do meu coração que o Papai do Céu cuide sempre e sempre de vocês. A todos que directos e indirectamente fizeram parte da minha formação, vai o meu: **“obrigada.”**

## RESUMO

A presença das aflatoxinas nos alimentos constitui um problema para a produção de alimentos tanto para humanos quanto para animais. O objectivo deste estudo foi de avaliar os níveis de aflatoxinas na farinha de milho de marca Top Score comercializada nas condições dos mercados da província de Maputo caso dos mercados Boane, Benfica e Zimpeto. Para realização deste trabalho foram utilizadas 9 embalagens de 1kg de farinha de milho da marca Top Score, colectadas em três mercados da Província de Maputo, em cada mercado foram colhidas 3 embalagens, o que perfaz 9 kg no total, no período de Setembro a Outubro de 2020. A técnica utilizada para determinação das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 foi a Cromatografia em Camada Delgada, que a mesma consiste em uma fase estacionária fixada a uma placa e uma fase móvel que é composta por combinação de solventes chamado eluinte . Os resultados demonstraram que a intensidade das manchas dos padrões não foram muito evidentes e também não houve a percolação das mesmas, o que indica ausência de aflatoxinas nas amostras analisadas. As amostras da farinha de milho Top Score utilizadas neste estudo não apresentaram contaminação por aflatoxina B1, B2, G1, e G2.

**Palavra-chave:** Metabólitos secundários, *aspergillus sp*, cereais, doenças, cromatografia em camada delgada.

## 1. INTRODUÇÃO

O termo micotoxinas é derivado da palavra grega “*mykes*” que significa fungo e do latim “*toxican*” que significa toxinas. O termo é usado para designar um grupo de compostos produzidos por algumas espécies fúngicas durante seu crescimento e podem causar doenças ou morte quando ingeridos pelo homem ou animal (BENETT e KLICH, 2003).

As aflatoxinas são um grupo de micotoxinas estruturalmente semelhantes, produzidas principalmente por *aspergillus flavus*. O termo aflatoxina foi formado a partir do nome do seu principal agente causador (*aspergillus flavus toxin*). As principais aflatoxinas conhecidas são denominadas de B1, B2, G1 e G2, com base na fluorescência delas sob luz ultravioleta (B= Blue, G=Green) e na sua mobilidade durante a realização de cromatografia de camada delgada (FREIRE *et al*, 2007).

A aflatoxina B1 é considerada actualmente como a mais tóxica e com maior poder carcinogéneo dentre as micotoxinas, além de ser também a mais frequentemente encontrada em alimentos (IARC, 2001). As enfermidades causadas pelas aflatoxinas são denominadas aflatoxicoses, as quais são caracterizadas por síndromes difusas, porém, com predomínio de lesões em determinados órgãos, como fígado, rins, tecido epitelial e sistema nervoso central e que sua toxicidade aguda para o fígado, causa mutagênese, anemia e diminuição da fertilidade (KAMASHIMA, 2004).

A farinha de milho é um pó que se obtém moendo o milho mediante diferentes métodos, como cultivo tradicional dos povos originários da África e das Américas, é nestas partes do mundo onde mais se consome sendo parte fundamental da culinária de Angola, do Brasil, da Colômbia, do México, de Moçambique, do Peru e da Venezuela (ANVISA, 2002). Nutricionalmente, ela é rica em hidratos de carbono, em nutrientes tais como vitaminas do complexo B, vitamina E, minerais e fibras, promove a produção de energia, estimula o sistema imunológico e combate a anemia.

Em Moçambique, a farinha de milho representa um dos principais produtos alimentícios, contudo, verifica-se condições higiénicas-sanitárias inadequadas na comercialização da mesma (prateleiras empoeiradas, a junção da mesma com outros alimentos na mesma prateleira, exposição da embalagem primária, falta de ventilação, humidade acima de 60%), e que contribui para a proliferação das doenças causadas pelas aflatoxinas (ROSALINA *et al*, 2012). Os alimentos são considerados veículos

para agentes infecciosos e tóxicos e podem ser contaminados durante a etapa da cadeia alimentar (produção, processamento, armazenamento e comercialização) por qualquer agente nocivo (GERMANO, 2003).

Os estabelecimentos para a comercialização dos alimentos devem obedecer alguns requisitos, de modo a minimizar a contaminação e proliferação de doenças causadas pelas aflatoxinas: ausência de insectos, área de ventilação suficiente para garantir temperaturamenor que 27° e humidade recomendável de 60%, piso, teto e paredes em bom estado de conservação, livres de falhas, rachaduras; humidade, bolores e descascamento, ambiente claro e iluminação adequada à actividade desenvolvida, prateleiras limpas, localizadas a 25cm do piso, com profundidade de no, máximo, 45cm e distantes do piso para facilitar a ventilação e evitar humedecimento, portas sempre fechadas com protecção contra insectos e roedores (ROSALINA *et al*, 2012).

Entretanto, assume-se de grande relevância, a execução deste trabalho, pois visa descrever as reais quantidades de aflatoxinas na farinha de milho de marca Top Score comercializada nas condições destes mercados em estudo e alertar a cerca de potenciais perigos a saúde pública consumindo alimentos contaminados. Em Moçambique, diversos autores abordam sobre a contaminação de alimentos por aflatoxina no campo, durante a colheita, no armazenamento e poucos abordam sobre a contaminação durante a comercialização.

### **1.1. Problema do estudo**

A farinha de milho representa um dos principais produtos alimentícios para a população Moçambicana, principalmente para as camadas mais desfavorecidas ela é rica em nutrientes tais como, vitaminas do complexo B, vitamina E, minerais e fibras que contribuem para o combate às doenças no organismo humano como anemia, câncer do fígado entre outras. Contudo, ela é vendida em condições consideradas inadequadas para o consumo humano uma vez que os locais de venda não são obedecidas as boas práticas, por forma a reduzir o índice de surgimento de aflatoxina que são principal fonte de aparecimento de doenças cancerígenas. Um dos factores que contribui para o aparecimento das aflatoxinas na farinha de milho é o não cumprimento de código de boas práticas, desde a limpeza das prateleiras, controle de roedores, insectos, da humidade relativa no interior do estabelecimento, entre outros.

Nos principais mercados da Província de Maputo, a farinha e milho é vendida, nos contentores ou bancas que não se observam as condições de vendas recomendáveis por forma a minimizar o surto de aflatoxinas B1, B2, G1, e G2 na farinha de milho, o que de certa forma constitui um risco para a saúde dos consumidores.

Faça as observações acima referidas é de notar que a maior parte da população de Maputo, adquire este produto para sua dieta, recorrendo aos principais mercados onde as condições de comercialização não são apropriadas, contudo, aumentando o número de casos de doenças causadas pela ingestão de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.

### **1.2. Justificativa**

A manipulação da farinha de milho desde a produção, preparação, processamento, armazenamento e a comercialização, é fundamental na garantia da qualidade da mesma, cada passagem dessas etapas manipulada inadequadamente pode condicionar a presença de aflatoxinas na farinha de milho consequentemente haverá baixa qualidade do produto.

Os estabelecimentos para a comercialização dos alimentos devem obedecer as seguintes formas de modo a minimizar a contaminação e proliferação de doenças causadas pelas aflatoxinas: condições higiénicas sanitárias adequadas, área de ventilação suficiente para garantir temperatura menor que 27° e humidade recomendável de 60%, piso; teto; e paredes em bom estado de conservação; livres de falhas; rachaduras; humidade; bolores e descascamento, ambiente claro e iluminação adequada à actividade desenvolvida,

prateleiras limpas; localizadas a 25cm do piso com profundidade máxima de 45cm e distantes do piso para facilitar a ventilação e evitar humedecimento, portas sempre fechadas com protecção contra insectos e roedores (ROSALINA *et al*, 2012).

O presente trabalho pretende avaliar os níveis de aflatoxina B1, B2, G1 e G2 na farinha de milho comercializada nos principais mercados de Maputo. O estudo é relevante uma vez que pode contribuir na melhoria das condições de venda pelos vendedores e na aquisição de conhecimento sobre as boas práticas nos estabelecimentos comerciais, o que de certa forma irá reduzir o índice de contaminação dos alimentos por aflatoxinas B1, B2, G1, e G2 que são a principal causa do surto de doenças cancerígenas.

Face a estas situações surge a seguinte questão científica: até que ponto as condições higiénicas, sanitária de venda da farinha de milho da marca top score comercializada nos mercados da provincia de Maputo favorecem o aparecimento do fungo causador de aflatoxina?

### **1.3. Objectivos**

#### **1.3.1. Objectivo geral**

- ❖ Avaliar os níveis de aflatoxina na farinha de milho da marca (Top Score) comercializada nas condições dos mercados da província de Maputo caso dos mercados de Boane, Benfica e Zimpeto.

#### **1.3.2. Objectivos específicos**

- ❖ Descrever as condições de venda da farinha de milho da marca Top Score em três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto).
- ❖ Indicar as características físicas observadas na farinha de milho da marca Top Score comercializada em três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto).
- ❖ Determinar a presença de aflatoxina na farinha de milho Top Score pelo método de cromatografia em camada delgada.

### **1.4. Hipóteses**

**H1:** As condições de venda da farinha de milho da marca Top Score nos três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto) favorecem o desenvolvimento de fungos produtores de Aflatoxinas.

**H2:** A farinha de milho da marca Top Score comercializada em três mercados da província de Maputo apresenta boas características físicas.

**H3:** Foi detectada a presença de aflatoxinas B1, B2, G1, G2, pelo método de cromatografia em camada delgada, em amostras da farinha de milho top score comercializada em três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Micotoxinas

O termo micotoxina é derivado da palavra grega “*mykes*” que significa fungos e do latim “*toxican*” que significa toxinas. O termo é usado para designar um grupo de compostos produzidos por algumas espécies fúngicas durante seu crescimento e podem causar doenças ou morte quando ingeridas pelo homem ou animal. Estima-se que cerca de 25% de todos os produtos agrícolas do mundo estejam contaminados por essas substâncias (BENETT e KLICH, 2003).

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos de baixo peso molecular que, quando ingeridos com alimentos, causam prejuízos à saúde humana e animal. Cerca de 300 micotoxinas já foram descritas, destas 20 são encontradas em alimentos e rações a níveis considerados de risco para o organismo. Dentre estas, as mais incidentes são as aflatoxinas produzidas por *aspergillus spp.*, das quais destacam-se os tipos B1, B2, G1 e G2; a patulina produzidas por diversos fungos (DINIZ, 2002).

#### 2.1.2. Natureza química das micotoxinas

As micotoxinas compreendem uma grande variedade de estruturas químicas de baixo peso molecular, agrupados de acordo com o grau e tipo de toxicidade ao homem e animais. Algumas micotoxinas são relativamente simples, comparadas com toxinas bacterianas. A grande variação na natureza química das micotoxinas significa que são necessários numerosos métodos de extração das toxinas dos alimentos, dificultando também o seu controle. Além disso, vários procedimentos devem ser utilizados para identificação e quantificação (PUCHASE, 1999).

### 2.2. Aflatoxinas

As aflatoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos *aspergillus flavus*, *A. Parasiticus*, podem ser encontradas em inúmeros produtos alimentícios, como milho, trigo, farinha de trigo, farinha de milho, cevada, nozes, arroz, amendoim, feijão, sementes de algodão, coco, gengibre, pimenta, pimenta malagueta, frutas, cerveja, além de estar presente em rações e produtos de origem animal contaminados por rações (CLEVELAND *et al.*, 2005).

#### 2.2.1. Efeitos da aflatoxinas B1

A aflatoxina B1 é um pro-carcinogênio que para a manifestação de seus efeitos tóxicos requer a ativação metabólica, cuja forma ativada é o composto 8,9-óxido de AFB1

(WOGAN, 1999). Tal composto pode reagir rapidamente por ligações co-valentes, com sítios nucleófilos de macromoléculas como nucleotídeos (DNA e RNA) e proteínas o que comprova seu maior efeito tóxico quando comparado ao das outras três aflatoxinas (WOGAN e SANTOS, 2001).

As aflatoxinas quando consumidas em doses elevadas são letais, porém, no caso de exposição subletais podem levar a toxicidade crônica, o que resulta em neoplasia em diversas espécies de animais (COULUMBE, 1991). Os efeitos tóxicos são representados dependendo da estrutura química da toxina, da sua concentração nos alimentos e rações, do tempo de exposição, quantidade consumida, os primeiros efeitos agudos observados são danos estruturais e funcionais no fígado, incluindo necrose celular, hemorragias, lesões fibrose e cirrose (EATON e GROOPMAN, 2000).

### **2.2.2. Metabolismo de toxicidade e biotransformação da aflatoxina B1**

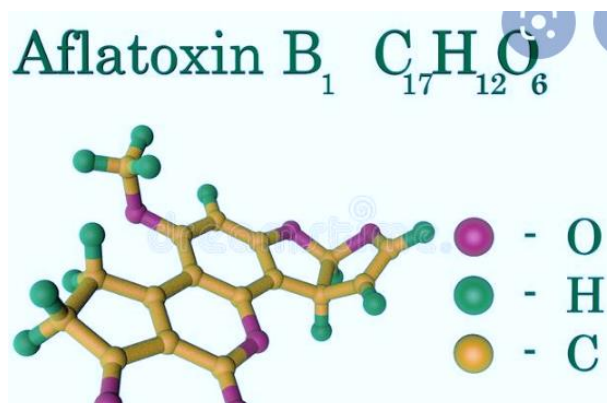
A absorção das aflatoxinas se dá no trato gastrointestinal, sendo, por conseguinte, biotransformação por enzimas hepáticas com funções oxidases que pertencem a família de enzimas do sistema citocromo P-450 e possui características lipofílicas e baixo peso molecular, as aflatoxinas B1 são facilmente absorvidas após a ingestão, o local de absorção é o intestino delgado sobretudo no duodeno, por difusão passiva (FORRESTER *et al.*, 1990).

Depois de passar pela mucosa do trato gastrointestinal, a aflatoxina segue para o fígado através do suplemento sanguíneo do sistema hepático. No fígado, ficam concentradas devido à alta permeabilidade da membrana do hepatócito a essas toxinas e ao processo de biotransformação pelas enzimas presentes na célula hepática (GEYIKOGLU e TURKEZ, 2005).

Os efeitos mutagênicos se processam em duas fases distintas denominadas iniciação e promoção de neoplasia, as mutações ocorridas a nível celular denominam a fase de iniciação e a promoção neoplásica se dá com expressão fenotípica das modificações primárias (REDDY *et al.*, 2006).

Os compostos formados pela biotransformação de AFB1 são altamente solúveis em água o que facilita a rápida excreção pela urina ou fezes, o que sugere que o mecanismo de detoxificação de AFB1 esteja vinculado à formação de seus derivados. No entanto, a potencialidade de AFB1 e dos seus derivados pode ser influenciada pelo balanço

integral entre as várias vias de activação metabólica e detoxificação (UYSAL, 2005 eFORRESTER, 1990).



Fonte- WILSON, (2005).

### 2.2.3. Características físicas e química das principais aflatoxinas

**Tabela 1:** Principais características físicas e químicas das aflatoxinas de maior relevância na saúde humana

Aflatoxina	Fórmula química	Massa molecular	Temperatura de fusão °C	Emissão de fluorescência e cor sob luz UV
AFB1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	269	425-azul
AFB2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289	425- azul
AFG1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246	450- verde
AFG2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	330	237-240	450- verde
AFM1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299	425- violeta azulado
AFM2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293	Violeta
Aflatoxicol	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	230-234	-

Fonte: WILSON, (2005).

### 2.2.4. Estrutura química das aflatoxinas

Em virtude da capacidade de se ligarem ao DNA das células, as aflatoxinas afectam a síntese proteica, além de contribuírem para a ocorrência da aplasia tímida (ausência congénita do timo e das paratireóides, com deficiência da imunidade celular, também

conhecida como síndrome Di George) (RAISUDDIN, 2009). Uma vez ingerida na dieta, aflatoxina B1, pode ser convertida em um epóxido, possivelmente carcinogénico e reagir com um resíduo da guanina no DNA.

Assim como outros compostos heterocíclicos, são substâncias fluorescentes com características apropriados, tanto que a aflatoxina B1, como aflatoxina B2, apresentam uma fluorescência azul (G-Blue), enquanto que a AFG1 e a AFG2 apresentam uma fluorescência verde amarelada (G-Green) sob luz ultravioleta (HUSSEIN e BRASEL, 2001).

### **2.2.5. Mecanismo de acção das aflatoxinas**

A absorção das aflatoxinas ocorre no trato gastrointestinal e a sua biotransformação ocorre primariamente no fígado, por enzima microssomais do sistema de funções oxidases mistas, associadas ao citocromo P-450 (BIEHL e BUCK, 2013).

A sensibilidade aos efeitos das aflatoxinas varia consideravelmente entre as espécies animais. Mesmo entre indivíduos da mesma espécie, a relação dessa resposta pode variar de acordo com a raça, sexo, idade e composição da dieta, entre outros factores (COULOMBE, 2011). Esta comprovada a sua relação com a incidência da hepatite B e é uma infecção que mata milhões de crianças nos países pobres e pode ser causada por uma carência proteica cujos sintomas são alergia, retardamento mental, anemia, despigmentação da pele, perda de cabelo ou descolorização do mesmo. (BURGUER, 2007).

Os sinais da intoxicação por aflatoxinas dependem principalmente de sua concentração no alimento, do tipo de aflatoxina e do tempo de ingestão (DOERR e HAMILTO 2003). Podem caracterizar-se pela elevada toxidez em saúde animal, varias espécies domésticas são sensíveis aos efeitos tóxicos agudos, causando problemas sérios como mutagénicos e carcinogénicos (OSWEILER, *et al* 2011).

### **2.2.6. Factores que favorecem o desenvolvimento de aflatoxina**

Segundo MARCIA e LAZZARI, (2002), A invasão de um lote de grãos por insectos pode iniciar ou agravar o desenvolvimento de aflatoxinas, pois através de sua actividade metabólica há um aumento de teor de humidade e temperatura dos grãos. Os factores que favorecem o crescimento de aflatoxina na farinha de milho incluem:

- ❖ Teor de humidade da farinha,
- ❖ Temperatura,
- ❖ Tempo de armazenamento,
- ❖ Condições físicas e sanitárias
- ❖ Nível de inoculação do fungo,
- ❖ Conteúdo de oxigénio,
- ❖ Péssimas condições de estocagem;
- ❖ Utilização de métodos de estocagem inapropriados;
- ❖ Armazenamento anterior.

### 2.2.7. Aflatoxinas (AFLA) e contaminação de alimentos

As aflatoxinas são um grupo de micotoxinas estruturalmente semelhantes, produzidos sobretudo por *aspergillus flavus* e *aspergillus parasiticus*, é o grupo de micotoxinas com maior impacto no desenvolvimento de pesquisas na área de micotoxinas devido a sua implicação na década de 60 na morte de 100.000 aves alimentados com ração contaminada na Inglaterra (COLE, 2001e KAWASHIMA, 2004).

**Tabela 2:** Aflatoxinas (AFLA) e contaminação de alimentos

<b>Tipos de alimentos</b>	<b>Géneros/Espécie potencialmente tóxicos</b>	<b>Micotoxina potencial</b>	
Trigo, pão, farinha de milho, milho pipoca,	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. Ochraceus</i> <i>A. Versicolor</i> <i>Fusarium</i> spp	<i>Penicillium citrinum</i> <i>P. cítreo-viride</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>P. martensii</i> , <i>P. patulum</i> , <i>P. Puberulum</i>	Aflatoxina, ocratoxina, esterigmatocistina, patulina, deoxinivalenol, nivalonol, zearalenona
Amendoim	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. Ochraceus</i> <i>A. Versicolor</i>	<i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. citrinum</i>	Aflatoxina, ocratoxina, patulina, esterigmatocistina
Maçãs e produtos de maçãs	<i>Penicillium expansum</i>	-	Patulina

Feijão, soja, milho, sorgo e cevada	<i>Aspergillusflavus</i>	<i>Penicilliumviridicatum</i>	Aflatoxina
Doces refrigerados e congelados	<i>Aspergillusflavus</i>	<i>Penicilliumviridicatum</i>	Aflatoxina, ocratocina, patulina
Alimentos estocados em casa, refrigerados ou não	<i>Penicillium spp</i>	<i>Aspergillus spp</i>	Aflatoxinas, ácido cógico, ocratocina, ácido penicilico

**Fonte:** COLE, 2001 e KAWASHIMA, 2004.

As aflatoxinas ao serem ingeridos juntamente com alimentos são absorvidas no trato gastrointestinal e biotransformadas no fígado por enzimas da superfamília do citocromo p450 presentes na fracção citosol e microssómica da célula hepática. A biotransformação da aflatoxina B1 é a mais estudada devido ao seu potencial carcinogéneo, e para que essa toxina tenha poder carcinogéneo deve sofrer activação metabólica que gera a forma aflatoxina B1 (OLIVEIRA e GERMANO, 2006).

A aflatoxina B1 é a mais tóxica das aflatoxinas, causando uma variedade de efeitos adversos e, em alguns casos pode ser letal, em diferentes espécies animais e humanos. IARC (1993) considerou como pertencente á classe 1, composto carcinogéneo para humanos. O fígado é o principal órgão atingido após uma ingestão aguda de aflatoxinas (WHO, 2001).

A presença de aflatoxinas em alimentos tem sido correlacionada a várias patologias humanas, e as autoridades de saúde no mundo todo têm praticado acções para diminuir a ingestão desses compostos pela dieta (CALDAS *et al.*, 2002).

Algumas substâncias são extremamente favoráveis ao crescimento de fungos aflatoxigênicos e á formação de aflatoxinas. Algumas culturas são contaminadas ainda no campo, antes de colheita, enquanto que outras são contaminadas após a colheita quando são armazenadas em condições inadequadas (KLICH e DIENER *et al.*, 2000).

A intoxicação do homem pelas aflatoxinas se dá de forma directa e indirecta, a primeira ocorre pelo consumo de alimentos com toxinas e a última pelo consumo de produtos

derivados de animais, que tiveram sua ração contaminada, como leite, carne e ovos. A ingestão de produtos alimentícios contaminados pela aflatoxina produz diversos efeitos tóxicos em seres humanos, quadro designado de aflatoxicose. Factores como idade, estado nutricional, extensão da exposição e possíveis efeitos sinérgicos de outros agentes químicos influenciam na severidade da intoxicação de aflatoxinas (LAVRAS, *et al* 2004).

**Tabela 3:** Frequência das médias do consumo alimentar dos alimentos contaminados por aflatoxinas considerados de risco no mundo

<b>Frequência de consumo de aflatoxina (%)</b>					
<b>Alimentos</b>	<b>Diária</b>	<b>Semanal</b>	<b>Quinzenal</b>	<b>Mensal</b>	<b>Nunca/rara</b>
<b>Milho</b>	5,1	18,8	29,4	18,8	27,9
<b>Amendoim</b>	0,5	1	3,5	37,5	57,4
<b>Arroz</b>	98,5	1,5	-	-	-
<b>Café</b>	76,1	16,2	4,1	1,0	2,5
<b>Carnesvermelhas</b>	10,7	26,4	32,0	13,7	17,3
<b>Cevada</b>	0,5	0,5	0,5	1,0	97,5
<b>Farinhademilho</b>	9,1	25,9	36,0	11,2	17,8
<b>Feijão</b>	96,9	3,0	—	—	—
<b>Frango</b>	13,2	49,2	24,9	10,2	2,5
<b>Hambúrguer</b>	1,5	10,1	17,8	57,4	13,2
<b>Iogurte</b>	20,8	47,5	19,3	7,1	5,1
<b>Leite</b>	86,8	10,7	0,5	0,5	1,5
<b>Manteiga</b>	95,4	2,5	-	1,0	1,0
<b>Ovos</b>	23,9	67,5	6,1	1,0	1,5
<b>Queijo</b>	32,0	31,6	16,8	11,2	6,6

( — ) = não foi observado a aflatoxina na refeição.

**Fonte:** LAVRAS, (2004).

Mais de vinte substâncias compõem o grupo das aflatoxinas, as principais com relevância médicas sanitárias são B1 AFB1, B2 AFB2, G1 AFG1 e G2 AFG2. A AFB1 e AFB2 quando sofrem hidroxilação originam as aflatoxinas M1 e M2 encontradas nos produtos lácteos e carne, a AFB1, também pode formar aflatoxicol por meio de redução enzimática (DINIZ, 2002 e CHIAVARRO, 2002).

### **2.2.8. Incidência de aflatoxinas em alimentos**

A exposição humana às aflatoxinas pelo consumo de alimento contaminado é questão de saúde pública no mundo todo. A contaminação dos alimentos pode ocorrer no campo, antes e após a colheita, durante o transporte, armazenamento e comercialização do produto (FONSECA, 1999).

Segundo CALDAS *et al*, (2002) Programas de monitoramento de contaminação de alimentos por aflatoxinas são essenciais para se estabelecer prioridades em ações de vigilância sanitária e o controlo sobre os limites legais para aflatoxinas em alimentos e rações variam entre países, com tendência a serem mais altos em países produtores de insumos agrícolas e mais baixos em nações consumidoras.

**Tabela 8:** Limites máximos de aflatoxinas admissíveis em alimentos a nível mundial

Aflatoxina	Alimento	LMT $\mu$ g/kg
M1	Leite fluído	0,5
	Leite em pó	5,0
	Queijos	2,5
B1, B2, G1, G2	Cereais e produtos de cereais	5,0
	Feijão	5,0
	Frutas	10,0
	Castanhas para o consumo directo	20,0
	Amendoim com casca, descascado, cru ou torado, pasta de manteiga de amendoim, milho em grão, inteiro, partido ou moído (farinha)	20,0

**Fonte:** Adaptado de CALDAS, 2002.

### 2.3. Incidência de Câncer

Câncer é uma alteração celular do tipo neoplasia que ocorre quando acontecem mudanças no material genético (DNA) de uma célula, que levam a célula a se reproduzir desordenadamente, podendo invadir tecidos e órgãos, gerando um tumor maligno, essas células se dividem rapidamente quando não são destruídas pelo sistema imunológico (INCA, 2010).

Estudos mostram que as aflatoxinas também são capazes de causar neoplasia maligna, pois são elementos carcinogéneos, uma vez que estão presentes em diversos alimentos

como grão, cereais, frutos, leite e derivados, elas constituem um importante factor de risco a saúde pública (ASTOVIZ e SUAREZ, 2005).

O câncer de fígado se tornou um problema de saúde pública tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, e é responsável por mais de 12% das causas de óbitos no mundo (PEREIRA e FERNANDO, 2011).

Segundo CALVERTON (2009) Em Moçambique, a medida que a população envelhece e a esperança de vida aumenta, a incidência de cancro, mortalidade por cancro também cresce. 37 810 Novos casos de cancro e uma mortalidade de 68 890 casos, correspondente a uma incidência anual de cancro estimada 68% e uma mortalidade anual de 33% a cada cem mil pessoas.

Os cancros mais frequentes entre as mulheres em Moçambique são cancro do colo do útero (31%), do fígado (13%) e do cancro da mama (10%) e Nos homens, são sarcoma de kapsi (16%), o cancro da próstata (16%) e do fígado (14%) (CALVERTON, 2009).

**Tabela 4: Estimativas de casos de câncer em Moçambique/ 2011-2015**

Região	Estimativas de casos de câncer em Moçambique		
	Feminino	Masculino	Total
Norte	2.718	3.481	6.199
Centro	4.538	6.022	10.560
Sul	5.550	8.711	14,261

**Tabela 5: Estimativas da taxa de mortalidade causadas por câncer**

Região	Estimativas de taxa de mortalidade		
	Feminino	Masculino	Total
Norte	91	102	193
Centro	106	219	325

Sul	189	231	420
-----	-----	-----	-----

**Tabela 6: Estimativa dos novos casos de câncer em Moçambique/ 2016-2020**

Região	Estimativa de novos casos de câncer em Moçambique		
	Feminino	Masculino	Total
Norte	8.930	10.190	19.120
Centro	9.220	10.210	19.430
Sul	14.960	15.390	30.340

**Tabela 7: Estimativa de taxa de mortalidade em Moçambique**

Região	Estimativa de novos casos de câncer do fígado em Moçambique		
	Feminino	Masculino	Total
Norte	1.160	1.427	2587
Centro	1.199	1.429	2628
Sul	1.945	2155	4100

**Fonte:** adaptado de INCA, 2010

## 2.5. Regulamentação de aflatoxinas no mundo

Legislações têm sido adoptadas em muitos países com o intuito de proteger os consumidores contra os efeitos nocivos caso das aflatoxinas em alimentos in natura e processados, as legislações mais conhecidas são aquelas que regulamentam os níveis de aflatoxinas (SMATH e SALOMONS, 1999).

A legislação dos EUA também estabelece níveis máximos permitidos de 5 µg/kg para AFB1+AFB2+AFG1+AFG2. No caso de alimentos infantis elaborados a base de cereais para lactantes e crianças de pouca idade e alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiais dirigidos especificamente para os lactantes, a concentração máxima permitida de AFB1 é de 10 µg/kg (LEWIS, 2004).

Para as aflatoxinas em países como Austrália, Canadá, Colômbia, Hungria, Japão, México, Cuba e Tailândia há também níveis máximos permitidos que oscilam entre 5 a 30 µg/kg para AFB1 e para a soma das quatro aflatoxinas, dependendo do país e do alimento em questões, destaca-se a Índia com o nível de tolerância mais alto (30µg/kg de AFB1 para todos os géneros alimentares) e a África Austral com o nível de

tolerância mais alto para a soma das quatro aflatoxinas (20 µg/kg em todos os géneros alimentícios) (SMITH, *at al.*, 2006).

### **2.5.1. Regulamentação de aflatoxina em Moçambique**

A velha legislação colonial mesmo que continuasse a vigorar não se podia aplicar porque se referia aos sistemas políticos e económicos diferentes e resultava atrasada em relação ao desenvolvimento científico dos últimos vinte anos. Portanto iniciou-se a preparar uma lei de base a qual as infracções de saúde pública realizadas, na produção, comercialização e venda de alimentos falsificados, avariados e perigosos eram considerados acções criminosas para as quais estabeleciam-se castigos para a defesa do consumidor (CALDAEI, 1999).

A nova legislação foi divulgada através dos órgãos de informação e tornou-se matéria de estudo para os cursos de informática dos inspectores que, além da responsabilidade de controle e fiscalização, também assumiam a responsabilidade da correta divulgação e aplicação da lei. Para Moçambique os produtos de maior interesse para a normalização são os que o país exporta: chá. Açúcar, produtos da pesca, farinha de coco, amendoim. (HENRICO, 2000).

O laboratório nacional de Maputo participou durante vários anos, a programas internacionais para o controle da qualidade dos resultados e a avaliação dos métodos analíticos para as aflatoxinas realizados pela, AOAC, e pela IARC. Na base dos resultados conseguidos tendo em conta a legislação dos diferentes países, concluiu-se que o limite máximo tolerável para as aflatoxinas totais nos alimentos destinados ao consumo humano era de 20 µg/kg (AOAC e IARC, 1993).

### **2.6. Perdas económicas devido á contaminações de alimentos por aflatoxinas**

Segundo MABBETT, (2010), a magnitude das perdas económicas devido às aflatoxinas embora não seja totalmente visível, implica um custo em vários níveis, como por exemplo:

- ❖ Perdas directas de produtos agrícolas;
- ❖ Perdas de animais acompanhadas de diversas taxas de morte;
- ❖ Doenças humanas e diminuição da produtividade;
- ❖ Diminuição da velocidade de crescimento em animais;
- ❖ Custo de detoxicação para poder recuperar um produto aceitável;
- ❖ Rejeição de produtos pelo mercado importador.

## **2.7. Formas que um estabelecimento de comercialização deve obedecer de modo a minimizar a contaminação e proliferação de doenças causadas pelas aflatoxinas (ROSALINA *et al*, 2012).**

- ❖ Manter a área de estocagem em condições ambientais e higiénica-sanitária adequada,
- ❖ Ausência de insectos,
- ❖ Área de ventilação suficiente para garantir temperatura menor que 27° e humidade recomendável de 60%,
- ❖ Piso, teto e paredes em bom estado de conservação livres de falhas, rachaduras, humidade;
- ❖ Ausência de bolores e descascamento, ambiente claro e iluminação adequada à actividade desenvolvida, prateleiras limpas; localizadas a 25cm do piso; com profundidade de no, máximo, 45cm e distantes do piso para facilitar a ventilação e evitar humedecimento,
- ❖ Armazenar os alimentos, agrupando-os por tipo ou espécie,
- ❖ Manter o espaço entre os produtos para facilitar a circulação de ar e da limpeza,
- ❖ Guardar os produtos alimentícios separados dos produtos da limpeza de higienização e dos descartáveis,
- ❖ Portas sempre fechadas com protecção contra insectos e roedores.

## **2.8. A farinha**

A farinha de milho é o pó ou granulado que se obtém moendo o milho mediante diferentes métodos. Como cultivo tradicional dos povos originários da África e das Américas, é nestas partes do mundo onde mais se consome sendo parte fundamental da culinária de Angola, do Brasil, da Colômbia, do México, de Moçambique do Peru e da Venezuela (ANVISA, 2002).

Nutricionalmente, e como a maioria das farinhas, esta farinha é rica em hidratos de carbono, principal fonte energética utilizada pelo nosso organismo. Possui também proteínas, riboflavina e magnésio em teores moderados (ANVISA, 2002).

### **2.8.1. Benefícios nutricionais da farinha de milho**

Segundo ANVISA,( 2002), a farinha de milho contem os seguintes benefícios nutricionais:

- ❖ Possui uma grande concentração de ácido linoleico
- ❖ Não possui glúten

- ❖ É rica em nutrientes, tais como vitaminas do complexo B, vitamina E, minerais e fibras
- ❖ Promove a produção de energia
- ❖ Estimula o sistema imunológico e combate a anemia.

## **2.8.2. Características físicas da farinha de milho atractivas ao consumidor**

### **2.8.2.1. Cor**

A cor é frequentemente o primeiro elemento percebido na aparência de um produto alimentício, os seres humanos começam a associar certas cores com vários de alimento desde a produção e com o tempo, essas cores com certos aromas e sabores. A definição da cor e da sua combinação em uma embalagem pode comprometer ou beneficiar o sucesso de vendas de um produto, ela é capaz de alterar até mesmo a percepção de sabor de alimento. Segundo o LNHA A o método usado para análise dos aspectos das embalagens foi sensorial como consta nos anexos (ALMEIDA *et al.*, 2010).

### **2.8.2.2. Aspecto das embalagens**

As embalagens são mais importantes que a própria marca, além disso, para a maioria dos produtos, a comunicação visual da embalagem é o único diálogo do produto com o cliente. Ela ajuda a construir a identificação visual da mercadoria, agrega valor ao próprio conteúdo, principalmente, desperta desejos inconsciente de compra no consumidor. Segundo o LNHA A o método usado para análise dos aspectos das embalagens foi sensorial como consta nos anexos (ANZUETO e RIZVI ETAL, 2009).

### **2.8.2.3. Aspecto do conteúdo**

O aspecto do conteúdo influencia na tomada de decisão e na preferência do consumidor na hora da compra, o conteúdo também faz parte de marketing do produto, quanto maior for a qualidade do produto maior será sua aquisição. Segundo o LNHA A o método usado para análise dos aspectos das embalagens foi sensorial como consta nos anexos (JUNIOR *et al.*, 2014).

## **2.9. Métodos usados para análise de aflatoxina na farinha de milho**

Segundo LANÇAS (2009), os métodos usados para análise de aflatoxina são:

- ❖ Quickscan – ótica avançada e software de análise de imagem para quantificar o nível de um análito em uma amostra. As curvas padrão são geralmente geradas a cada lote de tiras. O parâmetro da curva específica de lote está integrado nos códigos de barra impressos nas tiras.
- ❖ Hplc- utiliza uma fase móvel líquida para separar os componentes da amostra, os componentes são dissolvidos em um solvente e, em seguida, forçados a passar por uma coluna de alta pressão. Os componentes então interagem com a fase estacionária e saem em diferentes momentos da mesma forma que na cromatografia gasosa.
- ❖ CCD- é um dos métodos de separação físico-químico mais utilizado em misturas, sendo relativamente fácil de manusear e de respostas rápidas. É uma técnica simples e eficiente na análise qualitativa e quantitativa da composição de uma mistura. Pode ser usada também para determinar o curso de uma reação química e a determinação da pureza de um dado composto.

Na primeira fase de CCD o eluente (fase móvel líquida) elui (desloca para cima) por uma camada fina de sílica (fase estacionária adsorvente), por exemplo, estendida sobre um suporte. Ao fazer um “spot” (aplicação da amostra) na base da placa, a mesma é colocada verticalmente em cuba cromatográfica (recipiente fechado) contendo o eluente, sendo esse uma quantidade de um determinado solvente ou mistura de solventes. À medida que a placa cromatográfica é eluída, a amostra é “arrastada” pela fase móvel sobre a fase estacionária. Durante este processo, os diversos componentes da mistura serão separados de acordo com suas propriedades de solubilidade e absorção. Cada “mancha” que aparecer na placa corresponde a um componente presente na mistura original.

A cromatografia em coluna é uma técnica onde ocorre a separação de substâncias presentes em uma mistura entre duas fases, a fase sólida, geralmente sílica, solvente ou mistura de solventes, baseado na capacidade de solubilidade e adsorção desses componentes.

De modo geral, na segunda fase de cromatografia em coluna a mistura que se deseja separar é colocada no topo da coluna utilizando o eluente no caso da utilização de misturas. A polaridade do eluente pode ser aumentada gradativamente, a fim de aumentar o poder de arraste de substâncias polares, ou pode ser mantida durante todo o

processo (de forma isocrática). Os diferentes componentes da mistura vão se mover com velocidades diferentes dependendo da sua maior afinidade com fase móvel ou fase estacionária ZUBRICK *et al.*, 2005).

### 3.METODOLOGIA

#### 3.1. Descrição da área de estudo

O estudo foi realizado em três mercados da província e cidade de Maputo nomeadamente:

##### 3.1.1. Mercado Boane

O distrito apresenta um clima tropical, com duas estações distintas: chuvosa e seca. A temperatura média anual é de 23.7 graus, com precipitação de 752mm, humidade relativa de 80.5 % e apresenta solos areno-argilosos (MAE, 2014).

##### 3.1.2. Mercado Benfica

O mercado Benfica encontra-se localizado no bairro do mesmo nome, na avenida de Moçambique no distrito Municipal KaMubukuana. O distrito apresenta solos arenosos e com a temperatura média de 22 graus, e o clima tropical húmido e a pluviosidade média anual é de 781mm, humidade relativa média é de 66,6% (NARCY, 2010).

##### 3.1.3. Mercado Zimpeto

O mercado Zimpeto encontra-se localizado no bairro do mesmo nome, na avenida de Moçambique próximo ao estádio nacional do mesmo nome, no distrito Municipal KaMubukuana. O distrito apresenta solos arenosos e com a temperatura média de 22 graus, e o clima tropical húmido e a pluviosidade média anual é de 781mm, humidade relativa média é de 66,6% (NARCY, 2010).

#### 3.2. Desenho experimental

Para a realização desse trabalho cujo objectivo foi de avaliar os níveis de aflatoxinas presentes na farinha de milho da marca (Top Score) comercializada em três mercados da província de Maputo, caso dos mercados de (Boane, Benfica e Zimpeto), foi feito um delineamento completamente causalizado (DCC) distribuídos em três tratamentos, cada tratamento representa o nome do mercado em estudo e três repetições por tratamento correspondendo 1 embalagem por repetição, totalizando 9 unidades experimentais, todas compostas por farinha de milho da marca Top Score.

**Tabela9: layout dos tratamentos**

Z1	B2	C3
B1	C2	Z3
C1	Z2	B3

B- amostras do mercado de Boane; B1, B2, B3=repetições.

C- amostras do mercado de Benfica; C1, C2, C3=repetições.

Z- amostras do mercado de Zimpeto; Z1, Z2, Z3=repetições.

### **3.3.Manipulação das amostras para análise de aflatoxina B1, B2, G1 e G2**

Pesou-se 30g de farinha de milho da marca Top Score colocou-se num copo plástico com tampa misturou-se com 100 ml clorofórmio e 10 ml de água destilada, fechou-se bem e agitou-se por 30 segundos, deixou-se a mistura descansar até que houve separação da extrato e do resíduo, de seguida e filtrou-se o extracto usando uma seringa com filtro e evaporou-se o mesmo até ao resíduo. Com o pipetador de 100 ml, adicionou-se 50 ml de metanol, transferiu-se para um separador de 500 ml contendo 50 ml de cloreto de sódio a 4%, de seguida adicionou-se 150ml Hexano (2°) e filtrou-se desprezando o hexano 3x, depois extraiu-se duas porções de clorofórmio a 50ml 2x, evaporou-se o extracto até ao resíduo, posteriormente adicionou-se 2ml de metanol e de seguida mediu-se 5ml da mistura e depositou-se na coluna de alumínio para posterior sua leitura na cromatografia em camada delgada.

#### **3.3.2.Análise e leitura na cromatografia em camada delgada**

Para a leitura das análises depois da manipulação das amostras foi necessário adição de 5 ml da amostra previamente processada e 5 ml da solução padrão de aflatoxina B1, B2, G1, e G2 em ambas aplicações (amostra e padrão), com visualização sob luz ultravioleta na folha de alumínio para a sua posterior leitura na Cromatografia em Camada Delgada (LNNHA, 2021).

### **3.4. LIMITAÇÕES DE ESTUDO**

- ❖ Dificuldades em atingir a amostra desejada de 27 kg conseguindo apenas 9kg por falta de capital para investir nas análises uma vez que as mesmas foram feitas no laboratório privado.
- ❖ Não foi possível a demonstração dos resultados através de gráficos, diagramas ou histogramas pela indisponibilidade do laboratório.
- ❖ Dificuldades em ter uma ter resultados precisos uma vez que não foram usados difentes marcas da farinha de milho.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1.Condições de venda observadas na farinha de milho da marca Top Score em três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto)**

Para a recolha das amostras dirigiu-se aos mercados de Boane, Benfica e Zimpeto onde as condições de comercialização não foram adequadas, verificou-se que as instalações de comercialização são adequadas, e que não apresentavam as formas corretas de um estabelecimento de comercialização de produtos alimentícios, os produtos encontravam-se expostos fora da embalagem secundária, os mesmos não estavam agrupados entre espécie ou tipo, e não havia espaçamento entre eles, as prateleiras encontravam-se empoeiradas, como consta nos apêndices 1,2, e 3.

ROSALIA *et al.* (2012) avaliaram a contaminação, manipulação e conservação dos alimentos e constataram que a farinha de milho deve se manter em locais secos e ventilados sobre prateleiras afastadas do piso e das paredes, não juntar a mesma com outros produtos na mesma prateleiras, com o humidade acima de 60%.

AZEVEDO *et al.* (2002) avaliaram os cuidados e manipulação dos alimentos obtidos em diversos pontos (norte, sul, leste e oeste) da cidade de Montes claros, norte de Minas Gerais. E concluíram que a exposição contínua do alimento na comercialização favorece o aparecimento do fungo causador de aflatoxina B1, B2, G1 e G2.

#### **4.2.Características físicas analisadas na farinha de milho da marca Top Score comercializada em três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto)**

**Tabela 10:**Parâmetros físicos analisados da farinha de milho comercializada em três mercados da Província de Maputo (Boane, Benfia e Zimpeto)

<b>Nome da amostra</b>	<b>Peso da amostra</b>	<b>Cor</b>	<b>Aspecto do conteúdo</b>	<b>Aspecto da embalagem</b>	<b>Resultados</b>
B1	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado
B2	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado
B3	1kg	Branca	Normal	Normal	Não detectado
C1	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado
C2	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado
C3	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado
Z1	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado
Z2	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado
Z3	1KG	Branca	Normal	Normal	Não detectado

B- amostras do mercado de Boane; B1, B2, B3=repetições.

C- amostras do mercado de Benfica; C1, C2, C3=repetições.

Z- amostras do mercado de Zimpeto; Z1, Z2, Z3=repetições.

ALMEIDA *et al.* (2010), avaliaram as características físicas ( cor, aspecto do conteúdo) em grão de milho usando diferentes tipos de fertilizante concluíram que não houve diferença significativa na mundaça da cor.

ANZUETO *et al.* (2009) analisaram as características físicas do amendoim moído nos mercados informais e constataram que a cor era normal, aspecto do conteúdo apresentava indício de aparecimento de algum agente nocivo e aspecto da embalagem danificado devido ao alto grão de exposição.

JUNIOR *et al.* (2014), analisaram as características físicas da farinha de trigo comercializada nos mercados informais na cidade de Ciará condições inadequadas e constataram que a mesma apresentava uma cor cinza conseqüentemente diminuindo a sua aquisição e preferência. De acordo com LNHA, 2022. As análises feitas nas características físicas em todos os mercados em estudo eram normal como consta nos anexos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9.

#### **4.3.Resultados da avaliação de aflatoxina na farinha de milho da marca Top Score pelo método de cromatografia em camada delgada**

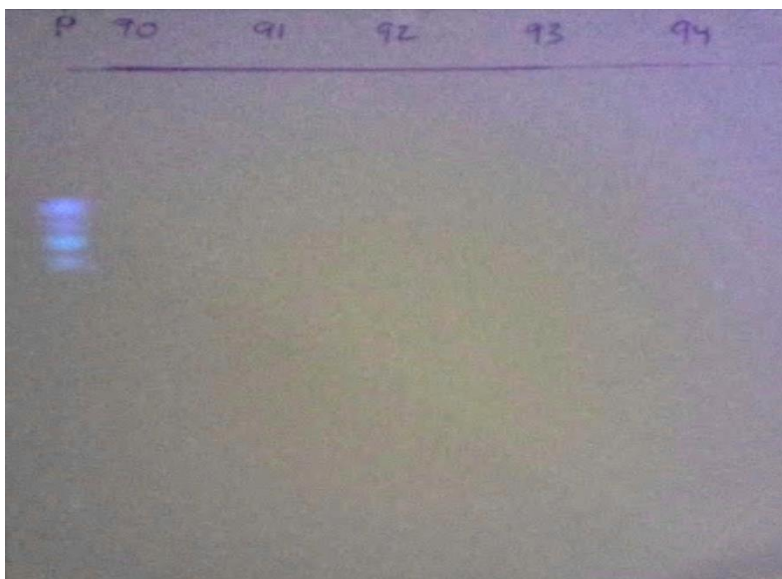
A incidência de intoxicação humana em decorrência do consumo de alimentos contaminados por aflatoxinas é uma questão de saúde mundial, sendo que essa contaminação dos alimentos pode ocorrer no campo, antes e após a colheita, assim como no transporte, armazenamento e comercialização do grão e seus derivados, entretanto, estudos revelam que o principal foco de contaminação de alimentos é no armazenamento (SHUNDO *et al.*,2010). Para a (ROSALINA *et al.*, 2012), a exposição contínua dos alimentos proporciona o aparecimento do fungo causador de aflatoxina.

Os resultados de análises de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 pelo método CCD (cromatografia de camada delgada) nas amostras de farinha de milho da marca Top Score comercializada em três mercados da província e cidade de Maputo, não detectaram presença deste metabólito em todas as embalagens estudadas, visto que a intensidade das manchas dos padrões não foram muito evidentes e também não houve a percolação das mesmas.

#### 4.3.1. Fluorescência e Rf das manchas frente a Luz UV-365nm

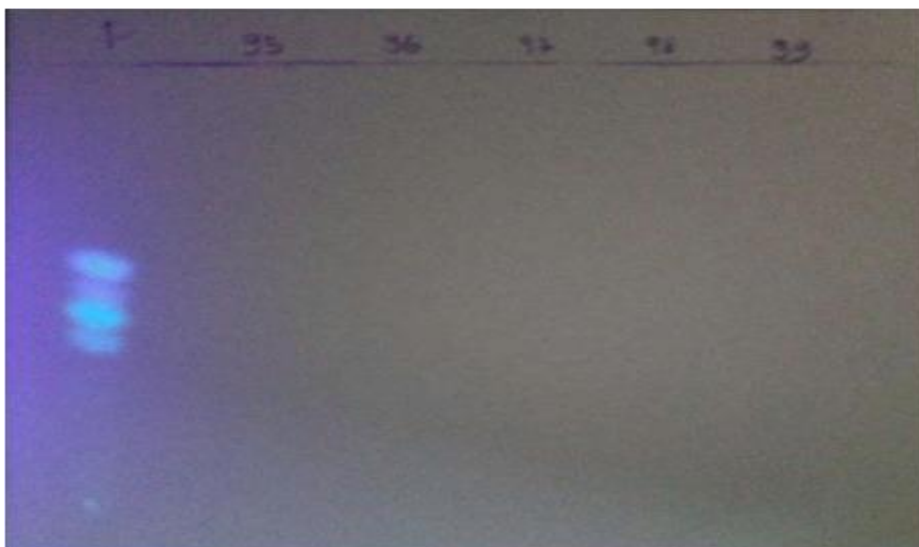
As imagens de comparação visual da intensidade da fluorescência e o Rf das manchas frente á luz UV-365 nm da amostra com correspondente padrão de referência são apresentados nas figuras 1, 2 e 3, cada imagem representa o resultado de cada mercado, que por sua vez descrevem ausência de aflatoxina na farinha de milho, pois não houve a prolongação das manchas e as mesmas não são muito evidentes.

**Figura 1:** comparação visual da intensidade da fluorescência e o Rf das manchas frente á luz UV-365nm da amostra com correspondente padrão de referência nas amostras do mercado de Boane.



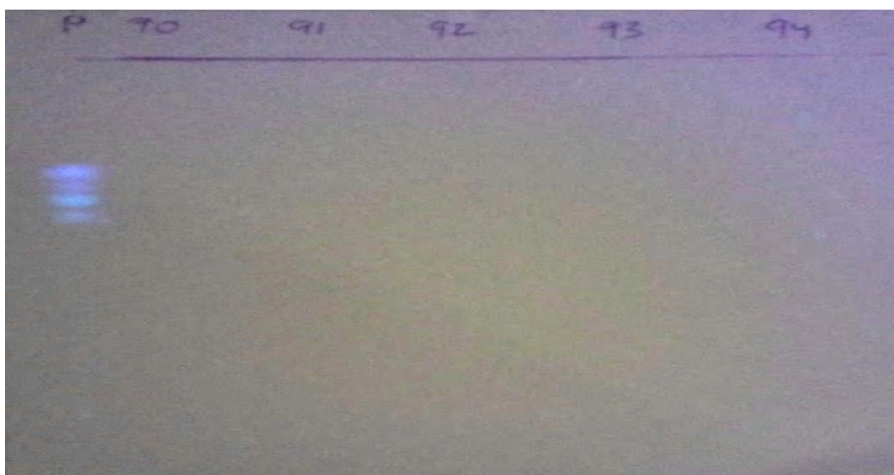
**Fonte:** LNHAA, (2022)

**Figura 2:** comparação visual da intensidade da fluorescência e o Rf das manchas frente á luz UV-365nm da amostra com correspondente padrão de referência nas amostras do mercado de Benfica.



**Fonte:** LNHAA, (2022)

**Figura 3:** comparação visual da intensidade da fluorescência e o Rf das manchas frente á luz UV-365nm da amostra com correspondente padrão de referência nas amostras do mercado de Zimpeto



**Fonte:** LNHAA, (2022).

Apesar de não ter sido detectada presença de aflatoxina neste trabalho, provavelmente devido ao menor tempo de exposição da farinha de milho Top Score utilizada nestes mercados em estudo, as condições de comercialização observadas não eram adequadas visto que as prateleiras estavam empoeiradas, a farinha de milho Top Score estava juntada com outros produtos na mesma prateleira e fora da embalagem secundária consequentemente aumentando sua exposição. A exposição contínua do alimento na comercialização favorece o aparecimento do fungo causador de aflatoxina (ALVO 2002).

Dentre as amostras avaliadas, todas apresentaram resultados satisfatórios visto que a intensidade das manchas dos padrões não foi muito evidente e não houve o funcionamento de factor de retenção. Resultados diferentes foram encontrados por PRADO *et al.*, (2008), ao utilizar o clorofórmio como fase móvel, na determinação de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 em pimenta (*pipernigrun L.*) e orégano (*Origanumvulgare L*) por TLC, detectou os níveis elevados de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 no seu estudo devido ao alto grau de exposição do mesmo.

CANÇADO e FREIRAS, (2002), também determinaram a presença de aflatoxinas em milho usando Cromatografia em Camada Delgada concluíram que os níveis de aflatoxinas presentes em grão do milho eram baixos visto que não apresentava perigo para os consumidores.

FERREIRA *et al* (2013), Também avaliaram a presença de aflatoxina em amendoim usando Cromatografia em Camada Delgada e por sua vez concluiu que os resultados sugeriam que as amostras de amendoim utilizadas na pesquisa estavam livres de contaminação por aflatoxina B1, B2, G1 e G2, devido às boas práticas agrícolas dos grãos empregados na produção e armazenamento da amostra de amendoim em questão.

ANTUNES e ROYO (2014), determinaram a presença de aflatoxina em amostras de molina comercializada em Montes Claros-MG usando Cromatografia em Camada Delgada e chegaram a conclusão que não foi possível determinar a presença de aflatoxinas em amostras de molina comercializada na cidade de Montes Claros, devido a boas práticas do controle de qualidade antes e após-colheita da matéria-prima que foram indispensáveis para eliminação, crescimento e proliferação de microrganismos.

ROBERTA *et al* (2016), avaliou as micotoxinas em grãos de milho e seus derivados produzidos no estado de Rondônia e concluiu que as aflatoxina B1 foram detectadas nos grãos mas em níveis baixos, as amostras estavam contaminadas com níveis mínimos de Aflatoxina B1 (entre 1,0 a 4,0 µg/kg).

## 5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados do presente trabalho, conclui-se que:

- ❖ As condições de venda da farinha de milho da marca Top Score nos três mercados da província de Maputo (Boane, Benfica e Zimpeto) eram inadequadas porém não favoreceram o aparecimento do fungo produtor de aflatoxina .
- ❖ os resultados obtidos na análise das características físicas foram satisfatórios, significando estar dentro dos padrões recomendados em Moçambique.
- ❖ Não foi detectada a presença de aflatoxina B1, B2, G1 e G2 na farinha de milho Top Score comercializada em três mercados da província de Maputo (Mercado de Boane, Mercado de Benfica e Mercado Zimpeto) pelo método de Cromatografia em Camada Delgada.

## **6. RECOMENDAÇÕES**

### **6.1. Aos investigadores**

- ❖ Que realizem mais estudos sobre a presença de aflatoxina em produtos alimentícios, principalmente os comercializados nos mercados informais utilizando outros equipamentos e materiais para análise.
- ❖ Que façam estudo sobre a presença de aflatoxina nos produtos alimentícios de acordo com o tempo de exposição.

### **6.2. Aos consumidores**

- ❖ Em caso de conservação das sobras, a farinha de milho deve se manter a temperatura ambiente e deve manter as embalagens bem fechadas após o uso para evitar a entrada de microorganismos.

### **6.3. Às autoridades municipais e da saúde**

- ❖ Que intensifiquem a fiscalização nestes mercados para garantir a melhoria das condições higiénica-sanitárias.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ❖ ALMEIDA, CHU, VANDERLAN, M., STANKER, L, H.; WATKING, B. E.; ROBERTO. D. Avaliação das características físicas da farinha de milho, p.140-157.
- ❖ AOAC., International official Methods of analysis, v.2, p. 2-21, 1999.
- ❖ ANVISA, CNNPA, resolução N.12 de 1978.A em alimentos e risco para a saúde humana. Rev Saúde Pública, p.36-316. 2002.
- ❖ ANZUETO, condições de venda do amendoim moído nos mercados informais em Minas Gerais, p.121-187, 2009.
- ❖ ASTRIVIZ.; SUAREZ, Maria Matilde Socarrás. Micotoxinas y câncer. Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas, Ciudad de la Habana, v.24, n.1, .2005.
- ❖ AZEVEDO, manual do preparador e manipulação de alimentos. Secretaria Municipal de Saúde. 2002.
- ❖ BENNETT. J.W; KLICH M. Mycotoxins, Clin Microbiol, v.16, n.3, p.497-516.2003.
- ❖ CALDAS E D, SILVA S C, OLIVEIRA J N. Aflatoxinas e ocratoxina 1999.
- ❖ CALVERTON, MOCAMBIQUE, EUA. Maryland v.5, P. 209-123, 2009.
- ❖ CANÇADO, R. A.; FREITAS, R. J, S. metodologia simplificada para detecção de aflatoxinas em milho, visão acadêmica, Curitiba, v. 3. N. 2, p. 95-102, 2002.
- ❖ COLE, R. J., COX., R. H. handbook of toxic fungal metabolites. New York. Academic press, p.987. 2001.
- ❖ COULOMBE APP. Aflatoxinas; ocorrência, distribuição e estimativa de ingestão através de produtos de amendoim na cidade de Piracicaba -São Paulo. Escola Superior de Agricultura, 2005.
- ❖ DINIZ, S.P.S. micotoxinas. 1 ed. Campinas: editora Rural, p.181, 2002
- ❖ FERREIRA, P., QUEIROZ, V.A. V., CONCEICAO. R.R. P., MIGUEL, R. A. Incidência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos de milho consumido no estado de Minas Gerais, v. 12,n.1, p.54-60, 2013.
- ❖ FONSECA, H. contribuição ao estudo da aflatoxina no amendoim (*arachisbipogea* L) da colheita à industrialização, USP. 1999.
- ❖ FREIRE, F. C. O.; KOZAKIEWICZ, Z.; PATERSON, R. M. Mycoflora and mycotoxins of Brazilian cashew kernels. Mycopathologia, v. 145, p. 95-103, 1999.
- ❖ FREIRE, F. C. O. ;VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, F.; MENDES, F. N. L. Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, 48p. 2007.

- ❖ GEYIKOGLU, F, E. TURKEZ, H. proctetive Effect of sodium selenite on Genotoxixity to human whole blood cultures induced by Aflatoxina B1. Curitiba, v.48, n.6, p.905-910, 2005.
- ❖ HENRICO, CAEJADEI, Moçambique, águas, alimentação e alimentos 2000.
- ❖ HUSSEIN, H.S.; BRASEL, J.M. toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicol. 167.101-134. 2001.
- ❖ INCA. Estimativa para 2010 de novos casos de cancer, por região..22 mar.2010..
- ❖ INTERNACIONAL, AGENCY ON RESEARCH IN CANCER (IARC).,some naturally occurring substances: Food Items and Conctituents, Heterocyclic AromaticAmines and Mycotoxins In, p.56. 2000.
- ❖ KAWASHIMA, L.M.; SOARES, V.M.V. Effect of fumonisins B1, aflatoxin B1, B2, G1 and G2, zearalenone, ochratoxinim maize procts. 26:p.515-521, 2006.
- ❖ KLICH, A, M.A. & PITT, J. I. Differentiation odaspergillusflavus from. A. parasitionsandothercloselyrelatedspiccies p. 91-108. 2003.
- ❖ LABORATORIO NACIONAL DE HIGIENE ALIMENTO E AGUAS (LNHAA). Manual de Microbiologia Alimentar. Moçambique, 1997.
- ❖ LAVRAS, F.A. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e alimentos para animais. 2nd ed. Curitiba: ed, 148p, 2009.
- ❖ LANÇAS F. M. cromatografia líquida moderno-hplc. 1ª ed. Campinas: átomo, 2009.
- ❖ MABBETT. T. A. Ameaças das micotoxinas. Feeding tines. Dblin. V.4, n.5, .p45, 2010.
- ❖ MARCIA, B. A.; LAZZARI, F. A.monitoramente de fungos no milho em grão, grãos e farinha de milho. Ciência e Tecnologia de alimentos, 18:n.4, p. 363-367, 2002.
- ❖ MINISTERIO DA ADMINISTRAÇÃO ESTATAL. Distrito de Boane, província de Maputo. 2014.
- ❖ OLIVEIRA, I.S. MOURA, R,M., LUZ., E.D.M.N., MAIA, L., patogenicidade de *penicilliumsclarotigenuma* diferentes frutas e ortas em pos- colheita. Fitopatologia 31:408-410. 2006
- ❖ ORGANIZACAO MUNDIAL DA SAUDE. Critérios de salud ambiental 11: Micotoxinas. Cidade de Mexico: OMS, p.131. 2021.
- ❖ PEREIRA, KELLY CRISTINA, D.S. CARLOS F. Micotoxinas e seu pontencialcarcinogenico. Vol.15, n.4, p.165, 2011.

- ❖ PRADO, G, et al. Determinação de aflatoxina B1 em pimenta e orégano por cromatografia em camada delgada e densitometria. Belo horizonte, v. 31, n.4, p.514-517, 2008.
- ❖ PUCHASE, L.F.H. Mycotoxinas. Amsterdam.elsevier, v.8, n.3, p.289-295. 1999.
- ❖ RAISUDDIN, S. toxic responses to aflatoxins in developing hoste. Journal of toxicology: toxin Review, v. 12, p. 175-201, 1993.
- ❖ REDDY, L., ODHAV, B.,; BHOOLA, K. aflatoxin B1-introced toxicity in HepG2 cells inhibited by carotenoids: morphology, apoptosis and DNA damage. Journal of biological chemistry. Bethesda, v.387, n.1, p.87-93, 1992.
- ❖ ROSALINA APARECIDA DA SILVA, ciencia de alimentos, p. 22-29, 2012.
- ❖ SANTOS, F. C. F. Fungos em rações para camarões cultivados no estado do Piauí Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal do Piauí. PI 2006
- ❖ SMITH, J.E.; SOLOMONS, G.L.; LEWIS, C.W.; ERSON, J. G (1994). Mycotoxins in human nutrition. Directorate-Geral XII Science, Research Development (ed), European Commission, pp. 1-300, 1994.
- ❖ SHUNDO, L.; NAVAS, A. S., RUVIERI, V. ALABURDA, J., LAMARDO. L.C. A. SABINO, M. Aflatoxina em amendoim. Revista do Instituto Adolfo Luiz, v.69, n4, p.567-570, 2010.
- ❖ UYSAL, L. H.; AGA, R. G. selenio protective activity against aflatoxin B1 adverse affects on *Drosophila melanogaster*. Brazilian archives of biology and technology, Curitiba, v.48, n.2. p.207-210, 2005.
- ❖ WEBER. E.A. armazenagem agrícola. 2 ed. Agropecuária, p. 396. Guaíba, RS:2001.
- ❖ WOGAN, G. N. aflatoxin carcinogenesis: interspecies potency difference and relevance for human risk assessment. Progress in clinical biological research. New York, v.374,p.123-137, 1992
- ❖ WOLKSWAGEN DO BRASIL LTDA. Manual de Primeiros Socorros. 1996.
- ❖ YU, J.; CLEVELAND, T.E.; NIERMAN, W.C.; BENNETT, J.W. *aspergillusflavus* genomes. Revistaiberoamericana de micologia. Bibao, v.22, p.194-202, 2003.
- ❖ ZUBRICK. J. W Guia de técnicas para alunos. 6 ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC. 2005.

# ANEXOS

# Apêndices