

Desenvolvimento, Validação e Acreditação de Ensaio Analítico de Determinação de Aflatoxinas em Amendoim por CLAE-EM/EM*

Juliana Scofano Barrabin¹; Ronoel Luiz de Oliveira Godoy² & Renata Galhardo Borguini³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, e-mail: jbarrabin@terra.com.br; ²Embrapa Agroindústria de Alimentos - Laboratório de Cromatografia Líquida; ³Embrapa Agroindústria de Alimentos – Laboratório de Micotoxinas.

Palavras-chave: segurança alimentar, micotoxinas,

RESUMO

Uma das principais ameaças à segurança dos alimentos é a presença de contaminantes naturais como as micotoxinas, metabólitos tóxicos secundários produzidos por fungos. As micotoxinas mais estudadas atualmente são as aflatoxinas, produzidas pelos fungos *Aspergillus flavus* e algumas espécies de *Penicillium*. Desenvolvem-se tanto no período pré-colheita como durante o armazenamento de diversos produtos vegetais, causando danos à saúde de animais e humanos que os consomem. Esta preocupação levou muitos países a estabelecerem na legislação limites máximos aceitáveis de aflatoxinas em diferentes classes de alimentos. A legislação da União Européia é a mais rígida entre todos os países, preconizando um limite máximo de 2µg/kg para aflatoxina B₁ e de 4µg/kg para a soma das 4 principais aflatoxinas encontradas nos vegetais – B₁, B₂, G₁ e G₂. A falta de controle acerca destes contaminantes gera perdas econômicas aos pecuaristas, que perdem seus rebanhos, aos produtores, industrializadores e principalmente aos exportadores destes alimentos, que vêm perdendo importantes mercados, como o da União Européia. Para que se possa controlar o desenvolvimento destas toxinas é preciso que hajam metodologias seguras para analisar sua presença e quantificá-las. Os métodos oficiais atualmente utilizados para estas análises são cromatografia de camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-DF) e imunoenaios. Tais métodos requerem etapas de extração, purificação e derivatização da amostra previamente à análise, consumindo muito tempo e submetendo o analista a uma maior exposição a solventes tóxicos. Foi estudada no laboratório uma análise de aflatoxinas em amendoim pelo método CLAE-DF, utilizando-se um cromatógrafo modular Waters® e coluna analítica X-Bridge® C18 (4,6 x 250mm, 5µm). Nesse estudo, conseguiu-se automatizar a etapa de derivatização das aflatoxinas através da instalação do dispositivo Kobracell® - uma célula eletroquímica de derivatização - no sistema cromatográfico, sem que houvesse diferença na sua recuperação. Foram utilizadas colunas de imunoafinidade Aflatest P® Vicam® para a etapa de purificação, na qual o extrato deve ser passada pela coluna em velocidade lenta e controlada (2gotas/seg), representando fator limitante no tempo total da análise. Os ensaios de recuperação realizados apresentaram valores inferiores à faixa aceitável (80 a 120%) para a fortificação com 12,25µg/kg de aflatoxinas totais, padrão Sigma®. A verificação de aflatoxinas no lixo da Aflatest P® aponta a sua saturação, representando uma limitação de sua capacidade. O objetivo deste projeto é portanto trabalhar no desenvolvimento e validação para acreditação de um ensaio analítico para quantificação de aflatoxinas em amendoim por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência e detecção por Espectrometria de Massas, técnica com as já conhecidas vantagens de alta seletividade e sensibilidade e que possibilita simplificar ou até dispensar as etapas de pré-tratamento da amostra, representando ganho de tempo e eficiência. A validação será feita conforme o documento orientativo DOC CGCRE-008 do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) para análise de traços.