Avaliação da Presença e Quantificação de Aflatoxinas Totais em Grãos Secos de Destilaria (DDG) e Grãos Secos de Destilaria com Solúveis (DDGS) utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Fluorescência (CLAE-DF)

Ana Julia Bernardi de Souza[1], Aline Silva Mello Cesar[1], Maria Antonia Calori[1]

[1.] Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba/SP, Brasil

As aflatoxinas são metabólitos tóxicos produzidos por fungos do gênero Aspergillus, sendo as principais B1, B2, G1 e G2. A contaminação por aflatoxina é uma preocupação significativa na segurança dos alimentos, especialmente em grãos e produtos derivados, amplamente empregados na alimentação animal. Este estudo avalia a presença e concentração de aflatoxinas totais (B1+B2+G1+G2) em amostras de grãos secos de destilaria e grãos secos de destilaria com solúveis (DDG e DDGS), coprodutos do processamento do etanol de milho, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-DF), visando a garantia da qualidade e segurança do produto final. Foram utilizadas 44 amostras de DDG e DDGS provenientes de diferentes produtores de diversas regiões do Brasil. As amostras foram analisadas pelo cromatógrafo da marca Shimadzu, que possui bomba modelo LC-20AT e válvula para gradiente LC-20AD/T vp, detector de fluorescência modelo RF-20Axs (EXC 362 nm/EM 440 nm), injetor automático modelo SIL-20A, forno modelo CTO-20A mantido a 40ºC, degaseificador modelo DGU-20A5 e software LabSolution Multi PDA. Para a detecção e quantificação das aflatoxinas (B1 e G1) foi necessária a derivatização pós-coluna empregando-se o reator fotoquímico Romer® Derivatization Unit (RDU™). A separação cromatográfica das aflatoxinas foi realizada pela coluna Walters XTerra MS C18 (125Å, 5 µm, 4.6 mm X 150 mm, 1/pk). A fase móvel utilizada, no modo isocrático, foi H2O:Acetonitrila (60:15:25) a um fluxo de 1,0 mL/min e um volume de injeção de 50 µL. O controle de qualidade analítico foi realizado pela determinação da exatidão da metodologia (testes de recuperação), limite de detecção e quantificação experimentais e linearidade da curva para cada tipo de aflatoxina. A validação do modelo analítico ocorreu pela aplicação do Teste F da regressão, Teste F da falta de ajuste, R^2, teste de normalidade dos resíduos e teste de homoscedasticidade e autocorrelação dos resíduos. O teste de recuperação apresentou valores entre 91,61% e 101,37%, atendendo aos critérios para exatidão. O limite de detecção experimental utilizado foi de 0,1 ng/mL para AFB1/AFG1 e de 0,07 ng/mL para AFB2/AFG2; enquanto o limite de quantificação experimental foi de 0,3 ng/mL para AFB1/AFG1 e de 0,19 ng/mL para AFB2/AFG2. A análise revelou que 75% das amostras apresentaram contaminação de aflatoxinas totais (AFLT) em níveis inferiores aos estabelecidos pela legislação, que define um limite máximo tolerado (LMT) de 20 µg/kg para milho (não existem limites estabelecidos para grãos de destilaria). Esses resultados indicam a presença de fungos produtores de aflatoxinas em alguma fase do processo, desde o plantio até o armazenamento. Além disso, se o fungo produtor de aflatoxinas estiver ainda presente no produto e houver condições de umidade e temperatura para o seu desenvolvimento, poderá ocorrer a produção de aflatoxinas no DDG e DDGS. O método CLAE-DF utilizado demonstrou ser sensível, seletivo e preciso para determinação de aflatoxinas totais em amostras de DDG e DDGS. Assim, pode ser considerado adequado para quantificação de AFLT. As amostras analisadas estavam em conformidade com os padrões

regulatórios, embora a presença da toxina possa indicar a necessidade de estudos adicionais para identificar em quais etapas ocorre a contaminação de fungos produtores de aflatoxinas e para desenvolver estratégias de mitigação visando a segurança dos alimentos.

Agradecimentos: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da bolsa do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), que tornou este projeto possível e também à Escola Superior de Agricultura \"Luiz de Queiroz\" da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) pelo apoio e pela infraestrutura fornecida.