

DETERMINAÇÃO DE OCRATOXINAS EM CERVEJAS, POR INJEÇÃO DIRETA, EMPREGANDO CLAE.

*Eliane M. R. Stéfano Simionato¹ (PQ), Manoel L. de Menezes² (PQ)- esimionato@usc.br

1. Universidade do Sagrado Coração – USC – Bauru – Rua Irmã Arminda 10-50, Bauru – SP, CEP 17011-160.

2. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências, Departamento de Química, Campos Bauru. Av. Engº Luiz Edmundo Carrijo Coube nº 14-01, CEP – 17033-360.

Palavras Chave: ocratoxinas, cerveja, cromatografia, coluna-ISP.

Introdução

Dentre as micotoxinas existentes, a ocratoxina A (OTA), produzida por *Aspergillus ochraceus*, e *Penicillium verrucosum*, é classificada pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC), como sendo uma substância do Grupo 2B, ou seja, um agente possivelmente cancerígeno para o homem¹. O Comitê JECFA da FAO/WHO propôs um limite máximo tolerável para ingestão semanal de 0,1µg.kg⁻¹ de peso corpóreo².

São vários os alimentos que têm apresentado OTA, dentre eles alguns que fazem parte do consumo alimentar diário do brasileiro, como arroz, feijão, café, milho, cevada, trigo e vinho^{3,4,5}.

O brasileiro consome em média 46,8 litros de cerveja por ano, e esta tem como matéria-prima principal cevada, além de coadjuvantes como o milho e o arroz⁶.

Os vários métodos analíticos para a determinação das ocratoxinas A e B(OTB) em diferentes tipos de amostras, sobretudo em bebidas, requerem o pré-tratamento da amostra ou o emprego de colunas de imunoafinidade,

Dentre as técnicas de injeção direta de amostras não tratadas no sistema de CLAE, as fases RAM (Restricted-Access Media) tem sido muito empregadas⁷.

Visando acelerar a velocidade analítica desenvolvemos um novo método, por injeção direta da amostra de cerveja, empregando cromatografia líquida de alta eficiência, com uma pré-coluna cromatográfica aniônica-ISP (Internal Surface anionic Phase).

Resultados e Discussão

A coluna aniônica empregada como pré-coluna foi obtida com a fase estacionária cloreto de N,N-propiltrietilaminônio silano. A imobilização da proteína nesta coluna seguiu o procedimento descrito por MENEZES e FÉLIX⁷. A coluna analítica empregada posteriormente à aniônica-ISP foi uma coluna cromatográfica C₁₈, 5 µm, 110 Å, (250 mm x 2,0 mm DI).

Os experimentos cromatográficos foram realizados sob condições isocráticas em um sistema gradiente de CLAE com detector de fluorescência. As soluções-padrão foram injetadas em uma válvula

Rheodyne 7125. Foi utilizada uma alça de injeção com volume de 1000 µL. Uma segunda válvula Rheodyne 7000 foi empregada para efetuar a mudança de fluxo para a segunda fase móvel, empregando a técnica de column switching. As fases móveis empregadas foram: Bomba A - água destilada, vazão 1,0 mL.min⁻¹, por 10 minutos e Bomba B - solução aquosa de ácido clorídrico 1,0% : acetonitrila (60:40) (v/v), vazão 0,4 mL.min⁻¹, por mais 35 minutos.

Assim foi possível efetuar a extração e pré-concentração *on line* das ocratoxinas A e B presentes em amostras reais de cervejas. Os resultados obtidos indicaram que o método proposto é eficiente para a detecção e quantificação de OTA e OTB em cervejas, pois apresentou recuperação média de 85,9% para OTA e 85,0% para OTB; precisão estimada pelo coeficiente de variação médio de 7,79% e 7,17%; e limites de detecção (LD) de 0,15 e 0,35 µg.L⁻¹ para OTA e OTB, e os limites de quantificação (LQ) 0,25 e 0,60µg.L⁻¹, respectivamente para OTA e OTB.

Conclusões

O método desenvolvido empregando uma coluna cromatográfica aniônica-ISP instalada em série com uma coluna analítica C₁₈, possibilita efetuar a injeção direta das amostras de cervejas, ocorrendo a extração e separação *on line*, sem o tratamento prévio das amostras de cerveja.

Agradecimentos

À FAPESP pela aprovação do Projeto, a qual possibilitou a compra dos equipamentos utilizados neste trabalho.

¹Ochratoxin A. <<http://www-cie.iarc.fr/htdocs/monographs/vol56/13-ochra.htm>>. Acesso em: 31 ago. 2006.

²FAO/WHO <<http://jecfa.ilsa.org/evaluation.cfm?chemical=OCHRATOXIN%20A&keyword=%20>>. Acesso em: 30 ago. 2006.

³Studer-Rohr, I.; Dietrich, D. R.; Schlatter, J.; Schlatter, C. *Food Chem. Toxicol.*, **1995**, *33*, 341.

⁴Furlong, E. B.; Soares, L. A. S.; Vieira, A. P.; Dadalt, G. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* **1999**, *58*(2), 105.

⁵Visconti, A.; Pascale, M.; Centoze, G. *J. Chromatr. A*, **1999**, *864*(1), 89.

⁶SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DA CERVEJA.
<http://www.sindicerv.com.br/mercado/txt_mercado.htm>. Acesso em: 30 jul. 2006.

⁷Menezes, M. L.; Félix, G. J. *Liq. Chromatogr.* **1996**, *19*, 3221.