

VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA ANÁLISE DE OCRATOXINA A EM CAFÉ VERDE POR CLAE/IEN/EM-EM.

Raquel D. C. C. Bandeira^{1,2*} (PG/PQ), Thais M. Uekane¹ (PQ), Carolina P. da Cunha¹ (IC), Valnei S. Cunha¹ (PQ), Janaina M. Rodrigues¹ (PQ); Ronoel L. O. Godoy³ (PQ); Marcus H. C. de la Cruz⁴ (PQ).

*rdbandeira@inmetro.gov.br

¹Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), Diretoria de Metrologia Científica e Industrial (DIMCI) - Divisão de Metrologia Química (DQUIM) - Laboratório de Análise Orgânica (LABOR), Av. Nossa Senhora das Graças, 50- Xerém - Duque de Caxias - Rio de Janeiro, Brasil.

²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Guaratiba - Rio de Janeiro, Brasil.

⁴Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil.

Palavras Chave: Café, Validação, CLAE, EM/EM.

Introdução

A Ocratoxina A (OTA) é produzida por diversas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, classificado como potente nefrotóxico e nefrocarcinogênico, encontrada em alguns alimentos como café verde, torrado e instantâneo.^{1,2,3} Como não há legislação no Brasil, segue-se os limites estabelecidos por países da União Européia (5 a 20 µg/kg)⁴ que se encontram cada vez menores, necessitando de metodologias cada vez mais sensíveis. O objetivo deste estudo foi validar um método moderno, rápido e eficiente para determinação de OTA em café verde utilizando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas por eletronebulização (CLAE/IEN-EM/EM).

Resultados e Discussão

O procedimento de validação foi realizado seguindo a documentação orientativa do Inmetro (DOC CGCRE-008/2010) e a Diretiva da Comunidade Européia (EC 657/2002).^{5,6,7} Os parâmetros avaliados foram: faixa de trabalho, seletividade (efeito matriz), linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e exatidão (recuperação e precisão intermediária). A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos que se encontram dentro dos limites aceitáveis. A faixa de trabalho adotada foi de 3,0 a 23,0 µg/kg. O método proposto foi considerado seletivo pela ausência de picos interferentes no tempo de retenção da ocratoxina A nas transições monitoradas (404>239; 404>358). A presença de efeito de matriz na resposta linear foi confirmada ($a_{\text{solução}} \neq a_{\text{matriz}}$, $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$, $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabelado}}$). Desta forma, os experimentos subsequentes foram realizados em matriz. O método foi considerado linear, homocedástico (teste de Cochran), com distribuição aleatória dos resíduos em toda a faixa

de trabalho. O LQ foi 1,2 µg/kg e o LD foi 0,36 µg/kg.

Tabela 1. Dados de validação no método proposto.

Parâmetros	Resultados	Crítérios
$a_{\text{solução}}$	160247,75	---
a_{matriz}	69817,90	---
$F_{\text{calculado}}$	7,7857	$F_{\text{tabelado}}=1,9837$
$t_{\text{calculado}}$	5,0214	$t_{\text{tabelado}}=2,0422$
r	0,98188	>0,90
$C_{\text{calculado}}$	0,54280	$C_{\text{tabelado}}=0,68380$
Recuperação	90,45-108,81%	70-110%
DPR _r	5,39 - 9,94 %	<20%
DPR _R	2,20 - 14,34 %	<30%

Conclusões

O método validado utilizou técnica de elevada sensibilidade, permitindo a detecção, confirmação e a quantificação de OTA no café verde, podendo auxiliar futuramente para a produção de Material de Referência Certificado.

Agradecimentos

Os autores agradecem CNPq, FINEP e INCQS/FIOCRUZ.

¹Sforza, S.; Dall'Asta, C.; Marchelli, R. *Mass Spectrom. Rev.* **2006**, *25*, 54.

²Almeida, A.P.; Alaburda, J.; Shundo, L.; Ruvieri, V.; Navas, S.A.; Lamardo, L.C.A.; Sabino, M. *Braz. J. Microbiol.* **2007**, *38*, 300.

³Zollner, P.; Mayer-Helm, B. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1136*, 123.

⁴FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS. Available in: <<http://www.coffee-ota.org/faq.asp>>.

⁵Monaci, L.; Palmisano, F. *Anal Bioanal Chem.* **2004**, *378*, 96.

⁶INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO QUALIDADE INDUSTRIAL. **DOQ-CGCRE-008: Revisão 03.** Rio de Janeiro, 2010.

⁷EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Decision (EC) 2002/657/EC.