DETERMINAÇÃO DE AFLATOXINAS EM AMENDOIM E SEUS DERIVADOS

Este método visa identificar e quantificar aflatoxinas B_1, B_2, G_1 e G_2 através de extrações com solventes orgânicos com identificação e quantificação por cromatografia em camada delgada.

Reativos

Metanol; solução de cloreto de potássio 4%; clorofórmio; solução de sulfato de cobre 10%; sistema solvente tolueno : acetato de etila : ácido fórmico (60:30:10)

Solução padrão de aflatoxinas B_1, B_2, G_1 e G_2 de concentrações conhecidas (método em anexo)

Método

Amostras de amendoim ou de paçoca são trituradas, após homogeneização.

Extração:

Pesar 50 g da amostra em um béquer. Adicionar 270 mL de metanol e 30 mL de solução de cloreto de potássio 4%. Extrair em liquidificador por 5 minutos. Filtrar em papel de filtro recolhendo 150 mL do extrato filtrado em um béquer de 500 mL.

Purificação do extrato:

Adicionar 150 mL da solução de sulfato de cobre 10% e 5g de celite. Agitar a mistura com bastão de vidro e filtrar através de papel de filtro.

Extração líquido-líquido:

Em funil de separação de 1000 mL, transferir 150 mL do filtrado da fase anterior. Adicionar 150 mL de água destilada e extrair 2 vezes (por 3 minutos) com 10 ml de clorofórmio. Juntar 10 mL do extrato em erlenmeyer de 50 mL e evaporar à secura em banho de água a 80ºC. Conservar em geladeira envolto em papel alumínio.

Cromatografia em camada delgada:

Eluir em 500 µL de clorofórmio e aplicar 10µL da amostra em placas de silica gel G, de 0,25 mm de espessura juntamente com os padrões. Leitura em UV-366 nm.

Cálculo para quantificar as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2:

$$\mu g/kg\ (ppb)\ de\ aflatoxina = \frac{S.Y.V}{Z.W}$$

Onde:

S = µL da aflatoxina padrão, de fluorescência e Rf igual à amostra

Y = concentração de aflatoxina padrão, em µg/mL, usada na Cromatografia.

V = µL de solvente requerido para diluir o extrato final

Z = µL do extrato da amostra aplicado na placa

W = gramas de amostra contida no extrato final

Bibliografia

Official Methods of Analysis of AOAC, cap. 49, 16. ed., 1999.
J. Assoc. Off. Anal. Chem., 72(1), 22-26, 1989.