

AVALIAÇÃO DO MODO DE ELUIÇÃO NA EFICIÊNCIA DE SEPARAÇÃO DE AFLATOXINAS EM AMENDOIM POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM DETECÇÃO POR FLUORESCÊNCIA

BORGUINI, R.G.¹; GODOY, R.L.O.¹; ROSA, J.S.¹; PACHECO, S.¹; BARRABIN, J.S.².

¹Embrapa Agroindústria de Alimentos – Rio de Janeiro, RJ. E-mail: renata@ctaa.embrapa.br

²Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Santa Catarina

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de separação dos modos de eluição isocrático e gradiente na análise de aflatoxinas em amendoim por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-DF) e derivatização pré-coluna. Foram avaliadas amostras de amendoim cru descascado adquiridas no mercado varejista. Para extração e purificação das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, utilizou-se o método da AOAC *Official Method* 991.31. A fase móvel eluindo no modo isocrático era composta de metanol:acetronitrila:água 17,5:17,5:65 (v/v/v) mantida a um fluxo de 0,8mL/minuto. No modo gradiente linear, utilizou-se a composição metanol:acetronitrila:água iniciando a composição em 10:10:80 (v/v/v) e atingindo 15:25:60 (v/v/v) em 3 minutos, a um fluxo de 1,2mL/minuto e a coluna foi mantida a 40°C. Utilizou-se uma coluna C₁₈ da Waters (150mm x 4,6mm; 5µm) e o detector de fluorescência operou em λ_{ex} 364nm e λ_{em} 440nm. Para a derivatização pré-coluna, utilizou-se solução de ácido trifluoroacético, ácido acético glacial e água 20:10:70 (v/v/v). Após análise da amostra, verificou-se que o amendoim era isento de contaminação por aflatoxinas. Desse modo, as amostras foram fortificadas para a realização das análises. A quantificação das aflatoxinas foi efetuada por padronização externa, utilizando-se curva de calibração com 7 pontos de concentração, na faixa de trabalho de 0,42 a 20ng/mL para as aflatoxinas B₁ e G₁ e de 0,22 a 10ng/mL para as aflatoxinas B₂ e G₂. Utilizou-se o parâmetro número de pratos teóricos (N), calculado pelo método 5 sigma, para avaliar a separação cromatográfica. A eluição no modo isocrático apresentou os seguintes valores de N: 1372 (B₁), 4223 (B₂), 1057 (G₁) e 3742 (G₂); enquanto no modo gradiente, obteve-se 20217 (B₁), 34497 (B₂), 11203 (G₁), 37340 (G₂). Portanto, o modo de eluição gradiente apresentou eficiência de separação elevada em relação ao modo isocrático.

Palavras Chave: aflatoxinas, cromatografia líquida, eluição isocrática e gradiente.