

COMPARAÇÃO DE CUSTO-BENEFÍCIO DE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE AFLATOXINAS B1, G1, B2, G2 EM AMOSTRAS DE AÇÚCAR MASCADO: Extração QuEChERS X Extração Líquido- Líquido

Larissa Passos Umeoka¹

Bárbara Bohn¹

Raquel Fiori²

Cleiton Aires Jaques²

Mariana Baptistão³

RESUMO

Alguns fungos, organismos microbianos encontrados em todos os lugares, como água, ar e solo, produzem toxinas denominadas de micotoxinas, e quando presentes em alimentos são capazes de gerar efeitos tóxicos ao serem consumidas por pessoas e animais. Existem diversas variedades de micotoxinas, as mais estudadas são as aflatoxinas B1, G1, B2, G2. Para a determinação delas, são indispensáveis alguns processos no preparo da amostra anteriormente aos métodos quantitativos e qualitativos, (cromatografia em camada delgada - CCD). O método tradicional é fundamentado em etapas das quais utiliza-se uma grande quantidade de solventes e demanda elevada de tempo. No entanto, atualmente vem sendo aplicado um método, denominado QuEChERS que se caracteriza pela extração rápida, confiável, fácil, econômica, robusta e segura de analitos a partir de matrizes complexas, com menor uso de solventes. Nesse estudo duas distintas metodologias de extração foram comparadas em relação aos custos, tempo de desenvolvimento e quantidade de uso de solventes / reagentes para implementação na rotina analítica para a determinação de aflatoxinas em açúcar mascado. Os resultados obtidos através desse estudo certificaram a eficiência e os benefícios da metodologia QuEChERS nas extrações, uma vez que foi possível detectar melhor custo-benefício considerando a rapidez e o investimento necessário para a realização da técnica quando comparado com o método tradicional da extração líquido-líquido.

Palavras-chave: Açúcar Mascado. Aflatoxinas. Custo-benefício.

ABSTRACT

Some fungi, microbial organisms found everywhere, such as water, air and soil, produce toxins called mycotoxins, and when present in food they are capable of generating toxic effects

¹ Acadêmica do curso de Biomedicina/UNISINOS.

² Supervisor/Orientador da Seção Contaminantes/LACEN/CEVS/SES/RS.

³ Cientista de Aplicação da Agilent Technologies.

when consumed by humans and animals. There are several varieties of mycotoxins, the most studied are aflatoxins B1, G1, B2, G2. For the determination of these, some processes are necessary in the preparation of the sample before the quantitative and qualitative methods (thin layer chromatography - CCD). The traditional method is based on steps of which a large amount of solvents and a high demand of time are used. However, a method called QuEChERS is currently being applied, which is characterized by rapid, reliable, easy, economical, robust and safe extraction of analytes from complex matrices with less use of solvents. In this study two different extraction methodologies were compared in relation to the costs, development time and quantity of solvent / reagent use for implementation in the analytical routine for the determination of aflatoxins in brown sugar. The results obtained through this study certified the efficiency and benefits of the QuEChERS methodology in the extractions, since it was possible to detect a better cost-benefit considering the speed and the investment required to carry out the technique when compared to the traditional method of liquid- liquid.

Keywords: Brown sugar. Aflatoxins. Cost benefit.

INTRODUÇÃO

A preocupação e o cuidado com a saúde não são assuntos atuais já que diversas patologias podem ser causadas por microrganismos existentes antes mesmo do nosso surgimento, como por exemplo, os fungos. Os fungos, conhecidos também por mofo ou bolores, são microrganismos eucariontes, filamentosos, multicelulares ou até mesmo unicelulares, como as leveduras. Através de seu metabolismo, muitos deles são capazes de causar transformações indesejáveis nos alimentos. (MAZIERO; BERSOT, 2010).

Alguns gêneros de fungos filamentosos (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*) podem produzir a partir de seu metabolismo secundário substâncias tóxicas, denominadas de micotoxinas. (SPECIAN et al., 2014, p. 345). Dentre várias toxinas produzidas por esses microrganismos, as principais encontradas em alimentos são as aflatoxinas B1, G1, B2, G2 e M1. Alguns fatores propiciam o aparecimento de fungos em alimentos, como a umidade, temperatura, pH, composição química, entre outros aspectos. (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) uma possível intoxicação por essas substâncias pode ocasionar distúrbios neurológicos, imunológicos e pode também dispor de efeitos carcinogênicos, principalmente câncer hepático com a aflatoxina B1 (SANTURIO; 2000), sendo que a estimativa é de que 4,5 bilhões de pessoas são expostas a estas toxinas. (YU, 2012).

No Sul do Brasil há um espaço considerável em relação ao cultivo de cana-de-açúcar, em torno de 37 mil hectares. Porém, somente 10 mil hectares são destinados a produção de alimentos derivados da cana-de-açúcar com fins comerciais, como por exemplo, o açúcar mascavo. O produto é proveniente da cana-de-açúcar moída, sua forma de produção o classifica como açúcar não refinado. (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA), 2018). Tendo em vista que o *Aspergillus sp.* possui a capacidade de crescer em alta concentração de açúcares extraído a água, e sendo o açúcar mascavo de baixa polarização com alta umidade aliada a elevada concentração de nutrientes, tornam o produto suscetível ao embolamento. (BETTANI et al., 2014).

Pode-se elencar hipóteses sobre a contaminação do açúcar mascavo por micotoxinas, como uma contaminação cruzada que pode ocorrer com o contato de algum alimento com presença destas toxinas transmitindo ao açúcar através de etapas, como: armazenamento, manipulação, equipamentos industriais que não tiveram uma higienização adequada após o processamento destes alimentos. Outro fator é a presença de leveduras e bolores (PARAZZI et al, 2009), devido ao teor de umidade e tempo de armazenamento, em amostras de açúcar mascavo. (BETTANI et al., 2014).

Existem métodos implantados de análises para determinação e quantificação de aflatoxinas em amostras de alimentos por distintas cromatografias. Uma delas é a Cromatografia em Camada Delgada (CCD), cuja a técnica baseia-se na separação de elementos de uma mistura. (COLLINS; BRAGA; BONATO,1993).

No Brasil existe um regulamento que padroniza os limites máximos tolerados para presença de aflatoxinas em alimentos RDC nº 7 de 18/02/2011. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA /ANVISA, 2011).

São necessárias algumas etapas antecedentes a CCD para determinação de aflatoxinas numa amostra, como: preparo, extração, elaboração de reagentes a serem utilizados, purificação, entre outras fases da técnica. Atualmente, o método QuEChERS vem tomando proporção por sua notória facilidade e rapidez. Como não necessita de etapas de purificação dos extratos, diminui consideravelmente a quantidade de reagentes tóxicos quando comparado com a quantidade empregada na extração tradicional líquido-líquido. (PRESTES et al., 2009).

Tendo em vista que monitorar alimentos passíveis de contaminação por fungos é de atribuição dos órgãos governamentais dos Estados e como o açúcar mascavo é alternativa aos adoçantes artificiais e ao açúcar refinado pelo seu benefício nutricional como vitaminas e minerais, este trabalho vem auxiliar a escolha de técnicas analíticas que possam reduzir custos com maior benefício para a aplicação prática em monitoramento de rotina. Dessa forma, o presente estudo possui o intuito de apresentar os aspectos que se diferenciam entre as duas técnicas de extração na determinação de aflatoxinas no açúcar mascavo.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo experimental de comparação de custo-benefício de dois métodos de extração de aflatoxinas em amostras de açúcar mascavo.

O desenvolvimento desse projeto foi realizado no laboratório de micotoxinas da seção de contaminantes do Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul (LACEN/CEVS/SES/RS), órgão oficial do Estado que dá suporte laboratorial as ações da Vigilância em Saúde.

O método de amostragem foi de amostra não probalística por conveniência, ou seja, foram coletadas pelo Centro Estadual de Vigilância em Saúde, oito amostras de marcas distintas nos mercados de Porto Alegre e Interior do RS, através de um Programa Estadual

de Monitoramento da Qualidade Sanitária de Alimentos para análise de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.

A marcha analítica para a detecção de aflatoxinas foi executada conforme Procedimento Operacional do Laboratório POP/CON043 Rev.07. (Quadro 1).

Não foram detectadas aflatoxinas nas oito amostras de açúcar mascavo analisadas, mas para fins de comparação de custo-benefício das extrações, as mesmas foram submetidas à técnica de fortificação por padrões de aflatoxinas B1, B2, G1, G2 para plena realização do trabalho proposto.

Dessa maneira, para alcançar o objetivo, as amostras foram fortificadas com quatro tipos de aflatoxinas (AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2), com concentrações diferentes (01 mg.mL^{-1} ; $0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$; $0,2 \text{ mg.mL}^{-1}$) através da técnica de fortificação utilizada para uma validação de método. (ALBANO; RAYA-RODRIGUEZ, 2015).

Após o processo de fortificação, os açúcares foram submetidos a duas distintas metodologias de extração: método de extração líquido-líquido de Soares & Rodríguez-Amaya (1989) e método QuEChERS.

A alíquota empregada para a aplicação dos métodos após enquadramento de 2 kg para cada amostra (POP/RECEP001 Rev.04), é de 50 g por amostra de açúcar mascavo no método Soares & Rodríguez-Amaya e 3 g na metodologia QuEChERS.

O método de extração líquido-líquido de Soares & Rodríguez-Amaya (1989) é composto por três etapas: preparo purificação e extração líquido - líquido. Processos de adição de solventes como metanol (270 mL), solução aquosa de cloreto de potássio (30 mL) são efetuados na fase I (preparação), posteriormente há uma homogeneização e filtração da amostra. Na purificação é adicionado sulfato de cobre II (150 mL) e adsorvente celite (50 cm^3). Após, a amostra é filtrada novamente. Por fim, a extração líquido-líquido que se baseia na adição de água (150 mL) e clorofórmio ($2 \times 10 \text{ mL}$) a 150 mL de filtrado para haver a extração do analito e a separação de fases, o extrato clorofórmico é evaporado sob corrente de gás nitrogênio até a secura em banho-maria (45°C).

Para a quantificação em CCD, ressuspende-se com $200 \mu\text{L}$ de tolueno p.a.: acetonitrila p.a. (98:2).

Já o método QuEChERS é composto apenas por extração ao qual é utilizado acetonitrila (10 mL) e sais de QuEChERS (6 g de sulfato de magnésio e 1,5 g de acetato de sódio). Para haver a separação de fases é realizada a centrifugação (4.000 rpm / 5 minutos à 20°C) e utiliza-se 5 mL da alíquota sobrenadante que é evaporado sob corrente de gás nitrogênio até a secura em banho-maria (45°C). Para a quantificação em CCD, ressuspende-se com $200 \mu\text{L}$ de tolueno p.a.: acetonitrila p.a. (98:2). Ainda após a extração com sais de QuEChERS pode ser utilizada uma segunda etapa com dispersivo SPE para remoção de interferentes da matriz, que não foi aplicada neste procedimento, tendo em vista que os primeiros testes não obtiveram uma recuperação aceitável. O SPE utilizado é a base de carvão ativado, que é parcialmente efetivo na redução da ação de algumas micotoxinas.

Os aspectos analisados entre as metodologias foram: tempo de desenvolvimento, quantidade de reagentes/solventes e custos. Sendo que os resultados de custos desse estudo foram obtidos por meio da soma de valores de equipamentos, insumos, materiais necessários e valor da mão de obra do profissional por hora para a realização da técnica. Já a análise de tempo foi apresentada através da cronometragem de cada etapa das extrações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparação de custos entre as extrações

Na tabela 1 estão descritos desde os materiais descartáveis e insumos utilizados para a realização da técnica de extração feita pelo método tradicional (Método Oficial Soares & Rodriguez-Amaya, 1989) e suas respectivas quantidades e custos, até mesmo o valor da relação homem/hora dos profissionais especializados para a execução da tarefa.

Tabela 1 – Custo de análise por amostra.

Materiais descartáveis	Quantidade unitária do material	Valor unitário do material (R\$)	Quantidade unitária por amostra	Valor por amostra (R\$)
Papel filtro	1	1,50	4	6,00
Ponteira descartável	1	0,05	4	0,20
Total:		R\$ 1,55		R\$ 6,20
Reagentes/solventes	Quantidade unitária do material	Valor unitário do material (R\$)	Quantidade por amostra	Valor por amostra (R\$)
Celite p.a.	500 g	24,00	50 cm ³	1,20
Cloreto de potássio p.a.	1 kg	25,00	30 mL	0,75
Clorofórmio p.a.	1 L	69,00	20 mL	1,38
Metanol p.a.	1 L	51,87	270 mL	14,00
Sulfato de cobre II p.a.	1 kg	37,00	150 mL	5,55
Total:		R\$ 206,87		R\$ 22,88
Profissional: homem/hora	Hora por profissional	Valor da hora por profissional (R\$)	Hora do profissional por amostra	Valor da hora do profissional por amostra (R\$)
Analista	1	R\$ 34,00	1 h e 5 min	R\$ 36,00
Total:		R\$ 34,00		R\$ 36,00
TOTAL:		R\$ 242,42		R\$ 65,08

Fonte: Elaborada pela autora.

Na tabela 2 estão listados os equipamentos e vidrarias necessárias para a extração líquido - líquido.

Tabela 2 – Custo por amostra.

Equipamentos	Quantidade unitária por equipamento	Valor unitário do equipamento (R\$)
Banho Maria	1	809,40
Sistema de arraste de gás Nitrogênio	1	2.500,00
Liquidificador para amostras Ultraturrax	1	5.085,00
Total:		R\$ 8.394,40
Materiais	Quantidade unitária por material	Valor unitário do material (R\$)
Bastão de vidro	1	3,00
Béquer 10 mL	1	2,90
Béquer 25 mL	1	6,73
Béquer 50 mL	1	11,80
Béquer 600 mL	1	20,80
Funil de separação 500 mL	1	77,00
Funil simples 30 mL	1	8,00
Pipeta volumétrica 10 mL	1	13,00
Pipetador	1	16,70
Proveta 300 mL	1	8,00
Proveta 50 mL	1	7,00
Tubo de ensaio	1	2,47
Total:		R\$ 177,40
TOTAL:		R\$ 8.571,80

Fonte: Elaborada pela autora.

A tabela 3 indica o custo detalhado dos materiais descartáveis, insumos e valor da relação homem/hora para a execução da extração pela técnica QuEChERS.

Tabela 3 – Custo da análise por amostra.

Materiais	Quantidade unitária do material	Valor unitário do material (R\$)	Quantidade unitária por amostra	Valor por amostra (R\$)
Microfiltro 0,2 mm	100	322,96	1	3,23
Seringa descartável	1	0,57	1	0,57
Tubo Falcon	40	14,51	1	0,36
Total:		R\$ 338,04		R\$ 4,16
Reagentes/solventes	Quantidade unitária do material	Valor unitário do material (R\$)	Quantidade por amostra	Valor por amostra (R\$)
Acetonitrila p.a.	4 L	195,00	10 mL	0,49
Kit Sais de QuEChERS	50 unidades	1.500,00	1 unidade	30,00
Total:		R\$ 1.695,00		R\$ 30,49
Profissional: homem/hora	Hora por profissional	Valor da hora por profissional (R\$)	Hora do profissional por amostra	Valor da hora do profissional por amostra (R\$)
	1 hora	R\$ 34,00	30 minutos	R\$ 17,00
Total:		R\$ 34,00		R\$ 17,00
TOTAL:		R\$ 2.067,04		R\$ 51,65

Fonte: Elaborada pela autora.

Na tabela 4 estão listados os equipamentos e os materiais para a técnica de extração QuEChERS.

Tabela 4 – Custo por amostra.

Equipamentos	Quantidade unitária por equipamento	Valor unitário do equipamento (R\$)
Banho-Maria	1	809,40
Centrífuga refrigerada	1	5.730,00
Sistema de arraste de gás Nitrogênio UP	1	1.000,00
Vórtex	1	618,45
Total:		R\$ 8.157,85
Materiais	Quantidade unitária por material	Valor unitário do material (R\$)
Pipeta volumétrica de 10 ml	1	38,40
Pipeta volumétrica 5 ml	1	35,10
Total:		R\$ 73,50
TOTAL:		R\$ 8.231,35

Fonte: Elaborada pela autora.

Comparação de tempo entre as extrações

Para a determinação do tempo de análise, foi cronometrado o período de cada uma das etapas presentes em seus respectivos métodos de extração. Na tabela 5 mostra-se o tempo necessário de acordo com as etapas presentes no método líquido-líquido.

Tabela 5 – Tempo de extração por amostra – Extração Líquido-Líquido - Método Soares & Rodriguez-Amaya (1989).

Etapas da extração	Tempo (minuto)
Extração	5
Purificação	5
Extração líquido-líquido	35
Concentração em Banho-Maria com corrente de nitrogênio	20
Total:	65 minutos

Fonte: Elaborada pela autora.

A tabela 6 apresenta o tempo de cada um dos estágios da extração pelo método QuEChERS.

Tabela 6 – Tempo por amostra.

Etapas da extração	Tempo
Extração	3 minutos e 50 segundos
Purificação	10 segundos
Centrifugação e homogeneização	6 minutos
Concentração em Banho-Maria com corrente de nitrogênio	20 minutos
Total:	30 minutos

Fonte: Elaborada pela autora.

Comparação da quantidade de reagentes/solventes

As quantidades de solventes/reagentes, utilizados em ambas as metodologias, foram determinadas a partir da necessidade e insumos essenciais no processo de extração das aflatoxinas nas amostras.

Esta quantidade utilizada extração líquido-líquido - Método Soares & Rodriguez-Amaya (1989) está detalhada na tabela 7.

Tabela 7 – Quantidade de reagentes/solventes utilizados por amostra.

Reagentes/Solventes	Quantidade por amostra (mL)
Celite p.a.	50
Cloreto de potássio p.a.	30
Clorofórmio p.a.	20
Metanol p.a.	270
Sulfato de Cobre II p.a.	150
Total:	520 mL

Fonte: Elaborada pela autora.

Na tabela 8 consta a quantia de reagentes/solventes essenciais na extração QuEChERS.

Tabela 8 – Quantidade de reagentes / solventes utilizados.

Reagentes/Solventes	Quantidade por amostra
Acetonitrila p.a.	10 mL
Kit Sais de QuEChERS (6,0 g de sulfato de magnésio p.a. e 1,5 g de acetato de sódio p.a.)	7,5 g
Total:	7,5 g/10 mL

Fonte: Elaborada pela autora.

DISCUSSÃO

Foi possível identificar através da relação de custos entre as duas metodologias de extração, que a extração líquido-líquido demanda uma quantidade consideravelmente elevada no total de materiais para a realização da técnica, o que resultou num valor 15,3% maior que a extração pelo método QuEChERS. Apresentando um custo total de R\$ 65,08 para líquido-líquido (Tabela 1) e R\$ 51,65 no método QuEChERS (Tabela 3) por amostra.

Considerando o custo de mão de obra especializada para a realização dessa atividade, o método QuEChERS apresentou um melhor resultado ao necessitar de um menor tempo para a execução da extração. Ou seja, menor custo devido ao menor tempo empregado durante o processo.

Embora a análise de custos relacionados aos equipamentos no método QuEChERS tenha apresentado um valor maior quando comparado a outra extração, essa diferença é compensada pela relação custo-benefício. O custo total investido em equipamentos e vidrarias para a realização da extração líquido-líquido é de R\$ 8.571,80 (Tabela 2) e na metodologia QuEChERS apresentou um total de R\$ 8.231,35 (Tabela 4).

Levando em conta que o investimento com equipamentos é necessário apenas uma vez, e que posterior a aquisição, o custo envolvido é de manutenção do mesmo. O que ocasionou o aumento foi o equipamento incomum as técnicas, a centrífuga refrigerada, porém ao observar o processo da extração QuEChERS (Tabela 6) percebe-se que a metodologia foi realizada de forma mais célere que a metodologia tradicional (Tabela 5), evidenciando o custo-benefício.

O método QuEChERS é mais rápido e necessita de menores quantidades de vidrarias e reagentes sendo viável a extração de várias amostras (em torno de seis) ao mesmo tempo, já no método líquido-líquido, ao necessitar de maior quantidade de materiais e insumos, impossibilita a realização de muitas extrações simultâneas (máximo duas amostras) por ocupar muito espaço na capela, resultando na limitação das quantidades de extrações.

De igual forma, os autores Rosa e Garda (2013) concluíram que a extração por sais de QuEChERS juntamente com métodos cromatográficos mais recentes, como cromatografia líquida são mais eficientes na quantificação de micotoxinas em alimentos, o custo do kit QuEChERS dilui-se pelo quesito eficiência na recuperação e diminuição da quantidade de solventes empregados para sua análise em rotina de laboratório.

Incontestavelmente o número de reagentes/solventes utilizados na extração líquido-líquido de Soares & Rodriguez-Amaya (1989) é muito superior que a quantidade de insumos usados no método QuEChERS, isso ocasiona o acúmulo de resíduos pós procedimento, gerando resíduos excedentes para descarte no laboratório (cerca de 520 mL na extração líquido-líquido e 7,5 g/ 10 mL na extração QuEChERS por amostra). Essa prática acaba sendo prejudicial para o meio ambiente até o ambiente interno laboratorial e a exposição humana pode gerar diversos efeitos hepatotóxicos desfavoráveis à saúde do trabalhador.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, o método de extração QuEChERS foi escolhido por ser rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro. (ANASTASSIADES et al., 2003). Já a identificação por Cromatografia em Camada Delgada, por ser simples, de rápida execução e não necessitar de equipamentos de alto custo.

A técnica de CCD aplicada no presente estudo, após as extrações, forneceu apenas um indicativo da presença ou ausência das aflatoxinas pesquisadas nas amostras, sem, no entanto quantificá-las com precisão em concentrações menores que $0,05 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (foram usadas concentrações das quatro aflatoxinas (B1, G1, B2, G2) na ordem de $0,05 \mu\text{L.mL}^{-1}$; $0,1 \mu\text{L.mL}^{-1}$; $0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$) para fortificação e posterior cálculo de recuperação para avaliar se poderia ser implantado o método de extração de QuEChERS seguida de CCD na rotina analítica. Porém, a média de recuperações das oito amostras de açúcar mascavo pesquisadas foi de 40%, de acordo com Brito et al., 2003, a recuperação deve ser na faixa de 60 % à 120 %.

O crescente desenvolvimento na química analítica tem propiciado popularização de técnicas relativamente novas e a evolução e readequação de outras já fundamentadas. O resultado baixo da recuperação é decorrente de uma técnica clássica de separação e análise qualitativa e semi-quantitativa por simples visualização comparativa de concentrações baixas ($0,05 \mu\text{L.mL}^{-1}$; $0,1 \mu\text{L.mL}^{-1}$; $0,2 \mu\text{L.mL}^{-1}$).

Com base neste resultado e evidenciando que possa haver susceptibilidade a falsos positivos, esta rotina de trabalho deverá ser direcionada a análises de triagem com utilização, principalmente, de cromatografia líquida hifenada com espectrometria de massas /massas (LC-MS/MS) como técnica de escolha em análises de confirmação.

Este possibilita isolar e identificar fragmentos formados a partir da quebra de íons precursores aumentando sensivelmente a capacidade de determinar de forma inequívoca a presença destas toxinas.

Contudo, o futuro deverá estar no uso da utilização de LC-MS/MS com análises na faixa de ng.L^{-1} , sendo possível analisar multi-resíduos que dispensam limpeza e ou pré-concentração da amostra que é o caso da extração de QuEChERS.

Como o objetivo principal deste trabalho era avaliar o custo-benefício das metodologias de extração, ficou demonstrado que a extração destas micotoxinas por partição líquido-líquido, que vem sendo rotineiramente aplicada, utiliza uma quantidade de solventes/reagentes aproximadamente 8 vezes maior que a de QuEChERS. Com este último é possível analisar até 6 amostras num período de 30 minutos, contra 6 amostras em 3 horas e 15 minutos no sistema convencional, reduzindo o tempo de exposição do analista aos solventes, além de gerar menor volume de resíduos para descarte, assim como menor custo destes para aquisição.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA /ANVISA. **Resolução nº 7 de 18 de fevereiro de 2011**. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html>. Acesso em: 15 maio 2018.
- ALBANO, Filipe de Medeiros; RAYA-RODRIGUEZ, Maria Teresa. **Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais**. 2. ed. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2015.
- ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, [S.l.], v. 86, n. 2, p. 412-431, mar./abr. 2003.
- BETTANI, Silvia Raquel et al. Avaliação físico-química e sensorial de açúcares orgânicos e convencionais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 16, n. 2, p. 155-163, 2014.
- COLLINS, Carol H.; BRAGA Gilberto L.; BONATO, Pierina S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 5. ed. Campinas: Revista e Ampliada da Unicamp, 1993.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Projetos: tecnologias para o sistema de produção de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul**. Brasília, DF 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-projetos/-/projeto/203209/tecnologias-para-o-sistema-de-producao-de-cana-de-acucar-no-rio-grande-do-sul>>. Acesso em: 14 maio 2018.
- FRANCO, Bernadette D. Gombossy de Melo; LANDGRAF Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.
- MAZIERO, Maíke Taís; BERSOT, Luciano dos Santos. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande v. 12, n. 1, p. 89-99, 2010.
- PARAZZI, C. et al. Análises microbiológicas do açúcar mascavo. **Bioscience Journal**, v.25, n.3, p. 32-40, 2009.
- ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. Laboratório Central do Estado- LACEN/RS. POP/CON 043 - Revisão 08 - **Metodologia de Análise para determinação, quantificação e confirmação de Micotoxinas por Cromatografia em Camada Delgada** - LACEN/CEVS/SES/RS, Porto Alegre, 2018.
- ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. Laboratório Central do Estado- LACEN/RS. POP/CON 056 - Revisão 00 - **Técnica de Extração QuEChERS para Aflatoxinas em Alimentos** - LACEN/CEVS/SES/RS. Porto Alegre, 2018.

ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL. Laboratório Central do Estado- LACEN/RS. POP/RECEP 001- Revisão 04 - **Fluxo de Amostras na Recepção de Amostras de Produtos das Seções /Laboratórios de Análise de Produtos** - LACEN/CEVS/SES/RS. Porto Alegre, 2018.

PRESTES, Osmar D. et al. QuEChERS – Um método moderno de preparo de amostra para determinação multiresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 1620-1634, 2009.

ROSA, S. E., GARDA, B. J. Comparação entre diferentes técnicas de extração para a determinação de tricotecenos em amostras de trigo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 53, 2013, Rio de Janeiro. **Anais eletrônicos...** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Química, 2013.

SOARES L.M., Rodriguez-Amaya D.B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, Zearalenone, and sterigmatocystin in some brasilian foods by using multi – toxin thinlayer chromatographic method. **Journal of the Association Official Analytical Chemists**, n. 72: p.22-26,1989.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e micotoxicoses na avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2000.

SPECIAN, Vânia et al. Secondary Metabolites Produced by Endophytic Fungi of Pharmaceutical Interest. **Científica: ciências biológicas e da saúde**, Maringá, v. 16, n. 4, p. 345-351, 2014.

VERÍSSIMO, Mario Alvaro Aloisio et al. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos precoces de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 47, n. 4, p. 561-568, abr. 2012.

YU, Jiujiang. Current. Understanding on Aflatoxin Biosynthesis and Future Perspective in Reducing Aflatoxin Contamination. **Toxins**, China, v. 4, n. 12, p. 1024-1057, out. 2012.