



Detecção de Ocratoxina A em amostras de café através da espectroscopia SEF

Lais L. Brinati^{1*}(G), Gabriela P. Oliveira¹(PG), Linus Pauling F. Peixoto¹(PG), Mariana Ramos de Almeida²(PQ), Gustavo F. S. Andrade¹(PQ)

¹LabNano, NEEM, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

²GQQATE, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

brinatilais@gmail.com*

RESUMO

O estudo apresenta o uso da espectroscopia de fluorescência intensificada por superfície (SEF) como método para detectar Ocratoxina A (OTA) em amostras de café. A OTA é uma micotoxina tóxica com potencial cancerígeno, frequentemente encontrada em alimentos. Foram utilizadas nanopartículas de prata (AgNP) para amplificar o sinal de fluorescência da OTA, permitindo sua detecção em baixas concentrações. Os resultados mostraram que a adição de AgNP aumentou significativamente a intensidade do sinal de fluorescência, com fator de intensificação de 2,83, indicando o potencial da técnica SEF como alternativa eficaz, rápida e sensível frente aos métodos convencionais.

Palavras-chave: Ocratoxina A; Café; Espectroscopia SEF; OTA; Fluorescência

Introdução

As micotoxinas se tratam de metabólitos tóxicos que vêm sendo detectados em um vasto número de alimentos, como, feijão, café verde e torrado, milho, entre outros. A ocratoxina A (OTA, estrutura apresentada na Figura 1) pertence a uma família de ocratoxinas - A, B e C - sendo a variação A a mais tóxica, responsável por doenças renais, hepáticas e cerebrais [1].

A presença de OTA em variedades de alimentos e sua toxicidade destaca a importância do estudo de técnicas para sua detecção rápida e sensível, a fim de garantir uma maior segurança alimentar. Algumas das técnicas mais utilizadas para detecção incluem cromatografia líquida de alta performance (HPLC), cromatografia gasosa (CG) e ensaios de imunoadsorção enzimática (ELISA). No entanto, essas técnicas possuem limitações, como a necessidade de equipamentos de alto custo, profissionais especializados e o longo tempo para preparo das amostras. Visto que a OTA possui característica fluorescente [2], a espectroscopia de fluorescência se mostra uma técnica promissora por demandar tempo reduzido no preparo das amostras, além de ser uma técnica simples e rápida. A intensificação de fluorescência próxima à nanoestruturas metálicas foi observada na década de 1960 por Drexhage (3). Esse fenômeno se tornou conhecido como fluorescência intensificada por superfície (SEF) ou superfície intensificada por metal (MEF). A intensificação SEF pode variar entre 10 a 100 vezes, que pode ser explicado pela intensificação do campo eletromagnético próximo à superfície metálica causado pela ressonância de plasmon de superfície localizada [4].

$9,0 \times 10^{-3}$ % m/V de AgNO_3 em um balão de fundo redondo. Em seguida, essa solução será levada ao aquecimento sob refluxo até ebulição; nesse momento, foi adicionado 1,0 mL de uma solução aquosa de citrato de sódio 1,0 % m/V. O aquecimento foi mantido por 60 min. A caracterização das AgNP foi feita utilizando o Espectrômetro Ocean Optics USB2000 +XR1-ES, com faixa espectral de 200 a 1100 nm. As AgNP apresentaram a banda LSPR em 406 nm.

Preparo e dissolução da OTA

Para preparo das concentrações utilizadas nos testes, foi utilizada uma solução estoque na concentração de 5000 ng/mL, a partir dela foram obtidas as concentrações de interesse para o estudo, conforme o esquema de preparo apresentado na Figura 1. A OTA apresenta $\text{pK}_{a,1} = 4,4$ e $\text{pK}_{a,2} = 7,3$; em pH abaixo de 4, a forma protonada da OTA predomina, enquanto a forma aniônica predomina em meio aquoso básico [2]. Por esse motivo as soluções foram preparadas em meio tamponado com pH= 9.



Experimental

Preparo de AgNP [4]

Para a síntese foram adicionados 50,0 mL de uma solução aquosa

Figura 1. Esquema de dissolução das amostras de OTA.



Caracterização da OTA por meio SEF

Para realizar as medidas de fluorescência e SEF foi utilizado o espectrofluorímetro Horiba FluoroMax Plus. As amostras foram excitadas em 330 nm, com região de emissão de 360 nm a 600 nm e Slit Bandpass de 3.00 nm.

Resultados e Discussão

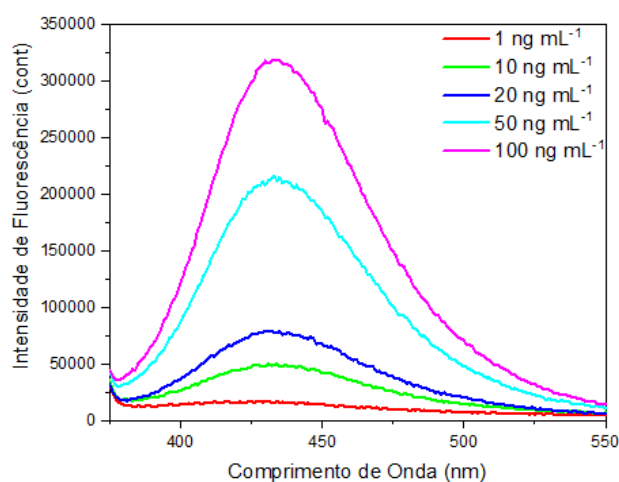


Figura 2 . Espectro de fluorescência para diferentes concentrações de OTA.

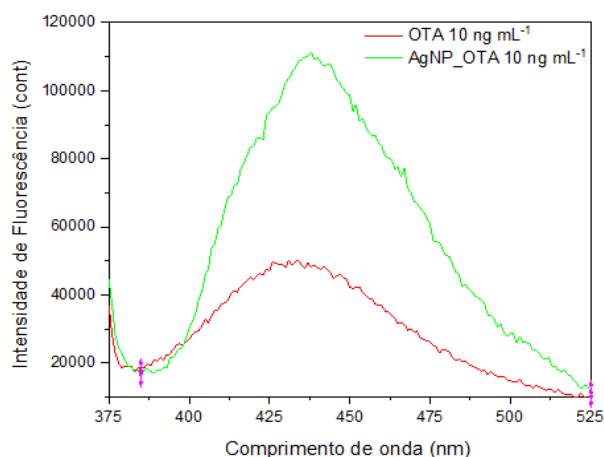


Figura 3. Espectro SEF comparando a intensificação da fluorescência com adição de AgNP.

Ao analisar a Figura 2 é possível notar que conforme a concentração da OTA é reduzida seu sinal de fluorescência também diminui; é interessante notar que a detecção do sinal de OTA até 10 ng mL⁻¹ com bastante clareza. A fim de avaliar se a técnica SEF pode ser útil para a detecção em menores concentrações, o espectro de fluorescência de 10 ng mL⁻¹ de OTA na presença de AgNP foi obtido; a comparação entre os espectros da OTA nas duas condições é apresentada na Figura 3.

Pode ser verificado na Figura 3 que a intensidade de fluorescência de 10 ng mL⁻¹ de OTA 10 após a adição das AgNP aumentou consideravelmente. O cálculo do fator de intensificação [4], que resultou no valor de 2,83, evidenciando o aumento da intensidade promovido pelas AgNP. Essa intensificação poderá permitir a detecção de menores concentrações de OTA.

Conclusões

A técnica de SEF se mostrou promissora na detecção da (OTA). A intensificação do sinal de fluorescência foi observada com a adição de AgNP, confirmando a capacidade de potencializar a emissão da fluorescência por meio da interação entre os campos eletromagnéticos localizados na superfície das nanopartículas e a OTA. Essa intensificação permite a visualização do sinal mesmo em concentrações reduzidas. Assim, é possível visualizar o potencial da técnica SEF como uma técnica analítica eficaz frente aos métodos convencionais utilizados para detectar a OTA.

Agradecimentos



Referências

1. alhamoud, y.; yang, d.; fiati kenston, s. s.; liu, g.; liu, l.; zhou, h.; ahmed, f.; zhao, j. advances in biosensors for the detection of ochratoxin A: bio-receptors, nanomaterials, and their applications. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 141, p. 1-20, 2019.
2. gonzalez, a. l.; lozano, v. a.; escandar, g. m.; bravo, m. a. determination of ochratoxin A in coffee and tea samples by coupling second-order multivariate calibration and fluorescence spectroscopy. *Talanta*, v. 219, p. 1-8, 2020.
3. drexhage, k. h. influence of a dielectric interface on fluorescence decay time. *Journal of Luminescence*, v. 1-2, p. 693-701, 1970.
4. aroca, r. f. plasmon enhanced spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics*, v. 15, n. 15, p. 5355-5363, 2013.
5. girigoswami, k.; akhtar, n. nanobiosensors and fluorescence based biosensors: an overview. *Int. J. Nano Dimens*, v. 10, p. 1-17, 2019.
6. lee, p. c.; meisel, d. adsorption and surface-enhanced raman of dyes on silver and gold sols. *Journal of Physical Chemistry*, v. 94, p. 1096-1100, 1990.