

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0800559-1 A2**



* B R P I 0 8 0 0 5 5 9 A 2 *

(22) Data de Depósito: 29/02/2008
(43) Data da Publicação: 28/12/2010
(RPI 2086)

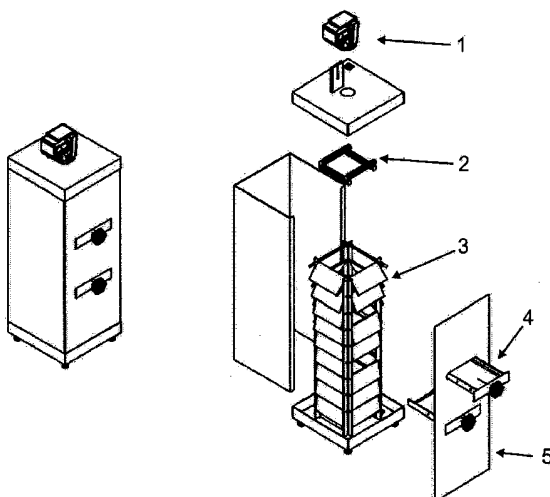
(51) *Int.Cl.:*
G01N 21/01
G01N 21/64
G01N 30/90

(54) Título: **APARELHO E MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE TOXINAS**

(73) Titular(es): Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

(72) Inventor(es): Horacio Alberto Dottori, Isa Beatriz Noll

(57) **Resumo:** APARELHO E MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE TOXINAS A presente invenção proporciona um aparelho que permite medir a fluorescência de micotoxinas separadas pelo método de cromatografia por camada delgada (CCD). Particularmente, o aparelho também permite ajustar esta precisão a outros valores de acordo as circunstâncias e as necessidades. Em especial o referido aparelho proporciona uma análise com maior precisão das placas de CCD, armazenando dados sobre fluorescência de micotoxinas que degradam com o tempo, podendo ser aplicado em diversas áreas tais como controle de processos industriais de elaboração de alimentos e produtos derivados e, adicionalmente, na avaliação de teores que se adaptem à legislação de países importadores.





Relatório Descritivo de Patente de Invenção

APARELHO E MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE TOXINAS

Campo da Invenção

5 A presente invenção consiste em um aparelho que permite medir a fluorescência de micotoxinas separadas pelo método de cromatografia por camada delgada (CCD), para uso em controle de processos industriais de elaboração de alimentos, produtos derivados e, adicionalmente, na avaliação de teores que se adaptem à legislação de países importadores. O método
10 utilizado é o de fotometria fotográfica com detector digital de carga acoplada (DCA). Particularmente, o referido aparelho é capaz de produzir uma superfície iluminada com uma uniformidade de 1%. O aparelho também permite ajustar esta precisão a outros valores de acordo as circunstâncias e as necessidades.

Antecedentes da Invenção

15 Micotoxinas são metabólitos secundários de fungos, prejudiciais à saúde do homem e/ou animais. Elas podem ser produzidas em diferentes tipos de alimentos, antes ou depois da colheita. Os principais **fungos de campo** estão representados por espécies dos gêneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* e
20 os **fungos de armazenamento** por espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. As espécies dos gêneros *Aspergillus* (mais de 20 espécies) produzem Aflatoxinas, Ocratoxinas, Patulina, etc. As do gênero *Penicillium* (pelo menos 16 espécies) produzem Ocratoxinas, Citrinina, etc. e o gênero *Fusarium* (pelo menos 9 espécies) produz Zearalenona, Fumonisinias,
25 Tricotecenos, etc.

Muitos são os fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e também a produção das micotoxinas. Entre os fatores intrínsecos, pode-se citar linhagem do fungo, pH, atividade de água e a composição do substrato. Além destes, os fatores extrínsecos, tais como umidade e umidade relativa,
30 temperatura e danos mecânicos tem alto significado na contaminação fúngica e por micotoxinas.

Apenas alguns destes fungos são regularmente pesquisados em alimentos e rações animais. Eles diferem entre si quanto à estrutura química e quanto à sua atividade. A ação toxicológica pode ser de caráter agudo ou crônico e ainda ser carcinogênica, teratogênica (má formação do feto) ou mutagênica, podendo também atingir o sistema imunológico.

As micotoxinas são relevantes do ponto de vista toxicológico e muitos são os estudos relacionados. O estabelecimento de limites pelas legislações de diversos países pode representar barreiras econômicas para os países exportadores. A Ocratoxina A e a Patulina são exemplos atuais, envolvendo a exportação do café e de suco de maçã, respectivamente.

A seguir serão citados os efeitos tóxicos das principais micotoxinas:

Ocratoxina A (OTA): produzida por *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus carbonarius*.

A ocratoxina A é um metabólito secundário freqüentemente encontrado como contaminante em alimentos e ração animal. Mais recentemente, foram descritos evidências de uma possível correlação entre ocratoxina A e desenvolvimento de tumores do trato urinário de seres humanos na Bulgária.

- Sintomatologia em galinhas: retardo da maturação sexual e diminuição da produção de ovos.
- Sintomatologia em suínos e cães: acúmulo de gordura no fígado e sérios danos renais.
- Sintomatologia em humanos: redução das funções renais, retenção de sódio e hipertensão (por associação).

Diferente das Aflatoxinas, a Ocratoxina A não fica acumulada no organismo. OTA pode ter atividade carcinogênica, mutagênica, teratogênica, nefrotóxica e imunotóxica.

Fumonisinas: produzidas por *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*.

- Induzem lesão cerebral em eqüinos (LEME), edema pulmonar em suínos, imunodepressão em aves, nefrose em ovinos, trombose

cardíaca em babuínos, toxicose em peixes, carcinogenicidade hepática em ratos e camundongos.

- Em humanos, o câncer de esôfago vem sendo associado à ingestão freqüente de produtos derivados de milho contaminados com fumonisinas.

Aflatoxinas: produzidas por *Aspergillus flavus* (B1 e B2), *A. parasiticus* (B1, B2, G1 e G2) e *A. nomius* (B1, B2, G1 e G2).

Existem vários tipos de aflatoxinas, sendo que todas estas substâncias são altamente tóxicas por inalação, ingestão e contato com pele e olhos, e todas elas têm um alto poder cancerígeno. No entanto, existe uma que se destaca de todas as outras: a aflatoxina B1, esta é considerada uma das moléculas químicas conhecidas, mais cancerígenas se não a mais cancerígena.

Pode provocar aflatoxicose aguda em animais □ inapetência, apatia, distúrbios nervosos, alta mortalidade em animais jovens.

- Sintomatologia em animais: redução de crescimento e perda de peso, entre outros.

Também pode levar a aflatoxicose crônica □ neoplasmas de rim, pulmão e intestino, hepatocarcinoma.

Adicionalmente, tem relação com carcinogênese em animais e humanos. As aflatoxinas são consideradas carcinogênicas para humanos (Grupo I) de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC)

- Sintomatologia em humanos: falha do fígado devido à destruição de células, hemorragias e alterações de funções nervosas.

Patulina: produzida por *P. expansum*, *A. clavatus* e *Byssochlamys nivea*.

- Resultados de estudos toxicológicos avaliados pelo Food and Drug Administration (FDA-USA) demonstraram que repetidas administrações de doses orais de patulina, em torno de 1,5 mg/Kg de peso corpóreo, causaram a morte prematura em ratos.

A toxicidade foi avaliada em 1990 e revisada em 1995 pelo *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA). Baseado em resultados experimentais

foi concluído que a patulina é genotóxica, mas não há evidências para a carcinogenicidade em animais de experiência.

A patulina tem se tornado um indicador de qualidade de frutas usadas para a produção de sucos de maçã. A cuidadosa seleção, lavagem e
5 classificação das frutas é o fator mais importante na redução da contaminação de micotoxinas durante a produção.

Em vista da crescente produção de maçã no Brasil, principalmente dos cultivares Gala e Fuji, aliada à contribuição da Região Sul, que produz cerca de 90% da fruta, a avaliação sobre a contaminação com patulina nos frutos
10 comercializados torna-se um fator importante para garantir o fornecimento de frutos de qualidade à população e, principalmente, produtos derivados de qualidade, lembrando que para os sucos são utilizados frutos em estado adiantado de deterioração.

Muitos fatores biológicos contribuem para a ocorrência de micotoxinas
15 na cadeia alimentar, com ênfase a susceptibilidade dos vegetais à infecção fúngica, assim como fatores ambientais constituídos de temperatura, umidade e danos mecânicos durante colheita e estocagem. Somam-se ainda os problemas oriundos de avanço tecnológico, que visando à comercialização internacional, estocam os frutos nos períodos de entressafras sob condições
20 que permitem o desenvolvimento de fungos psicotróficos, representados por *Penicillium* spp.

Por outro lado, na Astronomia, o conhecimento adquirido vem da análise da luz emitida pelos astros. Todo o conhecimento adquirido ao longo de milênios foi sendo aperfeiçoado pela sofisticação dos métodos de detecção e
25 análise da radiação eletromagnética. Uma grande evolução se conseguiu com a invenção da chapa fotográfica por Daguerre, que foi imediatamente introduzida na Astronomia. Ela produziu mudanças fantásticas, das quais a mais importante foi, provavelmente, a descoberta da expansão do Universo por parte de Hubble & Humanson entre 1920 a 1930. Um avanço posterior veio nos
30 anos 70-80 com a introdução dos detectores de carga acoplada, com sensibilidade (eficiência quântica) 5 a 10 vezes maior que a das chapas

fotográficas somado a outras duas propriedades fundamentais que eles apresentam: a) a linearidade e b) o fato de serem digitais, tanto na quantificação do estímulo (contagem de número de fótons), quanto na uniformidade espacial da sua resposta (estrutura de arranjo uni o bi-dimensional de pixels). Estes detectores são hoje amplamente usados em

5
10 O condicionamento básico imposto pelo cosmos é que o astrônomo não pode modificar as condições das fontes a serem estudadas. Esta diferença é marcante com as experiências de laboratório da Física, da Química e outras ciências onde as condições do objeto de estudo podem ser modificadas. Uma observação astronômica requer condições de maior eficiência dos instrumentos de medida, menor brilho e maior uniformidade do fundo do céu em torno dos objetos a serem estudados. Esta idéia norteou o desenvolvimento da invenção aqui apresentada.

15 Tradicionalmente, micotoxinas são analisadas por cromatografia por camada delgada (CCD), sendo a determinação considerada semiquantitativa, mas aceita internacionalmente. A visualização por luz UV e a quantificação por comparação com quantidades conhecidas do padrão era efetuada a olho nu, sendo fundamental o treinamento do pesquisador ou do técnico do laboratório.

20 Por outro lado, a inspeção a olho nu das micotoxinas separadas por cromatografia de camada delgada apresenta as seguintes deficiências:

- 1- A análise ocular por comparação de amostras com padrões é semiquantitativa.
- 2- O olho humano, quando visto como detector, não apresenta
- 25 comportamento linear, mas logarítmico. Ele consegue, porém, fazer avaliações comparativas razoáveis.
- 3- As micotoxinas, em placas CCD, sofrem uma degradação temporal, não permitindo seu arquivamento para visualização/medição posterior nas mesmas condições, comparação com outras amostras, apresentação
- 30 em colóquios e seminários nem a análise e discussão por parte de outros pesquisadores e interessados em geral, etc.

4- O olho humano tende a detectar com maior facilidade contrastes de brilho do que valores absolutos dos mesmos. Assim sendo, a qualidade descrita no ponto 2, vê-se afetada se as condições de iluminação das amostras e padrões em estudo não tem um fundo uniformemente iluminado (padrões e amostras colocados sob fundos com brilhos diferentes), e se esta iluminação for excessiva (o olho fica ofuscado ou saturado) ou finalmente houver iluminação espúria, proveniente de reflexos laterais indesejados.

10 Sendo assim, a presente invenção visa proporcionar um aparelho que permite medir a fluorescência de micotoxinas separadas pelo método de cromatografia por camada delgada (CCD), inspirada em conhecimentos astronômicos para o melhoramento das condições de análise dos objetos estudados. O referido aparelho pode ser aplicado no controle de processos industriais de elaboração de alimentos e produtos derivados e, adicionalmente, na avaliação de teores que se adaptem à legislação de países importadores. Além disso, o aparelho apresenta ainda a vantagem de ter custos mais baratos quando comparados aos custos de manutenção de métodos alternativos de análise tais como, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, Cromatografia Gasosa e Eletroforese Capilar. Em especial outra vantagem deste aparelho é o registro fotográfico para arquivo e estudos posteriores existindo ainda a perspectiva de utilizar o equipamento também para a análise de Fumonisina.

25 Vale ressaltar que a fotografia digital foi utilizada pelos autores Zhang & Xinggang (2006, *Journal of Chromatography*) com um dispositivo clássico de detecção visual, cujo principal problema é a não uniformidade da iluminação das amostras. Com efeito, estes autores reportam uma não uniformidade da ordem de 50% no gradiente de luz das suas fotografias. Estes autores propõem uma solução baseada em equalização do fundo (*background*) das fotografias das placas cromatográficas através de *softwares*. Entretanto, essa sugestão não resolve o problema da iluminação desigual do campo da placa, que pode afetar a própria fluorescência dos padrões e das amostras.

Na literatura patentária foram encontrados alguns documentos que circunscrevem o tema. O documento PI 0211116-0 revela um ensaio homogêneo e kit de ensaio para a determinação de aflatoxinas em produtos agrícolas. O referido ensaio determina o teor de aflatoxina usando a técnica de polarização de fluorescência na qual um solvente é usado para extrair aflatoxinas de uma amostra do produto agrícola. Em seguida, uma mistura é preparada combinando-se o extrato com um rastreador e com um anticorpo monoclonal específico para aflatoxina. O rastreador liga-se ao anticorpo monoclonal para produzir uma mudança detectável na polarização de fluorescência. O referido rastreador é preparado conjugando-se uma oxima de aflatoxina a um fluoroforo adequado a polarização de fluorescência. A medida da concentração de aflatoxina da mistura pode ser calculada usando uma curva padrão obtida medindo se a polarização de fluorescência de uma série de soluções de aflatoxina de concentração conhecida.

O documento PI 9106888-6 refere-se a uma correlação entre aglutinação de aflatoxinas B1 sobre argilas cruas de montmorilonita. Adicionalmente, trata da razão entre acidez superficial e porosidade para locais de acidez superficial cujos valores de pKa estejam na faixa de 5,0 a 6,8 e porosidade para poros cujos diâmetros estejam na região de 50 a 600 Å. Esta informação propicia um método para pré-selecionar aditivos de argila para rações animais que possuam capacidade mais elevada de aglutinação de toxinas.

O documento PI 0207398-6 refere-se a microorganismos para a inativação biológica de micotoxinas tais como ocratoxinas e zearalenons, dos produtos alimentícios e rações. O microorganismo para a inativação, em particular, de ocratoxinas é selecionado do grupo que compreende bactérias e/ou leveduras, o qual cliva o grupo de fenilalanina das micotoxinas.

O documento US 6,248,382 trata de um processo para a redução de patulina em sucos de frutas. O processo consiste em passar o suco por um material contendo resina apresentando microporos de menos do que 20 Å. Durante a passagem do suco pelos poros a patulina fica retida na superfície

devido a forças de quimisorção. A resina pode ser regenerada posteriormente através da passagem de uma solução com elevado pH.

O documento EP 1,787,698 A1 refere-se a uma coluna de análise com afinidade para aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxinas e zearalenons. A coluna contém pelo menos uma unidade de resina tendo afinidade específica para ocratoxinas e, além disso, a coluna contém cerca de 0,95 a 1,05 unidades de resina ligadas a anticorpos com especificidade para zearalenons. Cerca de 1,9 a 2,1 unidades de resina com anticorpos para aflatoxinas e de 2,8 a 3,2 unidades com anticorpos para fumonisinas. A remoção das toxinas se dá pela passagem da amostra pela coluna e pela fixação das micotoxinas aos seus respectivos anticorpos.

O documento PI 0102504-0 trata de composições e métodos para a remoção de micotoxinas de ração animal. As composições visam reduzir ou melhorar a adsorção de uma variedade de micotoxinas em rações animais, melhorando, desta forma, a qualidade nutricional das rações e a subsequente saúde e performance dos animais que a consomem. Basicamente são compostas de uma combinação de um extrato de parede celular de levedura modificada e uma argila mineral, sendo que, esta combinação tem um efeito aditivo fixador/adsorvente para reduzir a contaminação de micotoxinas em rações animais, administrada para estes em quantidades suficientes para desativar as micotoxinas presentes nestas rações. A mistura de parede celular da levedura - extrato/argila pode ser misturada com as rações, incorporadas diretamente nas rações peletizadas ou administradas diretamente aos animais.

O documento PI 9813185-0 refere-se a um processo para remoção das micotoxinas a partir de um carregamento de café verde. Introduce-se café verde em um recipiente onde é submetido a uma mistura contínua nas condições de temperatura variando entre a temperatura ambiente e valores próximos de 120°C. Vapor d'água é introduzido no referido recipiente até que os grãos de café simples tenham se tornado porosos e permeáveis de modo que as micotoxinas possam ser removidas por extração com um solvente em um ambiente ácido.

O documento PI 9509399-0 trata de um condicionador de ração para a inativação de micotoxinas. O processo se resume a uma preparação de enzimas obtidas a partir de organismos produtores de enzimas dos grupos de plantas, bactérias, leveduras ou protozoários em uma dosagem de 0,1 até 3 kg/1000 kg de ração. Adicionalmente, os organismos produtores de enzimas são selecionados dentre os grupos que possam formar epoxidases e/ou lactonases.

Do que se depreende do estado da técnica encontrado, as soluções apresentadas para o problema em questão foram baseadas no uso de métodos de inibição/inativação e remoção total ou parcial de micotoxinas. Entretanto, o presente invento difere destes documentos por quantificar micotoxinas a partir do uso de um aparelho inovador inspirado em conhecimentos astronômicos de modo a melhorar as condições de análise.

A literatura patentária analisada não antecipa nem sugere, ainda que indiretamente, qualquer dos objetos da presente invenção.

Objetivos da Invenção

É um objetivo da presente invenção proporcionar um aparelho que permite medir a fluorescência de micotoxinas separadas pelo método de cromatografia por camada delgada (CCD).

Em especial, o método utilizado para determinação das micotoxinas é o de fotometria fotográfica com detector digital de carga acoplada (DCA).

Em um aspecto, sendo, portanto, outro objeto da presente invenção, é proporcionado um aparelho para determinação de micotoxinas capaz de produzir uma iluminação tecnicamente mais próxima da ideal na área onde são posicionadas as placas de CCD.

É um outro objetivo da presente invenção, proporcionar um aparelho que produza uma iluminação uniforme, neste caso, estabelecida num contraste centro-borda da ordem de 1%.

Adicionalmente, as micotoxinas identificáveis pelo aparelho objeto da presente invenção, podem ser escolhidas, não se limitando apenas ao do

grupo que compreende Patulina, Aflatoxina B1, Ocratoxina A, Fumosina e quaisquer outras que produzam fluorescência quando submetidas à luz UV.

Em um outro aspecto da presente invenção é proporcionado um aparelho que permite a determinação de micotoxinas para uso em controle de processos industriais de elaboração de alimentos, produtos derivados e, adicionalmente, na avaliação de teores que se adaptem à legislação de países importadores.

Estes e outros objetos da presente invenção ficarão mais evidentes a partir da descrição detalhada da invenção, que permitirá, com o auxílio das Figuras, um melhor entendimento.

Breve Descrição das Figuras

Figura 1 – Mostra uma visão explodida do aparelho, na qual se observa a câmera fotográfica (1), a fonte de luz (2) com 4 (quatro) lâmpadas, a torre (3) com 4 (quatro) faces, as bandejas (4) e o gabinete externo (5).

Figura 2 – Mostra uma visão lateral do aparelho montado, deixando clara a posição de cada uma das partes que compõem o referido aparelho.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção será exposta a seguir em detalhes. O exemplo descrito a seguir é uma mera concretização preferencial da invenção, não devendo ser compreendido como limitante de invenção. Variações ou concretizações similares devem ser consideradas como dentro do escopo da invenção.

A presente invenção refere-se a um fotômetro para quantificar a fluorescência de micotoxinas separadas por Cromatografia de Camada Delgada (CCD). O método utilizado é o de fotometria fotográfica com câmera digital com detector de carga acoplada (*charged coupled device*). A principal característica do aparelho é a de produzir uma superfície iluminada com uma uniformidade da ordem de 1%, cujos detalhes serão revelados no Exemplo 1,

que pode ser ajustada a outros valores de acordo às circunstâncias e as necessidades.

As placas de CCD das amostras e dos padrões de micotoxinas são uniformemente expostas à radiação ultravioleta de comprimento de onda longo, aproximadamente, 365 nm. A fluorescência da micotoxina é fotografada com a
5 câmera digital (2), e posteriormente a fotografia é analisada para sua quantificação com software específico. O aparelho foi desenvolvido sob a filosofia que norteia o estudo de fontes luminosas cósmicas muito fracas em Astronomia, onde é necessário extrair o máximo de informação, sem poder agir
10 na própria fonte, mas podendo modificar as condições da observação, como as condições da uniformidade da iluminação do céu, a qualidade dos aparelhos de medida, etc.

Amostra

Amostras adequadas na presente invenção incluem placas de CCD
15 contendo toxinas, em especial micotoxinas, e mais especificamente as micotoxinas Patulina, Aflatoxina B1, Ocratoxina A e Fumonisina. Vale ressaltar que não somente toxinas podem ser quantificadas pelo método da presente invenção, mas sim qualquer substância passível de separação através de CCD e que emita luz quando irradiada com luz UV.

20 Aparelho Detector

O aparelho da presente invenção é composto de:

a) Dispositivo registrador de imagem (1) – Dispositivos úteis na presente invenção incluem, mas não se limitam a câmeras fotográficas, preferencialmente câmeras fotográficas digitais, câmeras filmadoras, entre
25 outras. O dispositivo registrador de imagem é posicionado no eixo perpendicular à amostra

b) Fonte de luz UV (2) – a fonte de luz UV é composta por lâmpadas capazes de emitir feixes de luz no comprimento correspondente ao ultravioleta. Ela pode ter qualquer formato, podendo ser cilíndrica, ou esférica. Mais de uma
30 lâmpada pode ser utilizada, e sua disposição deve ser simétrica ao eixo

perpendicular à amostra. Preferencialmente são utilizadas 4 lâmpadas cilíndricas com 15 cm de comprimento.

5 c) Torre (3) – a torre compreende uma pluralidade de venezianas que tem a finalidade de eliminar a luz espúria. Essas venezianas podem ter sua inclinação regulada e tal inclinação varia numa faixa que vai de 0° (posição vertical) a 90° (posição horizontal), preferencialmente 15° a 80°. Ainda, quanto mais próxima a veneziana da fonte de luz UV, maior o ângulo de inclinação da veneziana.

10 d) Bandeja para posicionamento da amostra (4) – a amostra de CCD será posicionada no interior da torre através da bandeja (4).

Método para detecção de toxinas

A presente invenção compreende ainda um método para determinação de toxinas caracterizado por compreender as etapas de:

15 a) posicionar uma amostra dentro de um aparelho para determinação de toxinas compreendendo:

- i. um dispositivo registrador de imagem;
- ii. uma fonte de luz UV;
- iii. uma torre compreendendo uma pluralidade de venezianas;
- iv. uma bandeja para posicionamento da amostra;

20 b) iluminar a amostra com a fonte de luz UV;

c) registrar a imagem da amostra iluminada pela fonte de luz UV com o dispositivo registrador de imagem; e

d) quantificar a amostra na imagem registrada através de meios adequados.

25 Em especial, o posicionamento da amostra é feito através de uma bandeja. Ainda, a etapa de quantificação é realizada preferencialmente por meios computacionais, através de softwares.

Exemplo 1 – Estrutura do aparelho

30 A estrutura do aparelho é descrita com base na Figura 1. As amostras depositadas em uma das duas bandejas (4) são iluminadas com luz UV

proveniente da fonte (2). A fluorescência das amostras é registrada pela câmara fotográfica (1). A uniformidade da iluminação das amostras é atingida com uma distância entre as fontes de luz e a amostra com a distribuição das lâmpadas em forma simétrica em torno do eixo perpendicular à placa cromatográfica. Normalmente, para lâmpadas (2) de 15 cm de comprimento com a disposição da Figura 1, uma distância de 1 m proporciona uma uniformidade de iluminação dos raios que incidem diretamente na amostra da ordem de 1% sobre uma superfície de 10 cm x 10 cm. A quantidade de luz espúria constituída pelos raios indiretos é muito grande. Para evitar que a luz espúria atinja as placas, se introduz uma armadilha de luz através da torre (3) com básculas ou venezianas, com inclinação variável. No caso da presente invenção a inclinação é de aproximadamente 80 graus nas proximidades da lâmpada e de aproximadamente 15 graus na base da torre. A Figura 2 constitui um corte lateral onde se observa a torre (3) com básculas montadas e a disposição simétrica das lâmpadas (2), bem como o posicionamento das bandejas (4) no gabinete externo (5).

Adicionalmente, a presente invenção pode ser utilizada para a determinação de Patulina em maçãs e sucos derivados, e também na determinação de Aflatoxina B1 e Ocratoxina A em amendoim. Existe ainda a perspectiva de utilizar o equipamento também para a análise de Fumonisina. No caso da Patulina atinge-se um limite de detecção de 1 (um) nanograma com o aparelho revelado na presente invenção, em quanto que nas análises com visualização a olho nu este limite era de 10 (dez) nanogramas. Os testes de recuperação evidenciaram valores de 95 ± 1 %. O aparelho apresenta ainda a vantagem do registro fotográfico para arquivo e estudos posteriores.

Os versados na arte valorizarão imediatamente os importantes benefícios decorrentes do uso da presente invenção. Variações nas formas de concretizar o conceito inventivo aqui exemplificado devem ser compreendidas como dentro do espírito da invenção e das reivindicações anexas.

Reivindicações

APARELHO E MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE TOXINAS

- 5 1) Aparelho para determinação de toxinas caracterizado por compreender:
- a) um dispositivo registrador de imagem;
 - b) uma fonte de luz UV;
 - c) uma torre compreendendo uma pluralidade de venezianas;
 - 10 d) uma bandeja para posicionamento da amostra;
- onde o dispositivo registrador de imagem está posicionado sobre o eixo perpendicular à amostra e a fonte de luz UV está disposta de forma simétrica em relação à amostra.
- 2) Aparelho, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo
15 dispositivo registrador de imagem ser uma câmera fotográfica digital.
- 3) Aparelho, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela fonte de luz UV ser composta de uma pluralidade de lâmpadas.
- 4) Aparelho, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pela fonte de luz UV ser composta por 4 lâmpadas cilíndricas.
- 20 5) Aparelho, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelas venezianas da torre possuírem ângulo de inclinação que varia em uma faixa de 0° a 90°.
- 6) Aparelho, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo ângulo de inclinação variar em uma faixa de 15° a 80°.
- 25 7) Aparelho, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo ângulo de inclinação ser maior quanto mais próxima estiver a veneziana da fonte de luz UV.
- 8) Aparelho, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela amostra ser uma placa de CCD compreendendo toxinas.

9) Aparelho, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelas toxinas serem micotoxinas escolhidas do grupo que compreende Patulina, Aflatoxina, Ocratoxina, Fumosina e mistura das mesmas.

5 10) Método para determinação de toxinas caracterizado por compreender as etapas de:

a) posicionar uma amostra dentro de um aparelho para determinação de toxinas compreendendo:

- i. um dispositivo registrador de imagem;
 - ii. uma fonte de luz UV;
 - 10 iii. uma torre compreendendo uma pluralidade de venezianas;
 - iv. uma bandeja para posicionamento da amostra;
- onde o dispositivo registrador de imagem está posicionado sobre o eixo perpendicular à amostra e a fonte de luz UV está disposta de forma simétrica em relação à amostra

15 b) iluminar a amostra com a fonte de luz UV;

c) registrar a imagem da amostra iluminada pela fonte de luz UV com o dispositivo registrador de imagem; e

d) quantificar a amostra na imagem registrada através de meios adequados.

20 11) Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo dispositivo registrador de imagem ser uma câmera fotográfica digital.

12) Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pela fonte de luz UV ser composta de uma pluralidade de lâmpadas.

25 13) Método, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pela fonte de luz UV ser composta por 4 lâmpadas cilíndricas.

14) Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelas venezianas da torre possuírem ângulo de inclinação que varia em uma faixa de 0° a 90°.

30 15) Método, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo ângulo de inclinação variar em uma faixa de 15° a 80°.

16) Método, de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo ângulo de inclinação ser maior quanto mais próxima estiver a veneziana da fonte de luz UV.

5 17) Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pela amostra ser uma placa de CCD compreendendo toxinas.

18) Método, de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelas toxinas serem micotoxinas escolhidas do grupo que compreende Patulina, Aflatoxina, Ocratoxina, Fumosina e mistura das mesmas.

10 19) Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pela etapa d) ser realizada por meios computacionais.

Figuras

Figura 1

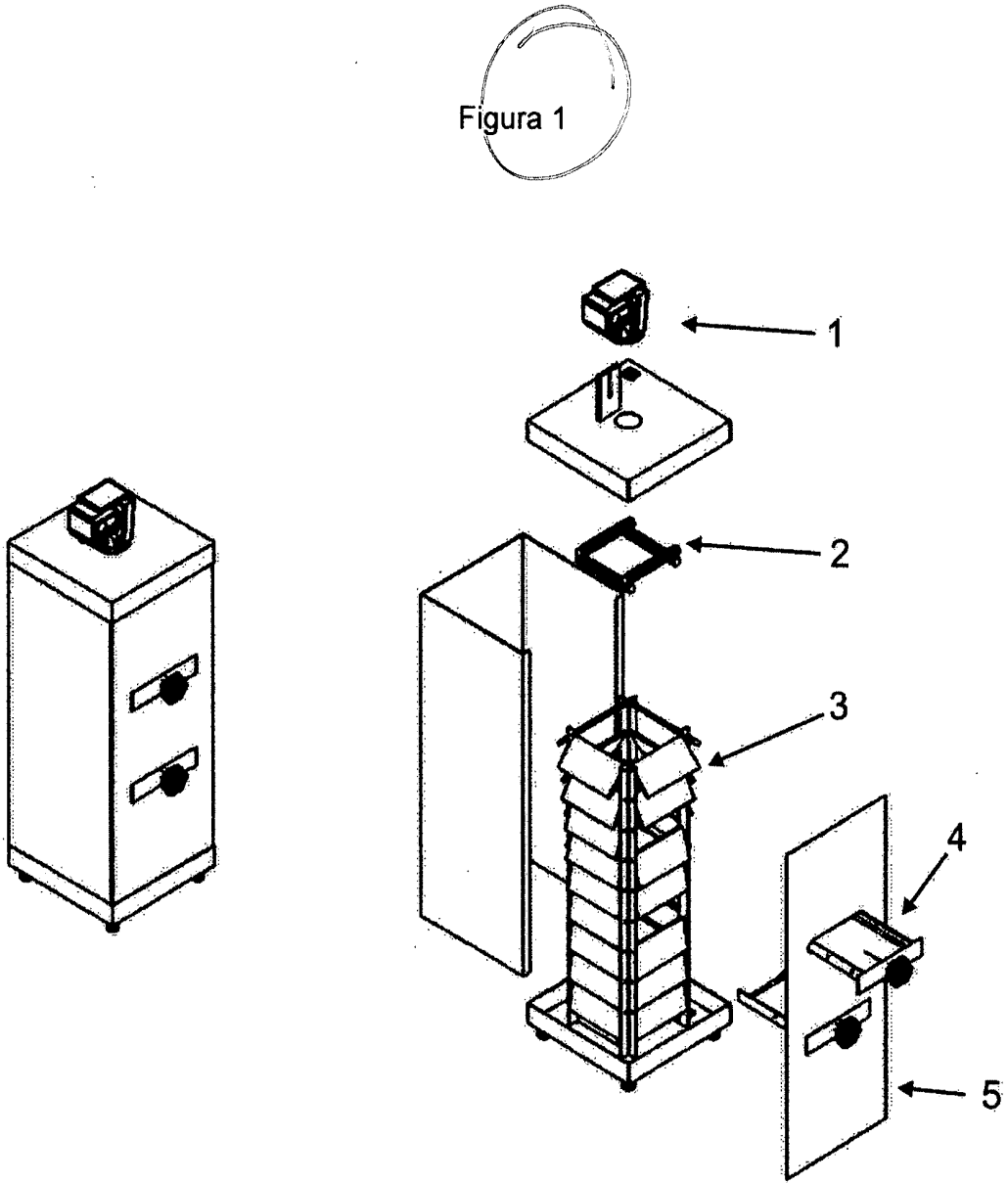
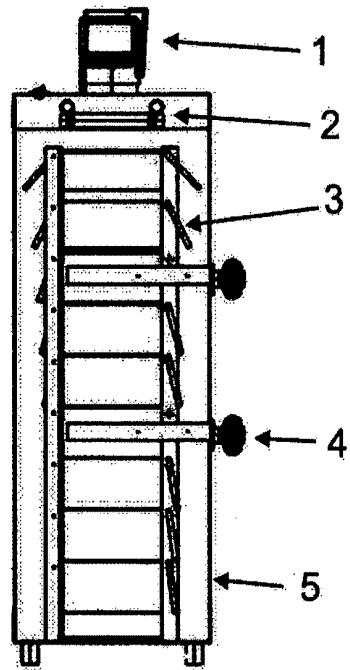
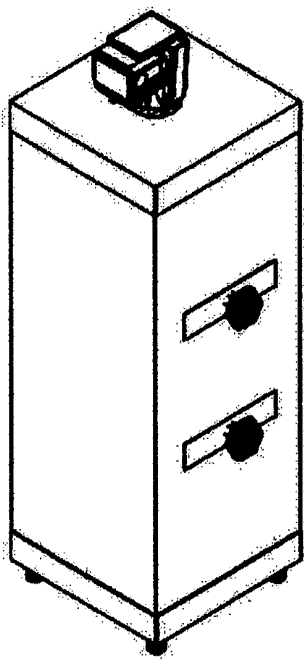


Figura 2



Resumo

APARELHO E MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE TOXINAS

A presente invenção proporciona um aparelho que permite medir a
5 fluorescência de micotoxinas separadas pelo método de cromatografia por
camada delgada (CCD). Particularmente, o aparelho também permite ajustar
esta precisão a outros valores de acordo as circunstâncias e as necessidades.
Em especial o referido aparelho proporciona uma análise com maior precisão
das placas de CCD, armazenando dados sobre fluorescência de micotoxinas
10 que degradam com o tempo, podendo ser aplicado em diversas áreas tais
como controle de processos industriais de elaboração de alimentos e produtos
derivados e, adicionalmente, na avaliação de teores que se adaptem à
legislação de países importadores.