

Avaliação da contaminação por desoxinivalenol em arroz e farelo de arroz**Evaluation of deoxynivalenol contamination in rice and rice bran**

DOI:10.34117/bjdv6n8-669

Recebimento dos originais: 30/07/2020

Aceitação para publicação: 31/08/2020

Gabriele Medeiros AlmeidaBacharela em Ciência e Tecnologia de Alimentos
gabriele.ma@yahoo.com.br**Adriane Lettnin Roll Feijó**Mestra em Ciências Farmacêuticas
adrianefeijo@unipampa.edu.br**Tiago André Kaminski**Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos
tiagokaminski@unipampa.edu.br**RESUMO**

O trabalho teve como objetivo avaliar o teor de desoxinivalenol (DON) em amostras de arroz comercializadas na região da Fronteira Oeste do Estado do Rio Grande do Sul e em amostras de farelo de arroz cedidas por empresas locais, através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e detector ultravioleta visível. O método analítico empregado foi validado seguindo os parâmetros de desempenho recomendados pelos guias da ANVISA e do INMETRO. A micotoxina foi extraída pela mistura de solventes acetonitrila:água (85:15), da qual foi coletado o sobrenadante, evaporado a 60 °C, ressuspendido com água:acetonitrila:metanol (90:5:5) e filtrado com filtro de seringa. O método mostrou-se seletivo, linear, preciso, robusto, com limites de quantificação (230 µg.Kg⁻¹) e detecção (69 µg.Kg⁻¹) adequados. O método analítico proposto pode ser utilizado no controle de qualidade de rotina das indústrias de beneficiamento para determinação de DON em arroz beneficiado e farelo de arroz. Foi possível quantificar os teores de DON em duas amostras de arroz parboilizado polido, uma de arroz integral e todas as de farelo de arroz, por apresentarem quantidades superiores ao limite de quantificação do método desenvolvido. A amostra de farelo de arroz parboilizado apresentou maior contaminação por DON (754,26 µg.Kg⁻¹) em relação às demais amostras.

Palavras-chave: fungos, *Fusarium*, cromatografia, produção de alimentos.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the deoxynivalenol (DON) content in rice samples commercialized in the region of the West Frontier of the State of Rio Grande do Sul and in samples of rice bran yielded by local companies, through High Performance Liquid Chromatography and visible ultraviolet detector. The analytical method employed was validated following the performance parameters recommended by the ANVISA and INMETRO guides. The mycotoxin was extracted by the solvent mixture acetonitrile:water (85:15), from which the supernatant was collected, evaporated at 60 °C, resuspended with water:acetonitrile:methanol (90:5:5) and filtered with a syringe filter. The method was selective, linear, precise, robust, with adequate quantification (230 µg.Kg⁻¹) and detection (69 µg.Kg⁻¹) limits. The proposed analytical method can be used for routine quality control of the processing industries to determine DON in rice and rice bran. It was possible to quantify DON

contents in two samples of polished parboiled rice, one of whole rice and all of rice bran, because they presented higher quantities than the limit of quantification of the developed method. The sample of parboiled rice bran presented higher contamination by DON (754.26 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$) in relation to the other samples.

Keywords: fungi, *Fusarium*, chromatography, food production.

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) representa a base alimentar de grande parte da população, sendo o segundo cereal mais produzido mundialmente, com área das plantações em torno de 161 milhões de hectares, além de corresponder a 29% do total do consumo de grãos¹.

No Brasil, o estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor de arroz, responsável por cerca de 70% da produção no país¹. O arroz beneficiado é subdividido nos subgrupos integral, polido, parboilizado integral, parboilizado polido². O farelo de arroz é um dos subprodutos do processo de beneficiamento dos grãos polidos, sendo normalmente empregado em rações animais, embora com potencial de utilização na alimentação humana³.

No arroz, assim como em outros cereais, pode incidir a presença de fungos produtores de micotoxinas, o que pode acontecer desde o cultivo no campo até as etapas de colheita e estocagem quando houver condições favoráveis, principalmente de temperatura e umidade, para o desenvolvimento fúngico⁴. A ingestão de micotoxinas pode ocasionar micotoxicoses, com sintomas e intensidade que variam de acordo com a espécie produtora e com a quantidade ingerida, mas os sintomas mais comuns são perda de produtividade, perda de peso, imunossupressão, teratogênese e carcinogênese, além da intoxicação aguda⁵.

Dentre as micotoxinas, as de *Fusarium*, desoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA) são de especial importância, pois são principalmente formadas no campo, antes da colheita dos grãos e sua ocorrência é difícil de ser evitada devido ao grande impacto das condições abióticas⁶. DON é um tricoteceno do grupo B das micotoxinas, típico do campo, também conhecido como vomitoxina⁷; pode estar presente em milho, cevada, arroz, centeio, aveia e rações para animais⁴; apresenta alta estabilidade, resiste ao aquecimento em temperatura de até 135 °C sem degradação e pode permanecer no produto por diversos anos em temperatura ambiente⁸.

Os níveis aceitáveis de micotoxinas nos alimentos são regulamentados pelo Ministério da Saúde através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A legislação que vigora é a Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011, da ANVISA, que dispõe sobre limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos para consumo humano, estabelecendo que os níveis de micotoxinas devem ser tão baixos quanto razoavelmente possível, devendo ser aplicadas as melhores práticas e

tecnologias na produção, manipulação, armazenamento, processamento e embalagem, de forma a evitar que um alimento contaminado seja comercializado ou consumido⁹.

No Brasil, os limites máximos estipulados referem-se apenas às partes comestíveis dos produtos alimentícios em questão e previam um período total de adaptação até 2016, mais restritivo a cada ano de adequação⁹. No entanto, através da resolução nº 138, de 8 de fevereiro de 2017, a ANVISA estendeu o período de adaptação dos limites máximos tolerados de micotoxinas para alguns produtos, com prazo máximo até 2019¹⁰. Atualmente, os limites máximos tolerados de DON em vigência são de 750 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ para arroz e, desde janeiro de 2019, de 1000 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ para farelo de arroz¹⁰.

Mesmo ocorrendo em concentrações muito pequenas nos alimentos, as micotoxinas têm alto grau de toxicidade, o que faz necessário o desenvolvimento de métodos analíticos precisos, rápidos, confiáveis e economicamente viáveis em laboratório para identificação dessas substâncias. Os métodos cromatográficos, em especial a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), são os mais indicados para a quantificação de micotoxinas por possuírem alta seletividade e sensibilidade⁶.

Nesse contexto, o trabalho teve como objetivo avaliar o teor de DON em amostras de arroz beneficiado comercializadas na região da Fronteira Oeste do Estado do Rio Grande do Sul e em amostras de farelo de arroz cedidas por empresas locais, através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e detector ultravioleta visível (UV-VIS).

2 MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRAS

Entre os meses de janeiro e março de 2018, foram adquiridas amostras de seis marcas comerciais de arroz beneficiado no comércio da região da Fronteira Oeste do estado do Rio Grande do Sul, contemplando os subgrupos integral, polido, parboilizado integral e parboilizado polido. As amostras de farelo foram concedidas por três empresas de beneficiamento de arroz localizadas no município de Itaqui/RS, consistindo amostras de farelo integral, parboilizado integral e desengordurado. Totalizaram-se 16 amostras de arroz beneficiado e cinco de farelo de arroz, que foram mantidas a -18 °C e em suas embalagens originais até o momento da realização das análises no laboratório de Análise Instrumental da Universidade Federal do Pampa, campus Itaqui.

PREPARO DAS AMOSTRAS E SOLUÇÕES PADRÕES

Previamente às análises, as amostras de arroz foram trituradas em moinho analítico de bancada (IKA, A11BS32) até obtenção de farinhas. Para o preparo da solução estoque de DON foram utilizados 2,5 mg do padrão analítico, com 99,9% de pureza (ChemCruz), que foi diluído em metanol

grau CLAE (Dinâmica Química Contemporânea Ltda). A solução foi sonicada em banho ultrassônico (Unique, Ultra Cleaner 1400) por 5 minutos e transferida para um balão volumétrico de 10 mL para obtenção de concentração de $250 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, da qual foram realizadas as diluições nas concentrações de trabalho.

CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Dionex, Thermo Fisher Scientific Inc.) constituído de bomba quaternária (LPG86 3400SD), amostrador automático (WPS-3000TSL), compartimento de coluna com controlador de temperatura (TCC-3000RS), coluna C18 (4,6 x 250 mm, partículas de $5 \mu\text{m}$, Agela Technologies, Promosil) a temperatura ambiente e detector ultravioleta visível (UV-VIS) (VWD-3100) a 220 nm. A fase móvel constituiu-se de água ultrapurificada, acetonitrila grau CLAE (Vetec, Química Fina) e metanol grau CLAE (Dinâmica Química Contemporânea Ltda) na proporção de 90:5:5 (v/v/v), em eluição isocrática, com fluxo de $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e volume de injeção $20 \mu\text{L}$, em temperatura ambiente¹¹.

VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Foram avaliados parâmetros de desempenho recomendados pelos guias da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO)^{12,13}, sendo eles: seletividade, limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ), curva analítica e linearidade, precisão e exatidão (recuperação).

A seletividade foi avaliada comparando-se o sinal gerado pela injeção das matrizes isentas da micotoxina DON e das adicionadas de padrão no tempo de retenção, buscando evitar a coeluição do analito com interferentes. As matrizes constituíram-se de uma das amostras de arroz polido, parboilizado integral e integral, como também de uma amostra de farelo de arroz integral^{12,13}.

O LD do método foi determinado pela média do sinal do ruído, que correspondia à linha de base da fase móvel, sendo considerado três vezes a concentração, enquanto que o LQ foi considerado dez vezes a concentração. Os valores teóricos foram verificados experimentalmente^{12,13}.

A linearidade foi avaliada por curvas analíticas realizadas através da padronização externa com soluções preparadas em triplicata nas concentrações de 0,25; 0,75; 1; 2 e $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de DON, extrapolando o limite máximo tolerado pela legislação brasileira. A comprovação da relação linear entre a concentração dos analitos e a resposta do equipamento foi realizada por meio do teste unilateral de análise de variância (ANOVA)^{12,13}.

A precisão do método foi avaliada pela repetibilidade e precisão intermediária. Para avaliação da repetibilidade, seis amostras ($n = 6$) de concentração $0,75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ foram preparadas sob as

mesmas condições, pelo mesmo analista, em um curto período de tempo. Na determinação da precisão intermediária seis amostras nas mesmas concentrações supracitadas foram preparadas sob as mesmas condições, durante três dias diferentes, por três diferentes analistas ($n = 18$).

A exatidão do método foi avaliada pelo método de adição e recuperação de padrão frente às matrizes, em três níveis, 70%, 100% e 120%, do limite máximo tolerado da micotoxina para arroz beneficiado e farelo de arroz, em triplicata^{12,13}.

A robustez foi avaliada a partir da determinação de DON mediante pequenas alterações nas condições cromatográficas nominais do método desenvolvido^{12,13}. Foram selecionados seis fatores e avaliados por delineamento fatorial de Plackett-Burman ($n = 12$). Foram avaliadas alterações na vazão ($\pm 0,05$ unidades), proporção de acetonitrila na fase móvel ($\pm 2\%$), proporção de metanol na fase móvel ($\pm 2\%$), comprimento de onda (± 2 nm), temperatura (± 2 °C) e marca de coluna.

EXTRAÇÃO DA MICOTOXINA

A extração foi baseada na metodologia descrita por Liao et al¹⁴, com modificações, na qual em 5 g de amostra de arroz (farinha) foram adicionados 10 mL de acetonitrila:água (85:15) (v/v), agitou-se manualmente por 15 minutos e centrifugou-se por 5 minutos a 4500 rpm. Após, foram coletados 2 mL do sobrenadante para evaporação em banho-maria a 60 °C. O mesmo foi ressuspenso com água:acetonitrila:metanol (90:5:5) (v/v/v), agitado em agitador vórtex por 1 minuto e filtrado com filtro de seringa (13 mm x 0,22 μ m politetrafluoretileno).

Para extração nos farelos, o procedimento foi similar, diferindo apenas na quantidade do solvente de extração (20 mL), coleta do sobrenadante (4 mL) e porosidade do filtro (13 mm x 0,45 μ m polietersulfona). Quando fortificados, na etapa de ressuspensão, foi adicionado solução de trabalho de DON juntamente com água:acetonitrila:metanol (90:5:5) (v/v/v) nas concentrações de fortificação.

3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

A aquisição e análise dos dados foram realizadas pelos softwares Chromeleon versão 6.8 (Dionex, Thermo Fisher Scientific Inc.), Origin (Pro) versão 8.0, além do aplicativo Microsoft Office Excel[®]. No Statistica, versão 8.0, os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS

Para que um método analítico seja validado é necessário verificar os parâmetros de adequabilidade do sistema após o desenvolvimento e otimização do mesmo, como está preconizado

na legislação brasileira¹³. O desempenho do sistema cromatográfico foi avaliado por meio da verificação quanto ao número de pratos teóricos, resolução e fator de cauda nos cromatogramas obtidos, os quais foram satisfatórios.

Nas condições cromatográficas utilizadas, o tempo de retenção do padrão de DON foi de 19,6 minutos, apresentando satisfatória seletividade do método. Na Tabela 1 estão apresentadas a precisão e a exatidão obtidas.

A equação obtida da curva de linearidade foi $y = 0,6614x - 0,0466$, com coeficiente de correlação linear (r) de 0,9997. O LD do método foi de $0,069 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e o LQ de $0,23 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

A Figura 1 demonstra cromatogramas obtidos com o padrão ($0,75 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de DON), com amostra de arroz parboilizado polido ($247,50 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de DON) e com farelo parboilizado integral ($754,15 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de DON).

A contaminação por DON nas amostras de arroz adquiridas está apresentada na Tabela 2. Em apenas três das amostras foi possível quantificar os teores de DON, as demais tiveram teores não detectáveis ou quantidades traço.

A amostra com maior teor de DON foi o arroz integral da marca 6, com $325,65 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, seguida das amostras de arroz parboilizado polido das marcas 2 e 5, com $233,87$ e $250,25 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, respectivamente.

A Tabela 3 apresenta os teores de DON nas amostras de farelo de arroz. Em comparação, observou-se maior contaminação do farelo de arroz parboilizado integral, da empresa B, seguido dos farelos integrais das empresas A e C. Os farelos integral da empresa B e desengordurado da C tiveram menor ocorrência de DON.

5 DISCUSSÃO

A partir dos resultados (Tabela 1), se verificou que a precisão do método desenvolvido esteve dentro dos limites aceitáveis, com desvio padrão relativo inferior a 2%, nas análises de repetibilidade e na precisão intermediária¹⁵. Através da utilização da extração adaptada de Liao et al¹⁴ foi possível a obtenção de uma boa recuperação.

O modelo de regressão linear obtido, equação da curva de linearidade de $y = 0,6614x - 0,0466$, e coeficiente de correlação linear (r) de 0,9997, foi maior do que o recomendado pelo INMETRO, de 0,90¹².

O LD ($0,069 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e LQ ($0,23 \mu\text{g.mL}^{-1}$) do método apontou que a sensibilidade do mesmo atende aos limites descritos na legislação brasileira⁹.

O método proposto mostrou-se robusto, pois mesmo modificando as condições nominais do sistema foi possível identificar e quantificar o analito desejado, com garantia dos parâmetros de

adequabilidade do sistema e resultados sem diferença estatística significativa utilizando o teste T de *Student* para $p = 0,05$ (t crítico = 2,57).

Dessa forma, o método desenvolvido mostrou-se seletivo, linear, preciso, robusto, com limites de quantificação e detecção adequados para determinação de DON no arroz beneficiado e no farelo de arroz.

As quantidades de DON encontradas nas três amostras de arroz contaminadas ficaram abaixo do limite de $750 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ descrito na legislação brasileira⁹, o que demonstra baixa contaminação nos lotes das amostras de arroz comercializadas na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul.

No subgrupo polido, nenhuma das amostras teve quantidades detectáveis de DON, o que sugere a observação de boas práticas de armazenamento e produção (Tabela 2). Também se deve considerar que no processo de polimento do arroz são removidas as camadas mais externas do grão, onde há maior ocorrência de micotoxinas, diminuindo o risco de contaminação¹⁶.

Outros estudos que avaliaram contaminação por DON em amostras de arroz descreveram valores semelhantes.

Nunes et al¹⁷ avaliaram a presença de fungos e a ocorrência de diversas micotoxinas em arroz, constatando a prevalência de 266 e $300 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de DON em uma mesma amostra de arroz polido quando analisada pelas técnicas de cromatografia em camada delgada e cromatografia gasosa, respectivamente.

Silva et al¹⁸ avaliaram 42 amostras de arroz, das quais apenas duas tiveram ocorrência de DON em quantidades médias de 62 e $157 \mu\text{g.Kg}^{-1}$.

Bertuzzi et al¹⁹ ao monitorar a presença e relação entre fungos e micotoxinas em 60 amostras de arroz produzidas na Itália, constataram a incidência de diversos fungos, dentre eles o *Fusarium*, bem como a contaminação por DON em 18 amostras na quantidade de até $64 \mu\text{g.Kg}^{-1}$.

Xu et al²⁰ estudaram a ocorrência de DON em arroz, trigo e derivados, constatando teores de $139,1 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de DON em uma de três amostras de arroz integral e $79,5 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de DON em arroz glutinoso.

Rahmani et al²¹ avaliaram amostras de arroz comercializado no Irã e não encontraram contaminação por DON. Ok et al²² também não detectaram a ocorrência de DON em amostras de arroz polido, mas uma amostra de arroz integral (de 80 analisadas) apresentou contaminação com $43,2 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ de DON.

Embora com teores superiores às amostras de arroz beneficiado (Tabela 2), as amostras de farelo de arroz (Tabela 3) apresentaram teores de DON inferiores ao limite estabelecido na legislação brasileira, tanto para o ano de 2018 quando as amostras foram recebidas, como para o limite vigente, de 1250 e $1000 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, respectivamente¹⁰. Esses resultados sugerem boas práticas agrícolas e de

armazenamento dos grãos de arroz, pois quando as amostras de farelo foram concedidas pelas empresas para análise (novembro de 2018), os grãos já estavam armazenados, pelo menos, desde o fim da safra de arroz (março de 2018). Ao longo do período de armazenamento do arroz, aumentam as chances de crescimento de fungos e contaminação por micotoxinas, como o DON.

A maior ocorrência de DON no farelo de arroz parboilizado sugere maior contaminação do arroz que passa pelo processo de parboilização. Isso pode ser decorrente da migração de micotoxinas oriundas da casca do arroz para o endosperma amiláceo na etapa de encharcamento do grão²³.

Ok et al²⁴ verificaram contaminação por DON em amostras de arroz polido, arroz integral e farelo de arroz, nas respectivas concentrações médias de 27,9; 81,8 e 49,6 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$. No entanto, o intervalo de valores de DON encontrados nas amostras de farelo de arroz ficou entre 10,1 a 655,6 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$.

Heidtmann-Bemvenuti et al⁶ analisaram a presença de micotoxinas no endosperma, casca e farelo de arroz. As amostras de arroz polido não apresentaram contaminação por DON, enquanto o mesmo estava presente em uma amostra de arroz parboilizado. O farelo de arroz polido apresentou a micotoxina, já o farelo parboilizado não continha teores detectáveis. Os autores constataram que modo geral a contaminação por micotoxinas foi inferior no endosperma amiláceo em relação às demais frações do grão.

Almeida et al²⁵ avaliaram a ocorrência de micotoxinas em arroz, farelo de arroz, casca de arroz e grãos quebrados, constatando contaminações médias de 119,3; 300,0; 56,0 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ e ND (não detectado), respectivamente. Nota-se que a maior contaminação por DON no farelo de arroz está em concordância com os resultados obtidos no presente estudo.

6 CONCLUSÕES

O método analítico desenvolvido é seletivo, linear, exato, preciso, robusto e atende os limites de detecção preconizados pela legislação vigente. Dessa forma, pode ser utilizado no controle de qualidade de rotina das indústrias de beneficiamento para determinação de DON em arroz beneficiado e farelo de arroz.

Foi possível quantificar os teores de DON em duas amostras de arroz parboilizado polido, uma de arroz integral e todas as de farelo de arroz. A amostra de farelo de arroz parboilizado apresentou maior contaminação por DON em relação às demais amostras. No entanto, os teores de DON estiveram em conformidade nas amostras avaliadas, ou seja, abaixo dos limites máximos tolerados pela legislação brasileira para a micotoxina.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado - SOSBAI. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil. XXXI reunião técnica da cultura do arroz irrigado, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, Brasil, 2016. Disponível em: http://www.sosbai.com.br/docs/Boletim_RT_2018.pdf
2. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução normativa No 6, de 16 de fevereiro de 2009. Aprovar o Regulamento Técnico do Arroz, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, na forma dos Anexos à presente Instrução (Instrução normativa No 6, de 16 de fevereiro de 2009). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2009.
3. Paz MF, Marques RV, Schumann C. Características tecnológicas de pães elaborados com farelo de arroz desengordurado. *Braz. J. Food Technol.* 2015;18(2):128-136. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.6014>
4. Prado G. Contaminação De Alimentos Por Micotoxinas No Brasil e No Mundo. *Gerais: Revista De Saúde Pública do SUS/MG.* 2014;2(2):13-26. <http://revistageraisaude.mg.gov.br/index.php/gerais41/issue/view/28>
5. Arruda A, Beretta, ALRZ. Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura. *RBAC.* 2019;51(4):286-9. <http://dx.doi.org/10.21877/2448-3877.201900779>
6. Heidtmann-Bemvenuti R, Hackbart HCS, Souza MM, Badiale-Furlong E. Determinação De Deoxinivalenol e Zearalenona Em Arroz Natural e Parboilizado e Suas Frações Utilizando Quechers e HPLC/UV-FL. *Quim Nova,* 2012;35(6):1244-1249. <http://dx.doi.org/10.1590/S010040422012000600033>
7. Oga S, Camargo M, Batistuzzo J. Fundamentos de toxicologia. 3.ed. São Paulo: Ateneu. 2008.
8. Garda J, Badiale-Furlong E. Otimização de Metodologia para Derivação de Desoxinivalenol Através de Planejamento Experimental. *Quim Nova.* 2008;31(2):270-274. <http://dx.doi.org/10.1590>
9. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos (Resolução – RDC n° 7, de 18 de fevereiro de 2011). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2011.
10. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Altera a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n° 7, de 18 de fevereiro de 2011, que dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, para alterar os LMT da micotoxina desoxinivalenol (DON) em trigo e produtos de trigo prontos para oferta ao consumidor e os prazos para sua aplicação (Resolução – RDC n° 138, de 8 de fevereiro de 2017). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2017.

11. Silva MV, Pante GC, Romoli JCZ, Souza APM, Rocha GHO, Ferreira F. D, et al. (2017). Occurrence and risk assessment of population exposed to deoxynivalenol in foods derived from wheat flour in Brazil. *Food Addit Contam Part A*. 2017;35(3):546-554. <https://dx.doi.org/10.1080/19440049.2017.1411613>
12. Ministério da Economia (BR). Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos. DOQ CGCRE-008. Revisão: 05. 2016.
13. Ministério da Saúde (BR). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências (Resolução – RDC nº 166 de 24 de julho de 2017). *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 2017.
14. Liao C, Wong JW, Zhang K, Hayward DG, Lee NS, Trucksess MW. (2013). Multi-mycotoxin Analysis of Finished Grain and Nut Products Using High-Performance Liquid Chromatography–Triple-Quadrupole Mass Spectrometry. *J Agric Food Chem*. 2013;61:4771–4782. <http://dx.doi.org/10.1021/jf4000677>
15. Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICSF, Melo LFC. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim Nova*. 2004;27(5):771-780. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>
16. Dors GC, Bierhals VS, Baldiale-Furlong E. Parboiled rice: chemical composition and the occurrence of mycotoxins. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2011;31(1):172-177. <http://dx.doi.org/10.1590/S010120612011000100025>
17. Nunes IL, Magagnin G, Bertolin TE, Furlong EB. Arroz Comercializado Na Região Sul Do Brasil: Aspectos Micotoxicológicos e Microscópicos. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2003;23(2):190-194. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612003000200015>
18. Silva LP, Madureira F, Vargas EA, Faria AF, Augustia R. Development and validation of a multianalyte method for quantification mycotoxins and pesticides in rice using a simple dilute and shoot procedure and UHPLC-MS/MS. *Food Chemistry*, 2019;270:420-427. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.126>
19. Bertuzzi T, Romani M, Rastelli S, Giorni P. Mycotoxins and Related Fungi in Italian Paddy Rice During the Growing Season and Storage. *Toxins*. 2019; 11(3):151. <https://doi.org/10.3390/toxins11030151>
20. Xu J, Zhou J, Huang B, Cai Z, Xu X, Ren Y. Simultaneous and rapid determination of deoxynivalenol and its acetylate derivatives in wheat flour and rice by ultra high performance liquid chromatography with photo diode array detection. *J Sep Sci*. 2016;39(11):2013-2212. <http://dx.doi.org/10.1002/jssc.201501316>
21. Rahmani M, Ghasemi E, Sasani M. Application of response surface methodology for air assisted-dispersive liquid- liquid microextraction of deoxynivalenol in rice samples prior to HPLC-DAD analysis and comparison with solid phase extraction cleanup. *Talanta*. 2017;165: 27-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.031>

22. Ok HE, Kim DM, Kim D, Chung SH, Chung M, Park KH, Chun HS. Mycobiota and natural occurrence of aflatoxin, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone in rice freshly harvested in South Korea. *Food Control*. 2014;37:284-291. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.020>
23. Coelho CSP, Furlong EB, Almeida T L. Migração de Micotoxinas Durante a Parboilização do Arroz. *Braz. J Food Technol*. 1999;2(1,2):39-44. <http://repositorio.furg.br/handle/1/4444>
24. Ok HE, Lee SY, Chun H S. Occurrence and simultaneous determination of nivalenol and deoxynivalenol in rice and bran by HPLC-UV detection and immunoaffinity cleanup. *Food Control*. 2018;87:53-59. <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.12.005>
25. Almeida DI, Almeida NG, Carvalho KL, Gonçalves GAA, Silva CN, Santo EA et al. Co-occurrence of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂, ochratoxin A, zearalenone, deoxynivalenol, and citreoviridin in rice in Brazil. *Food Addit Contam Part A*. 2012;29(4):694-703. <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2011.651750>

TABELAS

Tabela 1 – Precisão do método e recuperação das amostras fortificadas com diferentes concentrações de desoxinivalenol

PRECISÃO	Dia 1	Dia 2	Dia 3
Média ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) n = 6	0,77	0,76	0,74
Desvio padrão	0,01	0,01	0,01
Média n = 18 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		0,75	
Desvio padrão		0,014	
Coeficiente de variação (%)		1,85	
EXATIDÃO ARROZ POLIDO			
Concentração teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,53	0,75	0,90
Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,39	0,65	0,66
Recuperação média (%)	73,44	87,93	73,57
Desvio padrão	2,43	8,68	1,83
EXATIDÃO ARROZ PARBOILIZADO POLIDO			
Concentração teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,53	0,75	0,90
Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,49	0,69	0,72
Recuperação média (%)	92,97	92,82	80,25
Desvio padrão	10,97	17,3	1,55
EXATIDÃO ARROZ PARBOILIZADO INTEGRAL			
Concentração teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,53	0,75	0,90
Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,50	0,87	0,84

Recuperação média (%)	94,51	117,04	94,90
Desvio padrão	9,44	5,13	6,91
EXATIDÃO FARELO DE ARROZ			
Concentração teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,75	1,00	1,50
Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0,69	0,90	1,50
Recuperação média (%)	92,29	90,74	89,51
Desvio padrão	10,05	4,11	7,56

Tabela 2 – Ocorrência de DON nas amostras comerciais de arroz adquiridas na região da Fronteira Oeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil

Subgrupo do arroz	Marca	Lote	Teor de DON ($\mu\text{g.Kg}^{-1}$)
Polido	1	01/11/2018	ND
	2	12A	ND
	3	130918	ND
	4	CL 09 2018 23	ND
	5	21 out 18 03D	ND
Parboilizado polido	1	01/09/2018	ND
	2	11A	233,87 \pm 19,86 b
	3	230818	Tr
	4	CL 08 2018 23	ND
	5	01 dez 18 01M	250,25 \pm 4,06 b
	6	197-248	Tr
Parboilizado integral	1	01/10/2018	Tr
	3	221118	Tr
	4	CL 092018 32	ND
Integral	5	01/01/20 0554061701	Tr
	6	9 LOT 180 277	325,65 \pm 16,44 a

Valores expressos como média \pm desvio padrão seguidos por letras distintas que indicam diferença estatística significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey.

ND = não detectado; quantidade inferior ao limite de detecção (LD) de 69 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$.

Tr = traços; quantidade entre o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) de 230 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$.

Tabela 3 – Ocorrência de DON nas amostras de farelo cedidas por empresas de beneficiamento de arroz do município de Itaqui, RS, Brasil

Empresa	Farelo de arroz	Teor de DON ($\mu\text{g.Kg}^{-1}$)
A	Integral	458,75 \pm 24,91 b
B	Integral	384,94 \pm 37,58 c
B	Parboilizado integral	754,26 \pm 36,35 a
C	Integral	491,56 \pm 3,14 b
C	Desengordurado	379,45 \pm 7,48 c

Valores expressos como média \pm desvio padrão seguidos por letras distintas que indicam diferença estatística significativa em nível de 5% pelo teste de Tukey.