

## Trabajo completo

# Desarrollo de un método analítico para la cuantificación de aflatoxina y ocratoxina, utilizando matrices de excitación-emisión de fluorescencia y calibración multivariada

RECIBIDO: 24/07/2014

REVISIÓN: 06/08/2014

ACEPTADO: 06/10/2014

Semeniuk, M.<sup>1</sup> • Schenone, A.<sup>1</sup> • Sobrero M. S.<sup>2</sup> • Marsili, N. R.<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Química Analítica II. <sup>2</sup>Cátedra de Química General, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria, Paraje El Pozo S/N. S3000ZAA, CC 242, Santa Fe, Argentina.

\*Nilda Raquel Marsili

Teléfono: 54-342-4559947 / 54-342-156108952.

E-mail: nmarsili@fbc.unl.edu.ar

**RESUMEN:** Se desarrolló un nuevo método para la cuantificación de aflatoxina y ocratoxina que utiliza como datos matrices de excitación-emisión de fluorescencia y para el análisis de los mismos calibración multivariada. Debido a que la relación señal analítica-concentración no es lineal, se decidió trabajar con el método MCR-ALS, el cual es capaz de separar la señal de cada analito en cada muestra. Los resultados obtenidos al predecir muestras artificiales son muy satisfactorios, con porcentajes de recuperación de 94 a 103 % para aflatoxina y de 98 a 104 % para ocratoxina. Además los límites de detección obtenidos son bajos (3,9 y 4,2  $\mu\text{gL}^{-1}$  para aflatoxina y ocratoxina respectivamente) comparables con los valores máximos aceptados por los organismos internacionales de control de alimentos. Este nuevo método no requiere reactivos, solo una mezcla de metanol:agua (75:25) como solvente, es rápido,

sencillo y de muy bajo costo.

**PALABRAS CLAVE:** micotoxinas, matrices de excitación-emisión de fluorescencia, MCR-ALS.

**SUMMARY:** *Analytical method development for the quantification of aflatoxin and ochratoxin, using excitation-emission fluorescence matrices and multivariate calibration.*

A new method for the quantification of aflatoxin and ochratoxin was developed, which uses excitation-emission fluorescence matrices as data and multivariate calibration. Because the relationship between the analytical signal and the concentration is not linear, we decided to work with the MCR-ALS method, since this method is able to separate the signal of each analyte in each sample. The prediction results for the artificial samples are very satisfactory, with recoveries from 94 to 103% for aflatoxin, and from 98 to 104 % for ochratoxin. Furthermore, the

obtained detection limits are low (3.9 and 4.2 mg L<sup>-1</sup> for aflatoxin and ochratoxin, respectively) comparable to the maximum values accepted by international food control agencies. The new method does not require reagents, only a mixture

of methanol:water (75:25) as solvent, it's fast, simple and inexpensive.

**KEYWORDS:** mycotoxins, excitation–emission fluorescence matrices, MCR–ALS.

---

## 1. Introducción

Los hongos filamentosos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* producen una serie de compuestos tóxicos durante su metabolismo secundario. Estos metabolitos se conocen como micotoxinas y su presencia en los alimentos produce daños a la salud humana (1, 2). Las micotoxinas se encuentran frecuentemente en productos como maíz, arroz y otros cereales, maní, vino, leche, entre otros (3, 4, 5), que pueden contaminarse tanto en el campo y antes de la cosecha, como durante el almacenaje previo al procesamiento del material.

Las aflatoxinas (entre ellas: aflatoxina B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>) tienen propiedades oncogénicas debido a su capacidad de unirse al ADN (1). También se las asocia al incremento en la mortalidad de animales de granja (2,3). La ingestión involuntaria de aflatoxina puede llegar a provocar la muerte en caso de intoxicación aguda, o resultar cancerígena en caso de ingesta crónica (2). Las ocratoxinas (entre ellas: ocratoxina A, B

y C), además de ser nefrotóxicas, muestran un comportamiento hepatotóxico, inmunosupresor, teratogénico y carcinogénico (1).

Las micotoxinas son compuestos muy estables que no se descomponen con irradiaciones de luz UV, ni el calor. Además, son inodoras, incoloras e insípidas, lo que facilita su consumo involuntario. Incluso, persisten en alimentos procesados ya que resisten severos procesos industriales (6).

Organizaciones como la FAO (*Food Agricultural Organization*), la Comisión del Codex Alimentarius, la FDA (*Food and Drug Administration*) y la UE (Unión Europea), han dictado reglamentaciones nacionales e internacionales que establecen los niveles máximos de tolerancia para las micotoxinas presentes en alimentos y materias primas (7, 8).

En la Tabla 1 se muestran algunos valores máximos aceptables establecidos en el *Reglamento (EU) N° 165/2010 para algunos alimentos*.