

# PREPARACIÓN GRAVIMÉTRICA Y ESTUDIOS DE HOMOGENEIDAD DE SOLUCIONES CALIBRANTES DE ZEARELENONA

Eliane C. P. Rego<sup>1</sup>, Mariano Simon<sup>2</sup>, Ralf D. Josephs<sup>3</sup>, Adeline Daireaux<sup>3</sup>, Xiuqin Li<sup>4</sup>, Tiphaine Choteau<sup>3</sup>, Steven Westwood<sup>3</sup>, Robert I. Wielgosz<sup>3</sup>

1-INMETRO, Brasil. 2- Coordinación de Toxicología y Nutrición, Agroalimentos, INTI, Argentina. 3-BIPM, Bureau International des Poids et Mesures, Francia. 4-NIM, China  
[msimon@inti.gob.ar](mailto:msimon@inti.gob.ar)

## Introducción

La zearalenona (ZEN) es una micotoxina producida por varias especies de hongos del género *Fusarium* entre ellas *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum*. Esta toxina se encuentra presente en varios tipos de alimentos, especialmente en maíz y trigo. Debido a su actividad estrogénica y la de sus metabolitos, la zearalenona puede causar cambios en los órganos reproductivos y pérdida de fertilidad, así como también otros efectos tóxicos en el cerebro.

En el 2016, el proyecto conocido como Capacitación y Transferencia de Conocimiento (CB&KT) en seguridad alimentaria en economías en desarrollo comenzó a fortalecer la infraestructura metrológica de los distintos Institutos de Metrología Nacionales alrededor del mundo (NMIs). Dicho proyecto incluyó entrenamientos a distintos científicos visitantes en el BIPM (Bureau International des Poids et Mesures) con el fin de transferir el conocimiento necesario a los distintos NMIs y que los mismos puedan producir y proveer soluciones calibrantes para dar soporte a los laboratorios de su país.

En este contexto, durante los meses de febrero, marzo y abril del 2017, Mariano Simón, científico de INTI, recibió un entrenamiento en el BIPM donde fue capacitado entre otras cosas en la preparación gravimétrica de una solución calibrante de zearalenona, la asignación de su incertidumbre, el envasado de la misma en ampollas de vidrio y el estudio de su homogeneidad.

## Objetivo

Preparar gravimétricamente soluciones calibrantes de zearalenona y calcular su concentración e incertidumbre.

Preparar ampollas de vidrio que contengan un determinado volumen de esta solución.

Planear y ejecutar un estudio para evaluar la homogeneidad de los lotes de ampollas producidos.

## Descripción

Fueron preparadas, siguiendo un procedimiento gravimétrico, dos soluciones de calibración de zearalenona de 250 ml cada una

(OGP.026A y OGP.026B). Para su preparación se realizó una dilución 10 veces de una solución stock de aproximadamente 100 µg/ml. Para cada solución de calibración preparada se utilizaron 7 ampollas de solución stock las cuales fueron trasvasas a un matraz de 250 ml y enrasado con acetonitrilo. Las soluciones finales fueron almacenadas a -20°C.

Considerando la concentración de la solución stock y las masas pesadas durante el procedimiento, fueron calculadas las concentraciones de las soluciones calibrantes producidas. Considerando las distintas fuentes de error como la incertidumbre de la solución stock, la flotabilidad de las balanzas y la evaporación de solvente durante el proceso, fueron calculadas las incertidumbres de las soluciones calibrantes.

Una vez concluido este proceso, las soluciones calibrantes fueron envasadas en ampollas de vidrio conteniendo 4 ml de solución cada una. Las ampollas fueron selladas y se verificaron para corroborar la ausencia de pérdidas.



Figura 1: Proceso de elaboración de solución calibrante y envasado en ampollas.

Un estudio de homogeneidad fue llevado adelante para evaluar cualquier tipo de heterogeneidad causada, por ejemplo por una contaminación, evaporación o cualquier otro error durante el proceso de producción.

Como primera determinación de homogeneidad, se midió el compuesto principal (ZEN) a tres longitudes de onda (235nm, 274 nm y 314nm) en el espectrofotómetro UV. Dichas mediciones se realizaron por triplicado y a 10 ampollas de cada lote. Esta medición se realizó sin dilución previa y de una muestra por vez para evitar cualquier posible evaporación durante el proceso.

Un segundo procedimiento para verificar la homogeneidad fue llevado adelante utilizando un LC-MS/MS y midiendo tanto ZEN como también sus impurezas contenidas en cada ampolla.

**Tabla 1: impurezas medidas mediante LC-MS/MS.**

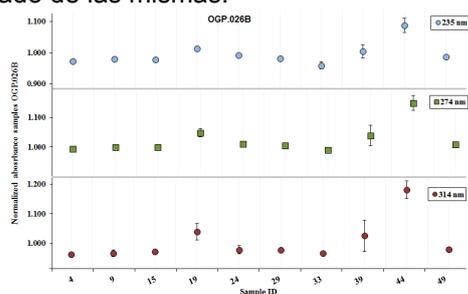
Impurezas	Q1 m/z	Q3 m/z	RT (min)
Dehydrozearealenona (dehydroZEN) (impureza 1)	315,3	175,1	16,8
Zearalanona (ZAN) (impureza 2)	319,3	275,0	30,1
Isómeros of Zearalenona (isomerZEN) (impureza 3)	317,2	131,1	34,5

Para el estudio de homogeneidad fueron utilizados un espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer Lambda 650 y un sistema cromatográfico LC-MS/MS Q-trap 4000.

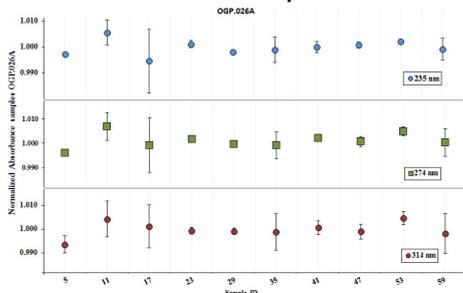
## Resultados

Se produjeron dos lotes distintos de ampollas conteniendo solución de calibración de zearalenona en acetonitrilo. El lote OGP.026A contó con 64 ampollas y una concentración e incertidumbre de  $14,708 \pm 0,016 \mu\text{g/g}$  ( $k=2$ ) respectivamente. En el caso del lote OGP.026B los resultados fueron 54 ampollas y una concentración e incertidumbre de  $14,708 \pm 0,016 \mu\text{g/g}$  ( $k=2$ ).

Los datos de los estudios de homogeneidad fueron analizados por ANOVA para evaluar la homogeneidad dentro de una misma ampolla y entre ampollas. Se evaluó la existencia de cualquier tipo de tendencia en los resultados debido al orden de análisis o la secuencia de llenado de las mismas.



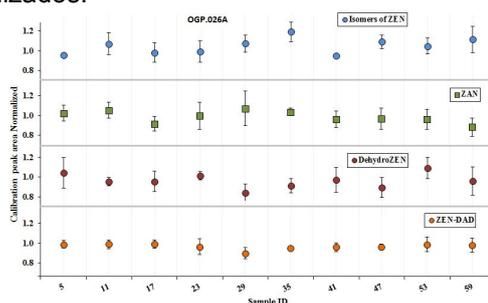
**Figura 2: Resultados UV-Visible para el lote OGP.026A.**



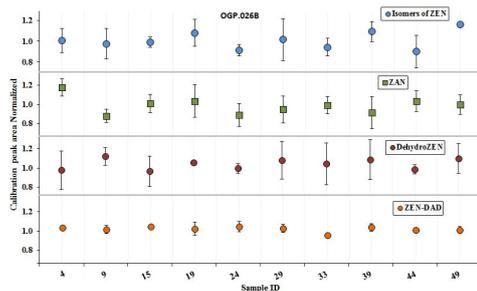
**Figura 3: Resultados UV-Visible para el lote OGP.026B.**

No fueron observadas tendencias debido al orden de llenado ni respecto al orden de

análisis para ninguno de los dos lotes analizados.



**Figura 4: Resultados LC-MS/MS para el lote OGP.026A.**



**Figura 5: Resultados UV-Visible para el lote OGP.026B.**

Se realizó un F-test con un 95% de confianza y no fueron detectadas diferencias dentro y entre ampollas tanto para el compuesto principal (ZEN) como para sus impurezas.

El material puede ser considerado como homogéneo.

**Tabla 2: incertidumbre asociada a la homogeneidad.**

Lote	ubb% (LC-MS/MS and DAD)			
	ZEN-DAD	ZAN	DehydZEN	IsomerZEN
OGP.026A	0,27	3,35	4,04	5,78
OGP.026B	0,23	5,39	6,65	4,72

## Conclusiones

Dos lotes de solución calibrante de zearalenona fueron preparados gravimétricamente y su concentración e incertidumbre fueron calculadas satisfactoriamente. Las mismas fueron envasadas correctamente en ampollas de vidrio.

La homogeneidad fue evaluada por espectrofotometría UV-Visible y LC-MS/MS. No se detectaron tendencias debido al llenado o el análisis de las ampollas. No se detectaron diferencias significativas dentro y entre ampollas.

La capacitación recibida fue satisfactoria y las capacidades metrológicas adquiridas serán transferidas al área de Toxicología y Nutrición.

## Bibliografía

Josephs, RD. Wielgosz, R. (2016). Homogeneity testings of candidate materials for CCQM Comparison studies. BIPM internal procedure.