

CONTAMINANTES EMERGENTES EN EL SIGLO XXI

Pirineos 2016. HUESCA – 28 al 29 de Septiembre de 2016.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



Ángel Ríos

Universidad de Castilla – La Mancha. Ciudad Real.



- **Introducción**
- **Características de los métodos de screening**
- **Aplicaciones seleccionadas para el control de micotoxinas**
- **Consideraciones sobre la transferibilidad a laboratorios de rutina.**
- **Conclusiones**

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



Metabolitos secundarios tóxicos, de composición variada, producidos por organismos del reino *fungi*, que incluye setas, mohos y levaduras

De forma más específica . . .

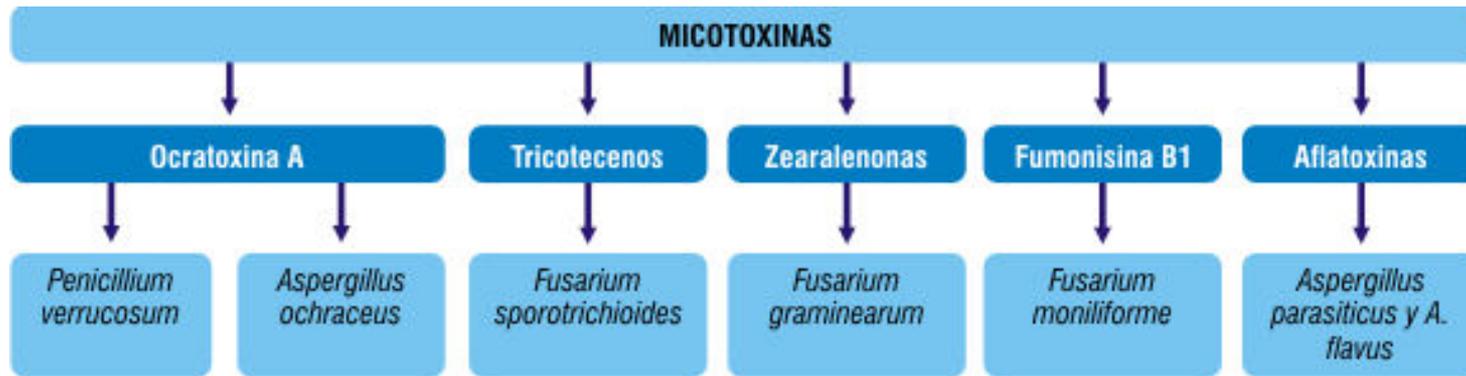
Metabolitos fúngicos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea reduce la actividad, hace enfermar o causa la muerte de animales y personas.

(J.I. Pitt. *What are mycotoxins?* Australian Mycotoxins Newsletter (1996) 7(4) p. 1)

“micotoxicosis”

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Alta incidencia en las cosechas (al menos un 25% están contaminadas)



Micotoxinas de mayor importancia mundial y los correspondientes hongos toxicogénicos productores.

MILLER, J.D. 1994. Conference Report: 6th International Working Conference on Stored-product Protection. Australian Mycotoxin Newsletter 5(2), p. 1- 8.

“micotoxicosis”

Intoxicaciones agudas o crónicas, con efectos teratogénicos, carcinogénicos y mutagénicos. Efectos análogos a los causados por la exposición a pesticidas o residuos de metales pesados.

Tóxicas a muy bajas concentraciones (hipotóxicas), acción acumulativa y con efectos retardados en el tiempo.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

LUGARES POTENCIALES DE GENERACIÓN DE MICOTOXINAS



PRODUCCIÓN - COSECHA



SILO



ELABORACIÓN
DE RACIONES



ZONA DE
ALIMENTACIÓN

Incidencia de forma directa en cualquier momento dentro de la cadena de producción, transporte y manejo de los alimentos o forrajes en el cultivo (previo a la cosecha), o durante el almacenamiento.

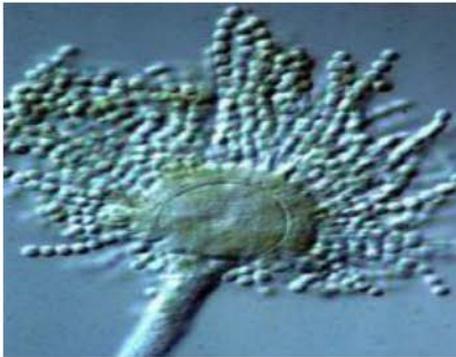
Cadena de producción, transporte y manejo → Micotoxinas como las zearalenonas
Almacenamiento → Aflatoxinas

ACTUACIÓN PREVENTIVA

- PROGRAMAS DE CONTROL (medidas) *
- NORMAS DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

RECOMENDACIONES PARA LA PREVENCIÓN,
EL CONTROL Y LA VIGILANCIA DE LAS MICOTOXINAS
EN LAS FÁBRICAS DE HARINAS Y SÉMOLAS

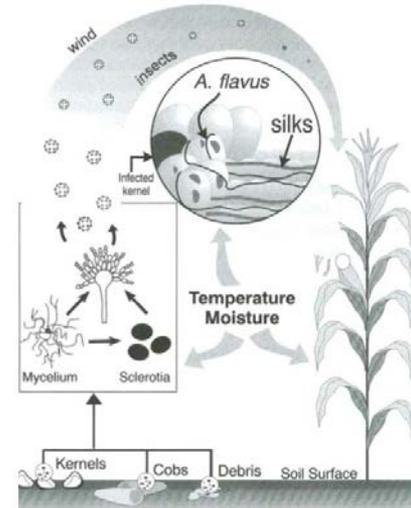


CONTENIDO

1. Presentación
2. Introducción (micotoxinas)
3. Legislación en la UE
4. Medidas de prevención, control y vigilancia
5. Métodos de muestreo y análisis

Tablas

Anexos



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



**PROCEDIMIENTOS
DE MUESTREO
(reglamentados)**

La legislación comunitaria **no establece ningún método de análisis específico para la determinación del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios**, sino que establece unos **criterios generales y específicos** a los que deberá ajustarse el método de análisis en cuestión para poder ser empleado con fines de control oficial del contenido en micotoxinas de los alimentos.

Por ejemplo:

“EN ISO 24333:2009. Cereales y productos derivados. Toma de muestras”

VALIDACIÓN
Requisitos Norma ISO 17025

El tratamiento de las muestras

(muestras representativas)

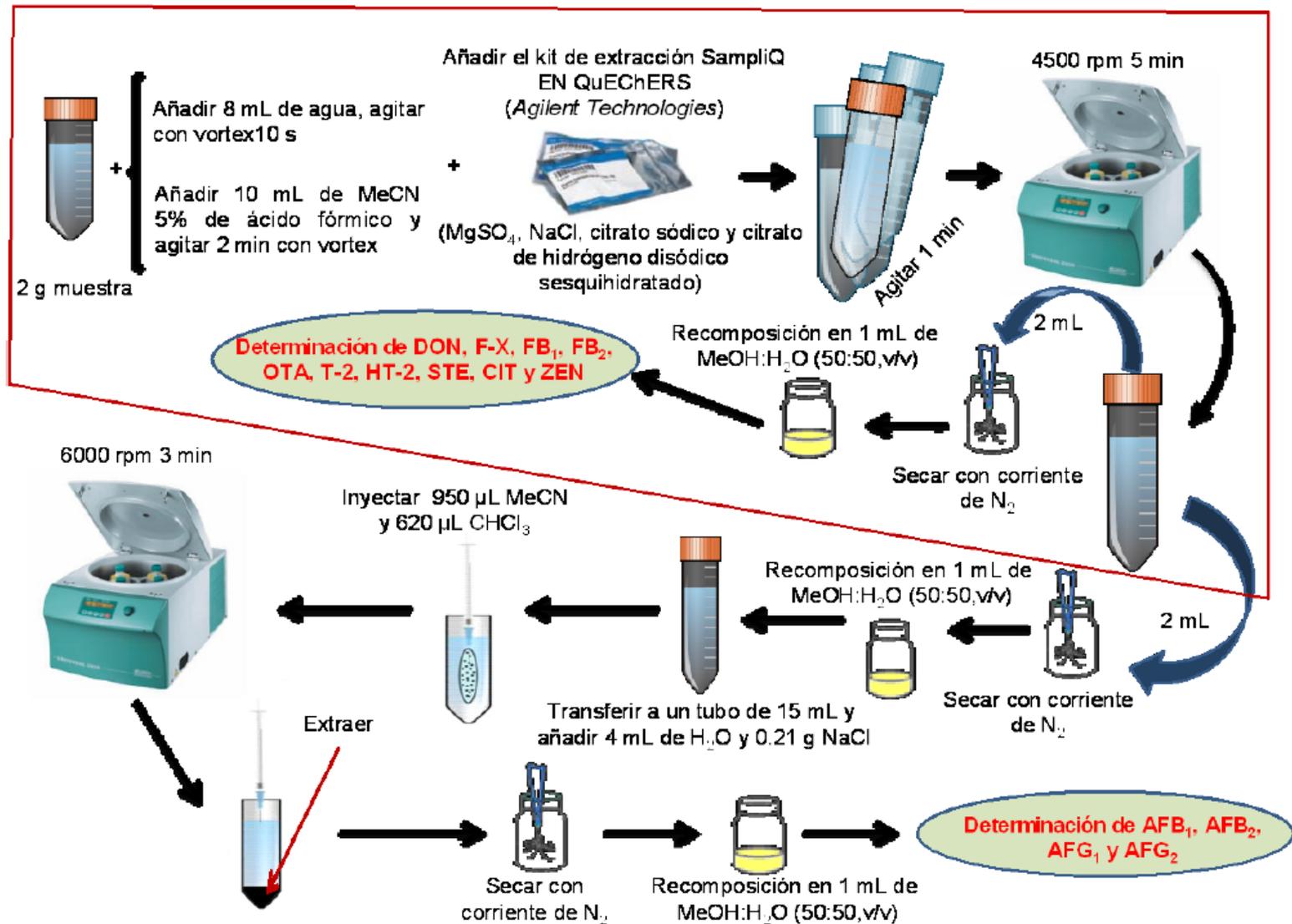
TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO

(preservar la INTEGRIDAD DE LAS MUESTRAS)

HOMOGENEIZACIÓN

**EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN
DE LOS EXTRACTOS**

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Reglamento Comunitario 401/2006 para la determinación de micotoxinas en cereales.
(modificaciones posteriores introducidas por el Reglamento 519/2014)

Anexo II

Criterios de funcionamiento para métodos de confirmación.

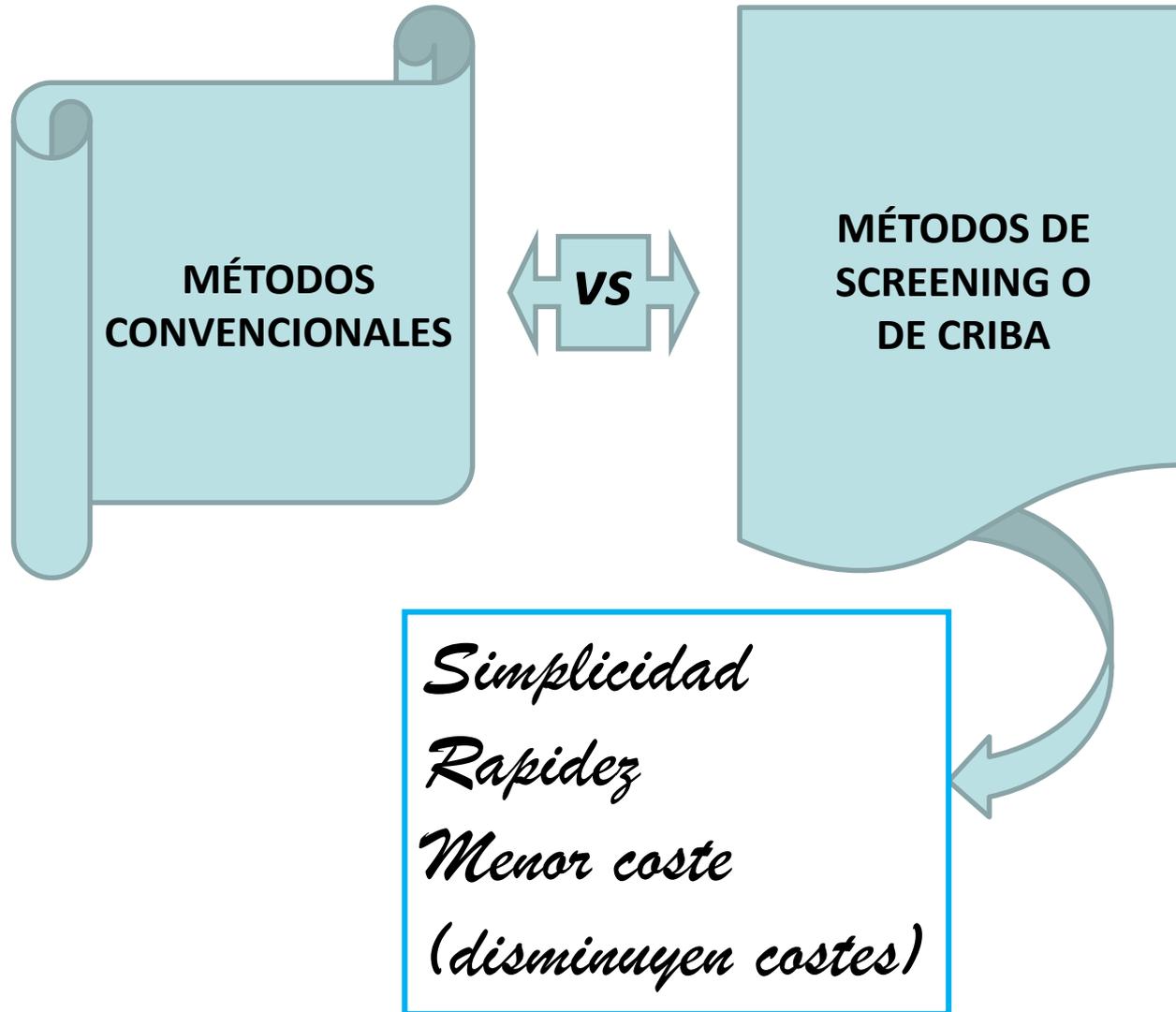
Requieren técnicas analíticas instrumentales que requieren de personal especializado.

Requisitos específicos para métodos semicuantitativos de cribado.

Los requisitos específicos se aplican a los **métodos cuyo resultado de medición es un valor numérico**, por ejemplo una respuesta (relativa) de un lector de nivel, una señal de cromatografía líquida acoplada a espectrografía de masas, etc., y que se someten a las estadísticas normales. Los requisitos **no se aplican a los métodos que no dan valores numéricos** (por ejemplo, solo ausente o presente), **que requieren diferentes planteamientos de validación.**

Características de los métodos de screening

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



MÉTODOS DE SCREENING O DE CRIBA

Respuesta binaria

Análisis cualitativo

Identificación → INFORMACIÓN CUALITATIVA

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN
PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

***Métodos de
screening***

*Métodos rápidos y de bajo coste
empleados para analizar un gran
número de muestras
(análisis de rutina)*

SCREENING DE MUESTRAS

SCREENING DE ANALITOS

Test kits

Spot tests

Within-laboratory screening

Field tests:

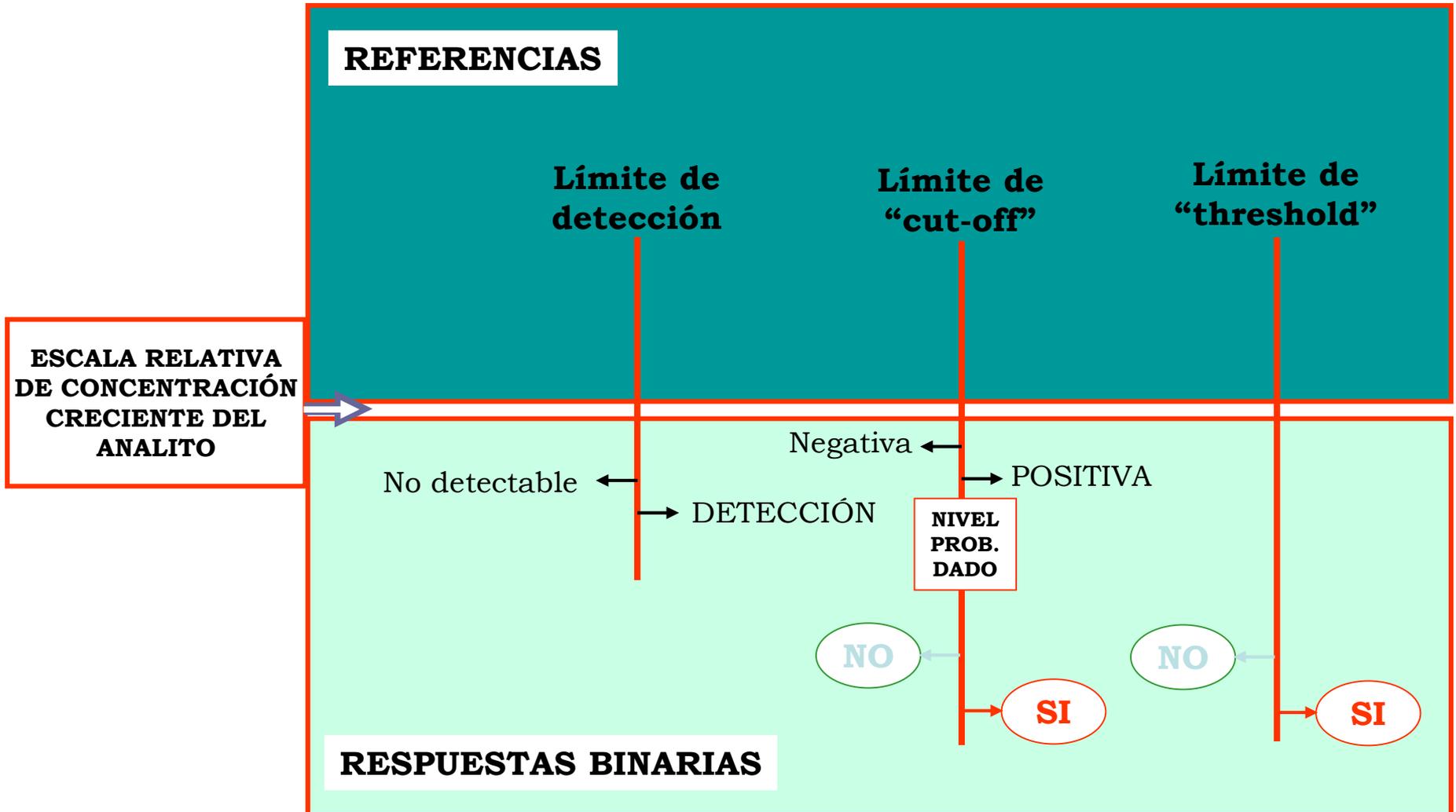
On-site tests

On-site equipment

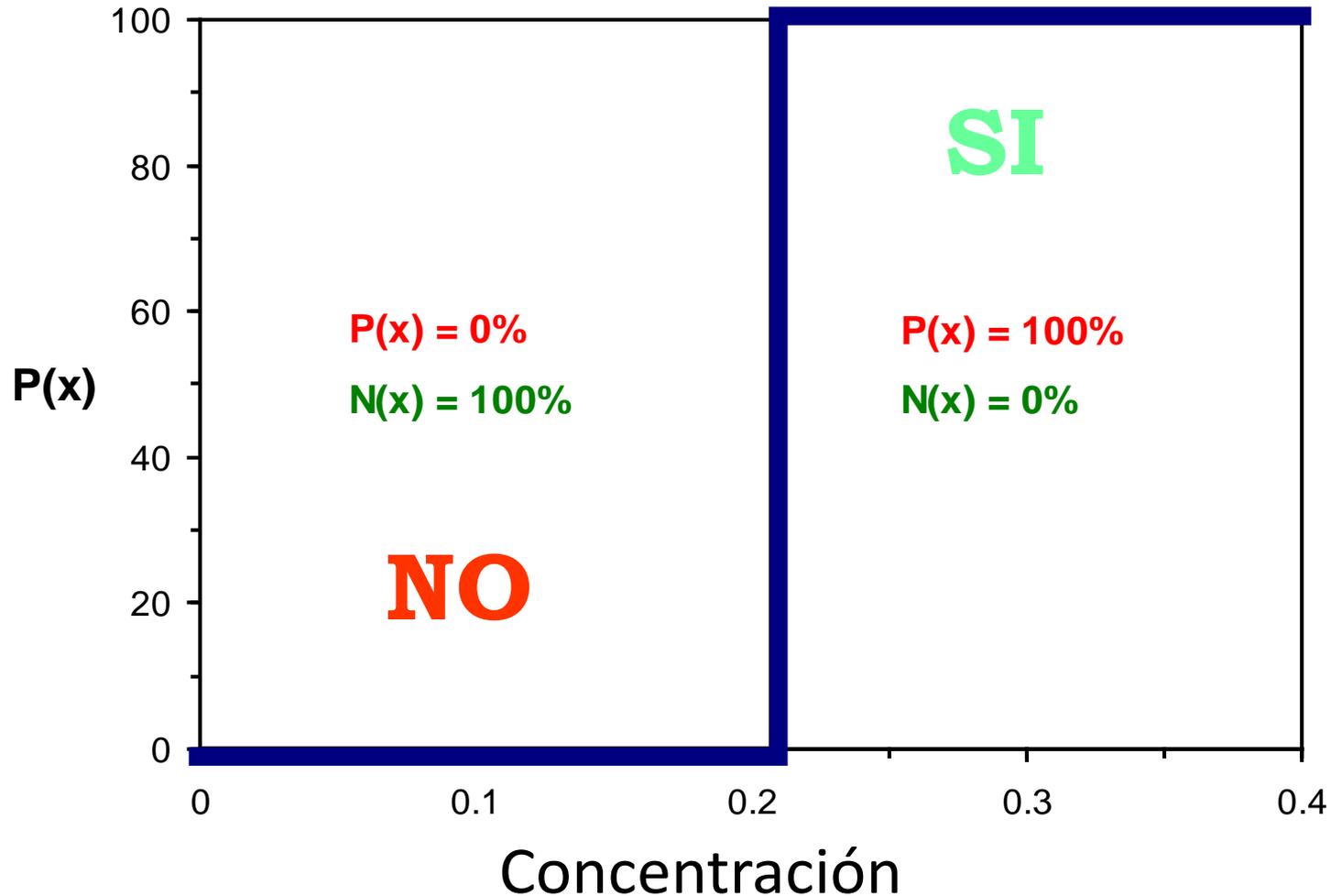
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



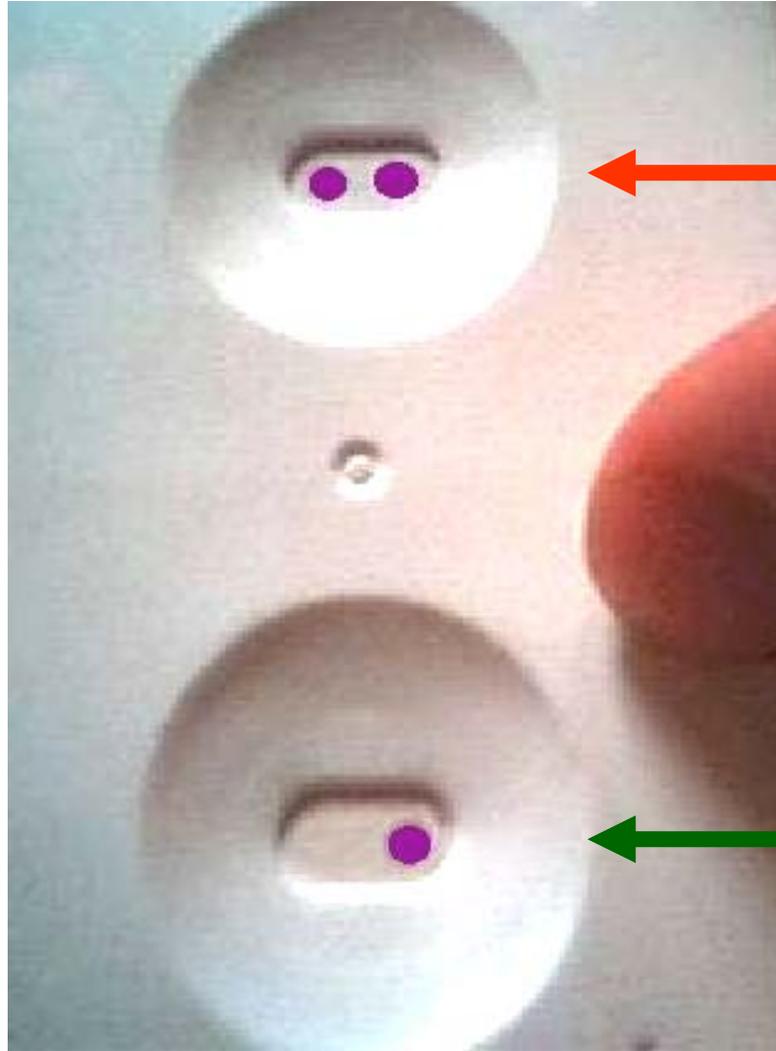
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



La respuesta binaria



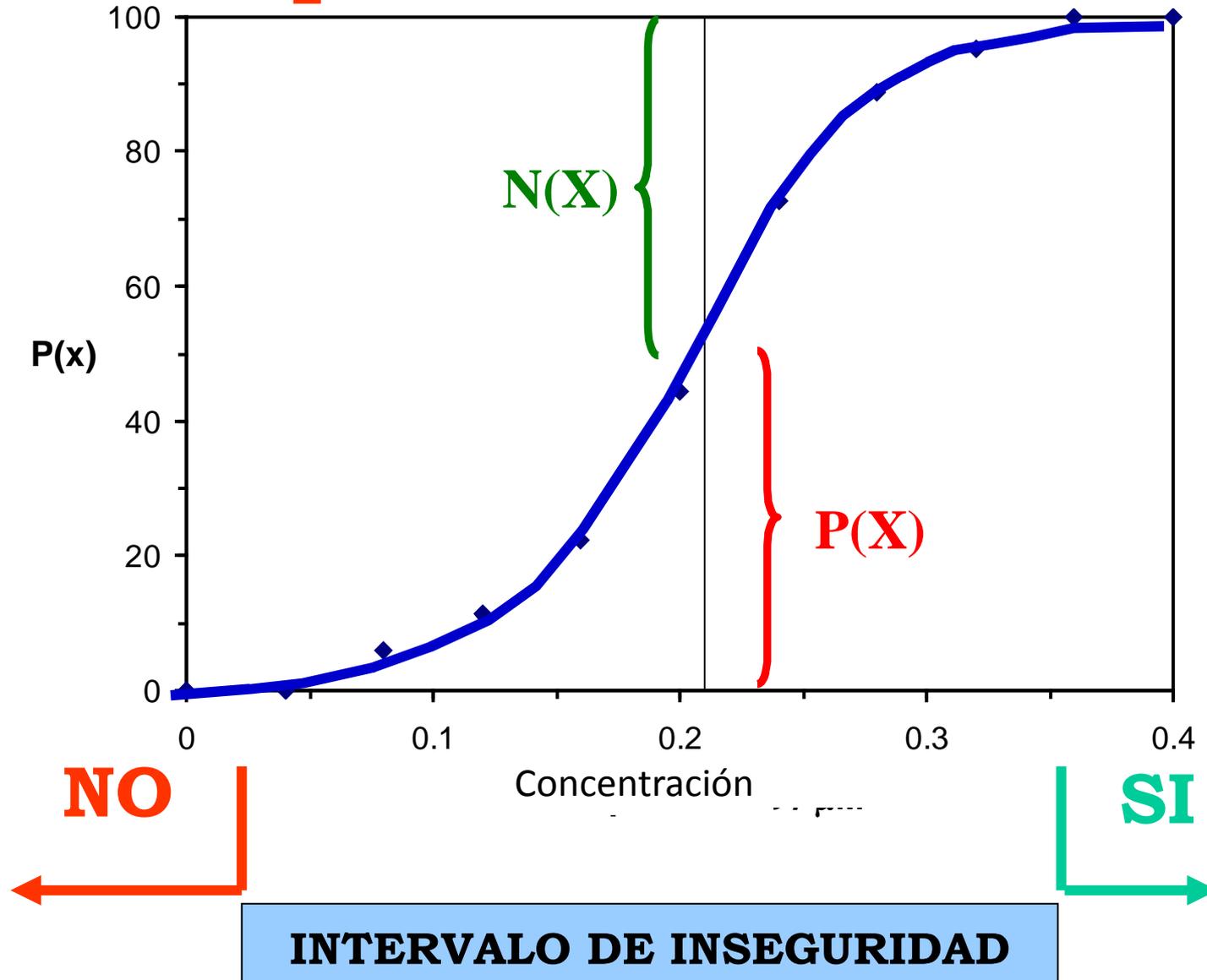
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



POSITIVO

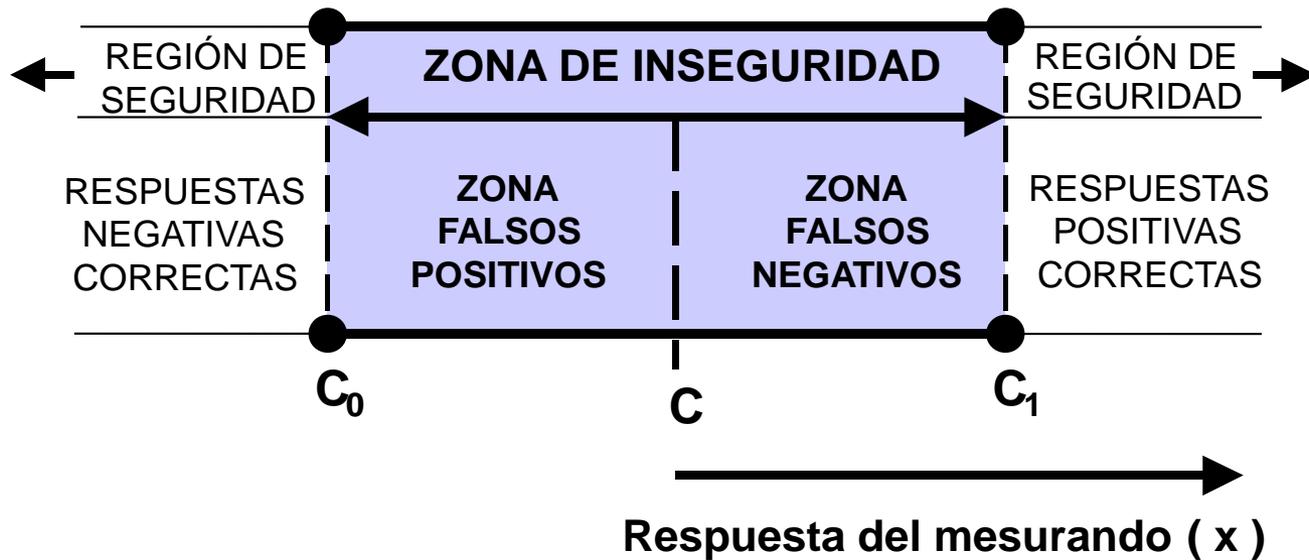
NEGATIVO

La respuesta binaria REAL



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

REGIÓN DE INSEGURIDAD vs. INCERTIDUMBRE



Término metrológico	PROPIEDAD DE		RANGO	INTERVALO DONDE	
	RESULTADOS CUANTITATIVOS	RESPUESTAS BINARIAS SI/NO		RESULTADOS PUEDEN ESTAR	ERRORES SE PRODUCEN
INSEGURIDAD		X	X		X
INCERTIDUMBRE	X		X	X	

MÉTODOS CUALITATIVOS DE RESPUESTA BINARIA

PRUEBAS DE FIABILIDAD EN RELACIÓN CON UNA SEÑAL DE CORTE (TL):

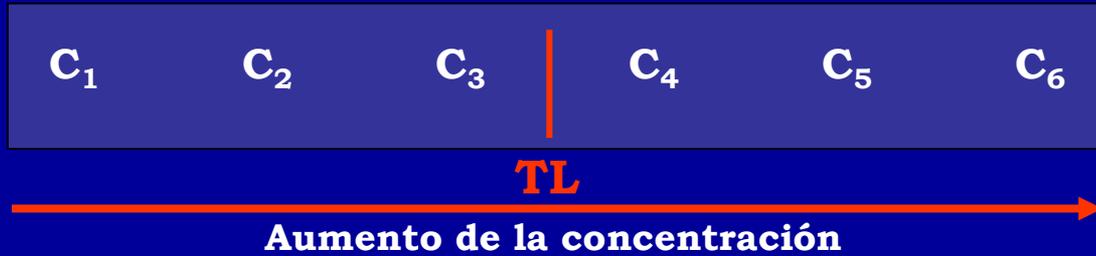
% Falsos positivos: $FP(\%) = \frac{N^{\circ} \text{ falsos positivos}}{\text{Total negativos reales}} \times 100$

% Falsos negativos: $FN(\%) = \frac{N^{\circ} \text{ falsos negativos}}{\text{Total positivos reales}} \times 100$

FIABILIDAD (%) = 100 – FP(%) – FN(%)

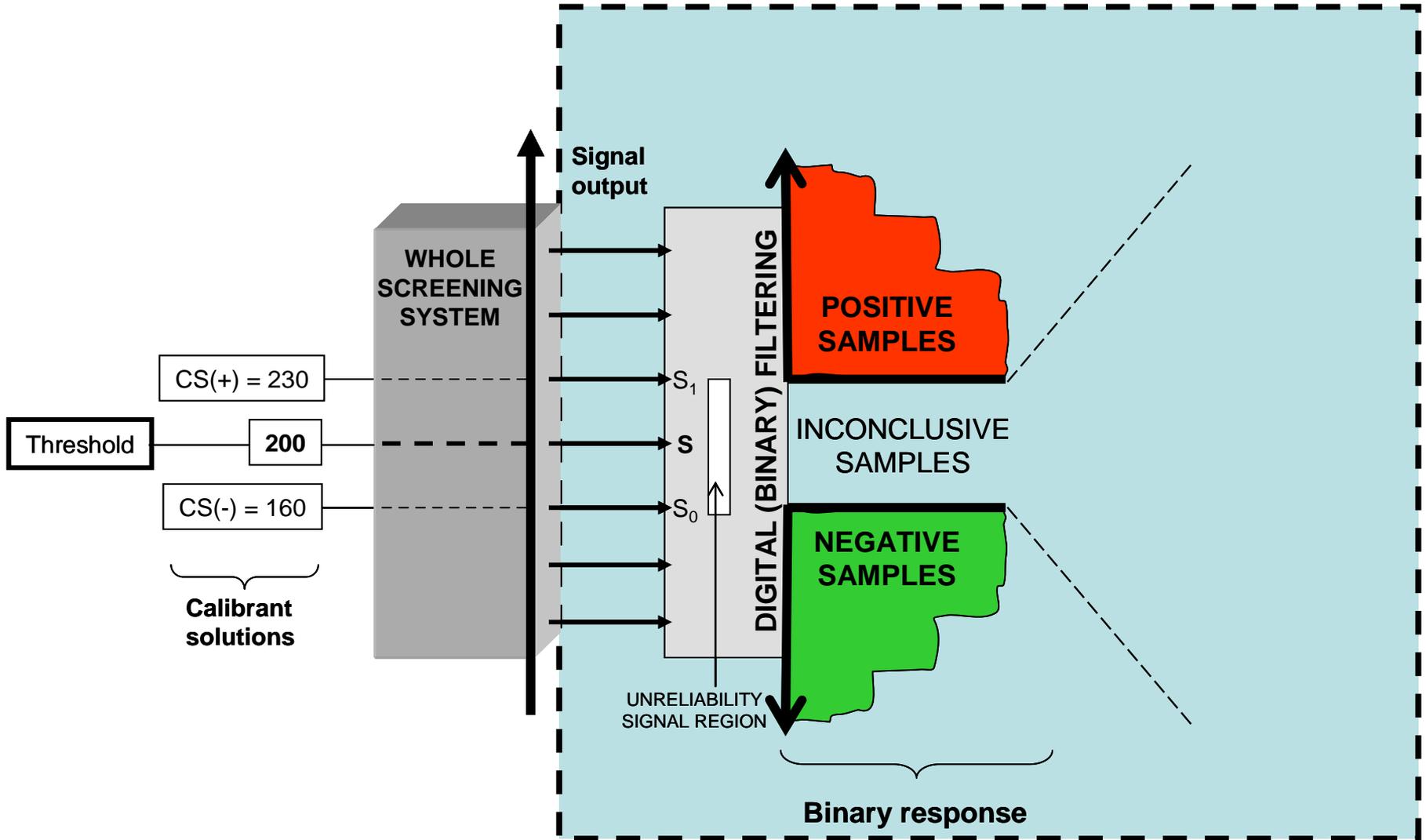
Ejemplo de aplicación:

6 muestras de control a 6 niveles distintos del analito (10 réplicas de cada una):



REPLICATES	CONCENTRATION	CORRECT RESULTS		CORRECT RESPONSE	RESULTS OF CANDIDATE METHOD		FALSE		% FALSE POSITIVES	% FALSE NEGATIVES	FIABILIDAD (%)
		YES	NO		YES	NO	POSITIVES	NEGATIVES			
10	C ₁	0	10	↑	0	10	0	0	0%	0%	100
10	C ₂	0	10	NO	2	8	2	0	(2/10) 100 = 20%	0%	80
10	C ₃	0	10	↓	5	5	5	0	(5/10) 100 = 50%	0%	50
10	C ₄	10	0	↑	6	4	0	4	0%	(4/10) 100 = 40%	60
10	C ₅	10	0	YES	8	2	0	2	0%	(2/10) 100 = 20%	80
10	C ₆	10	0	↓	10	0	0	0	0%	0%	100

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



Aplicaciones seleccionadas para el control de micotoxinas

Métodos rápidos para el control de micotoxinas

INMUNOQUÍMICOS:

Radio inmunoensayo (RAI)

Inmunoenzimáticos (ELISA)

(Columnas de inmunoafinidad, IAC)

**CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA
(TLC)**

En alta resolución: HPTLC

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN
PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

ELISA ("Enzyme Linked Inmuno Sorbent Assay")

(ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)



Antígeno (micotoxina)

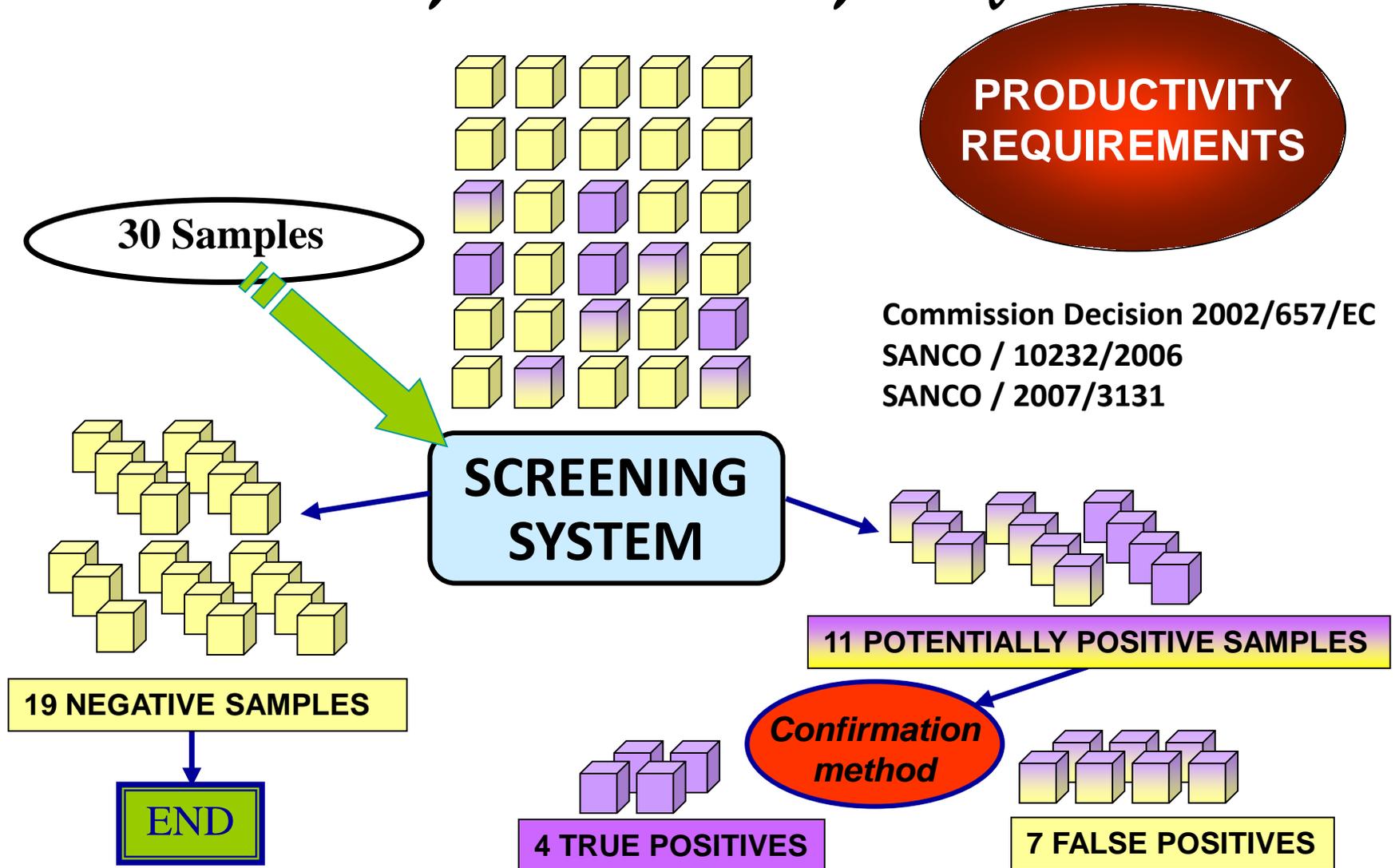
+ CONJUGADO ANTICUERPO-ENZIMA
+ SUSTRATO



Antígeno (micotoxina)

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN
PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

La estrategia de screening-confirmación



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

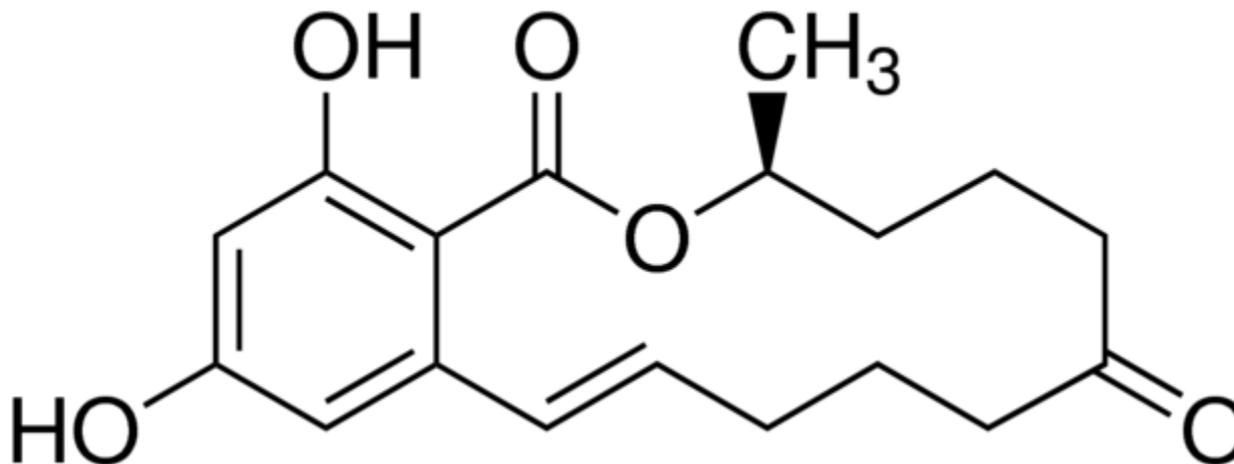
Anal Bioanal Chem (2008) 391:709–714

DOI 10.1007/s00216-008-2047-3

TECHNICAL NOTE

Validation of a screening method for rapid control of macrocyclic lactone mycotoxins in maize flour samples

Mohammed Zougagh • Helena Téllez •
Alberto Sánchez • Manuel Chicharro • Angel Ríos

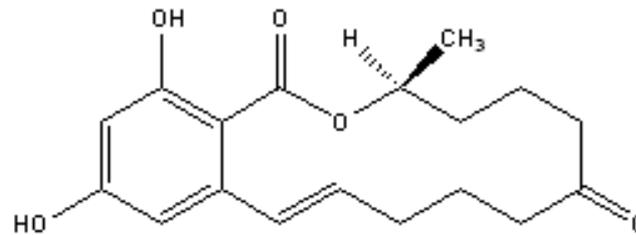


Zearalenona (lactona del ácido 6-[10-hidroxi-6-oxo-trans-1-undecenil]-B-resorcíclico)
ZON – También micotoxina F2

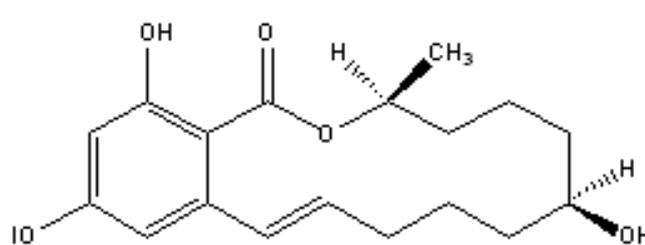
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Límite establecido por la legislación europea: 0,2 mg kg⁻¹ referido a la zearalenona

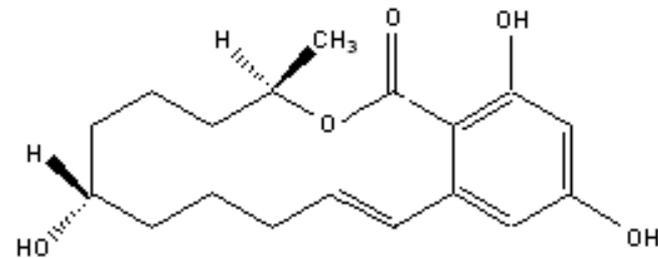
Este límite fue tomado como señal de corte para validar el método de screening
Los metabolitos naturales de ZON fueron también incluidos en el estudio de validación



Zearaleone (ZON)



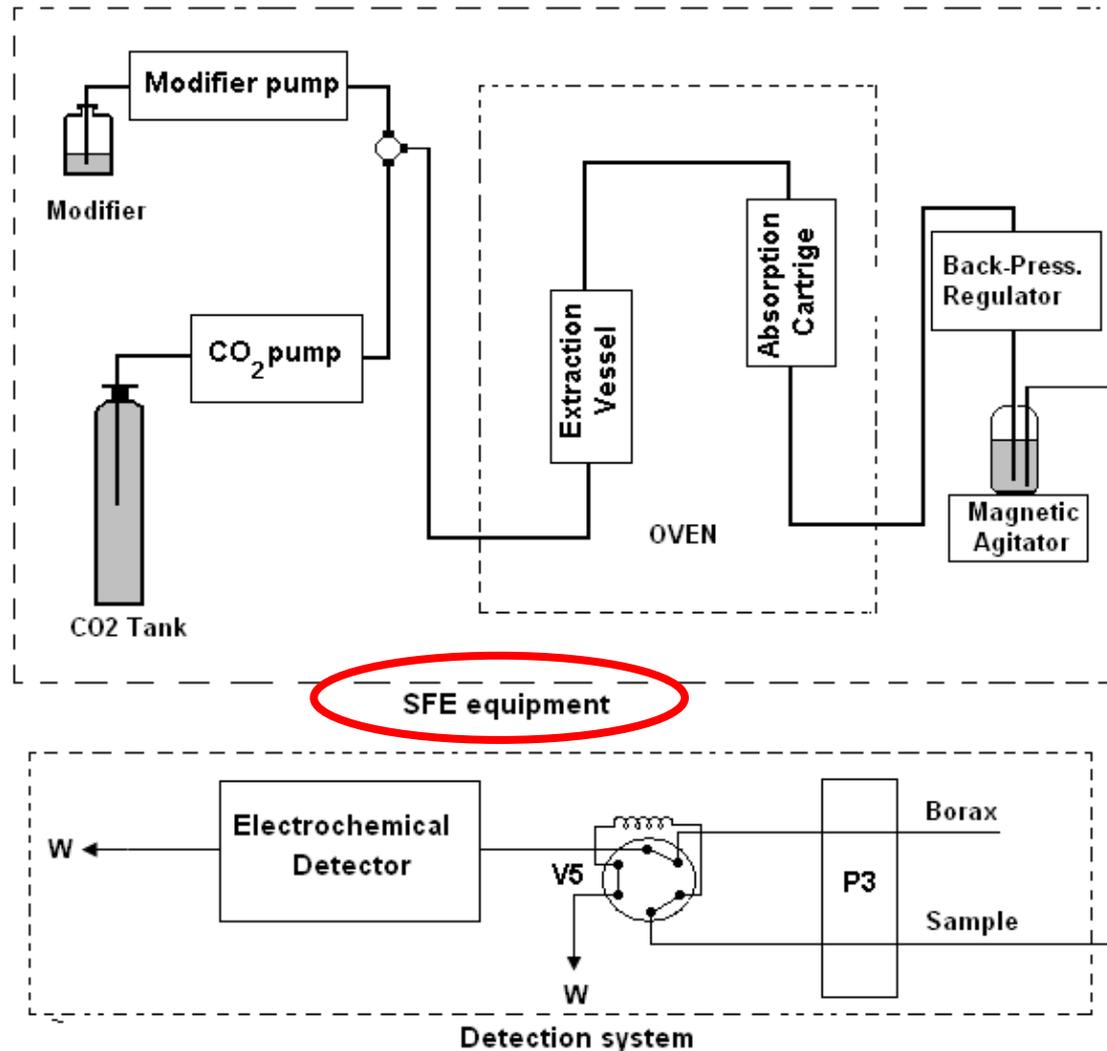
α -zearalenol (α -ZOL)



β -zearalenol (β -ZOL)

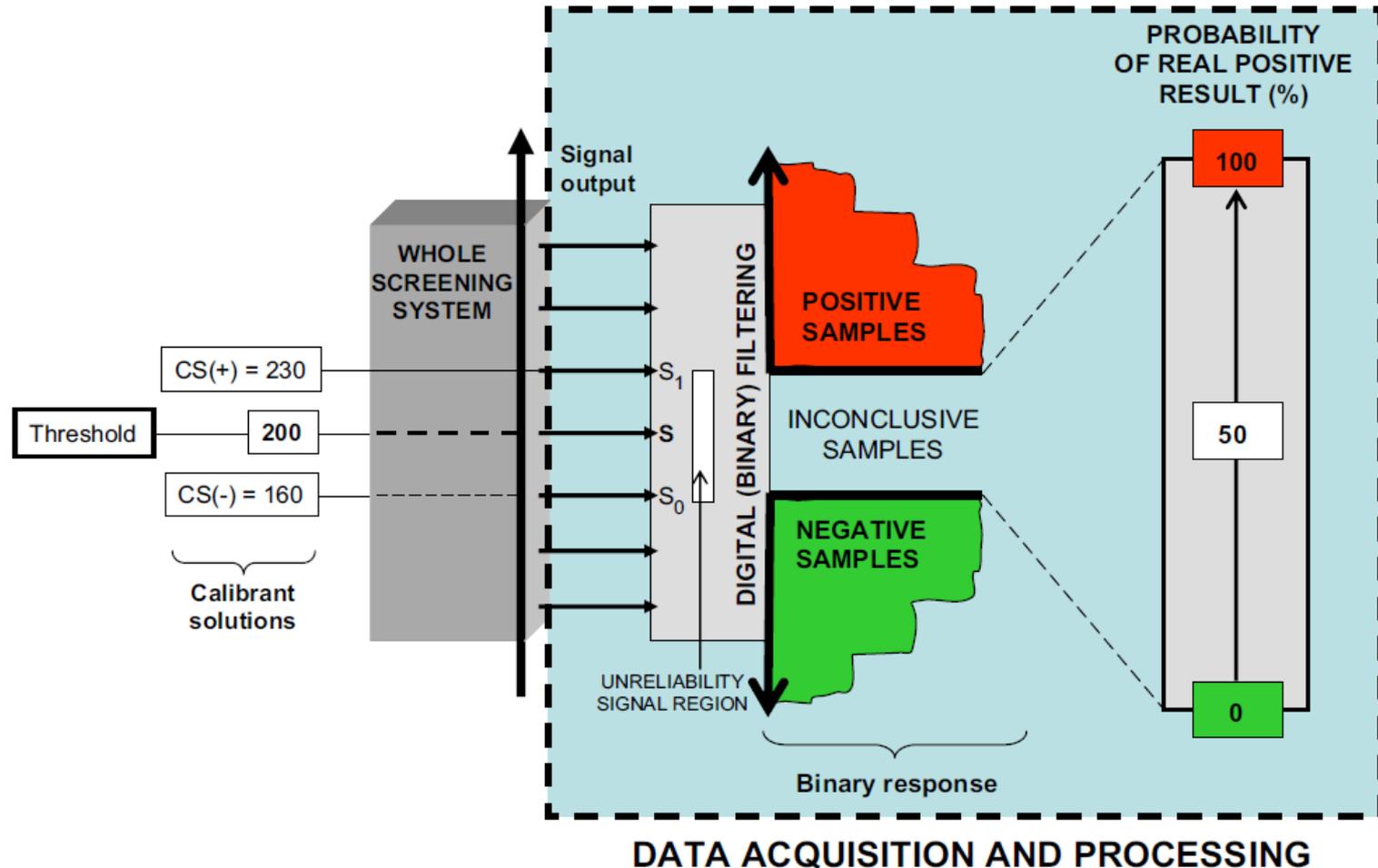
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Contribuciones a simplificar el tratamiento de muestra



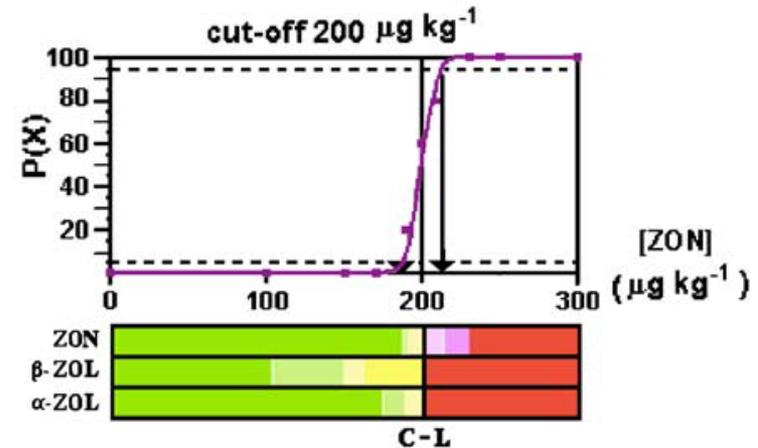
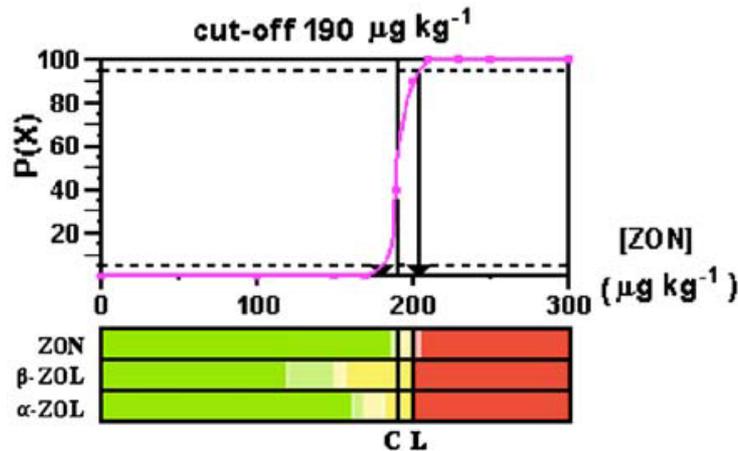
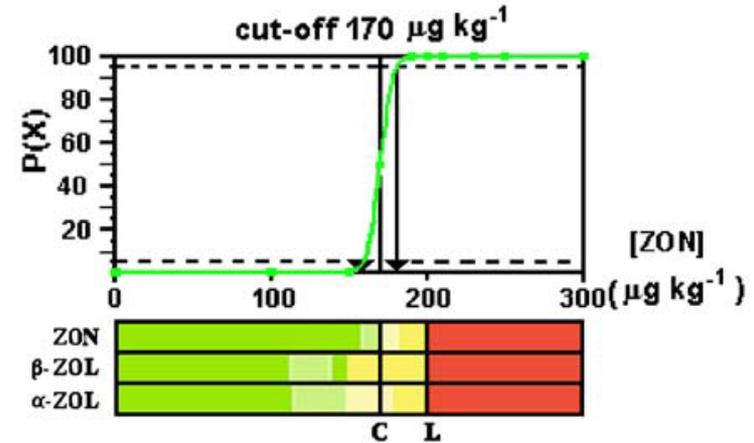
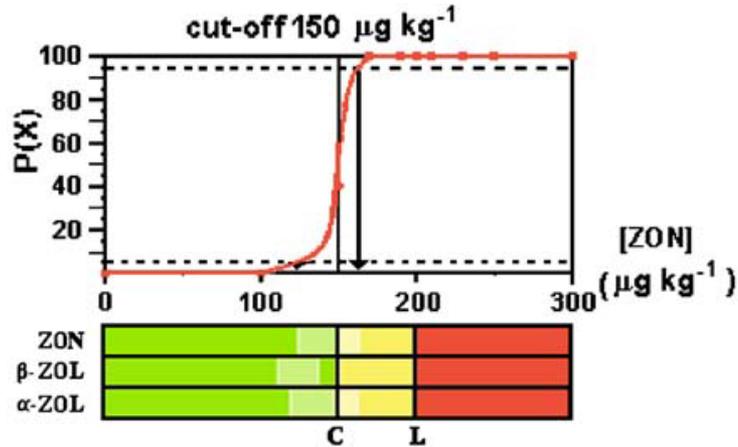
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

El sistema de screening (detección electroquímica)



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

El ajuste a la señal de corte ("threshold")



Respuestas positivas en ROJO. Respuestas negativas en VERDE.
Falsos positivos en AMARILLO. Falsos negativos en VIOLETA.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

C ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Reliability (ZON as reference)			Ampliation to legal limit	Probability of real positive (%)	
	Threshold	Cut-off = 190	Cut-off = 170	True responses (*)	ZON + legal limit as reference	Amplification to β -ZOL
250	100	100	100		100	100
240	100	100	100		100	100
230	100	100	100		100	100
220	100	100	100		100	
210	80	100	100		100	75
200	60	90	100	P = 100%	100	
190	60	40	100		75	
180	80	80	90		50	25
170	100	100	60		25	
160	100	100	100	N = 100%	0	0
150	100	100	100		0	0
140	100	100	100		0	0

(*) P = positive samples; N = negative samples.

Maize Sample	Concentrations added ($\mu\text{g kg}^{-1}$)				Screening results
	Total	ZON	α -ZOL	β -ZOL	
1	0	0	0	0	Negative (100%)
2	150	150	0	0	Negative (100%)
3	150	0	150	0	Negative (100%)
4	150	0	0	150	Positive (21.4%)
5	200	200	0	0	Positive (57.1%)
6	200	0	200	0	Positive (62.8%)
7	200	0	0	200	Positive (99.2%)
8	250	250	0	0	Positive (100%)
9	250	0	250	0	Positive (100%)
10	250	0	0	250	Positive (100%)
11	150	50	50	50	Negative (100%)
12	150	100	50	0	Negative (100%)
13	150	0	75	75	Positive (3.9%)
14	350	50	200	100	Positive (100%)
15	275	100	100	75	Positive (100%)
16	225	75	100	50	Positive (100%)
17	400	125	150	125	Positive (100%)
18	190	50	60	80	Positive (62.3%)
19	325	50	75	200	Positive (100%)
20	400	100	225	75	Positive (100%)
21	300	200	50	50	Positive (100%)
22	170	100	50	20	Positive (19.1%)
23	160	150	0	10	Positive (2.4%)
24	375	150	125	100	Positive (100%)
25	100	25	35	40	Negative (100%)
26	100	0	0	100	Negative (100%)
27	425	225	50	150	Positive (100%)
28	525	250	200	75	Positive (100%)
29	50	0	25	25	Negative (100%)
30	120	40	40	40	Negative (100%)

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Maize Sample	Screening results	Concentrations found ($\mu\text{g kg}^{-1}$) ^(*)				Confirmatory results ^(**)
		ZON	α -ZOL	β -ZOL	Total	
4	Positive (21.4%)	0	0	159.6	159.6	Negative
5	Positive (57.1%)	208.1	0	0	208.1	At the limit
6	Positive (62.8%)	0	199.3	0	199.3	At the limit
7	Positive (99.2%)	0	0	207.8	207.8	At the limit
8	Positive (100%)	250	0	0	262.2	Positive
13	Positive (3.9%)	0	81.1	72.8	153.9	Negative
18	Positive (62.3%)	44.7	61.5	81.7	187.9	At the limit
22	Positive (19.1%)	104.0	51.0	20.7	175.7	Negative
23	Positive (2.4%)	148.3	0	9.5	157.8	Negative
24	Positive (100%)	145.4	117.6	103.5	366.5	Positive
27	Positive (100%)	225.4	53.1	159.6	438.1	Positive

^(*) Results obtained by the chromatographic method reported in ref. [23].

^(**) Conclusions obtained by applying t test at 95% of confidence level.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



Available online at www.sciencedirect.com



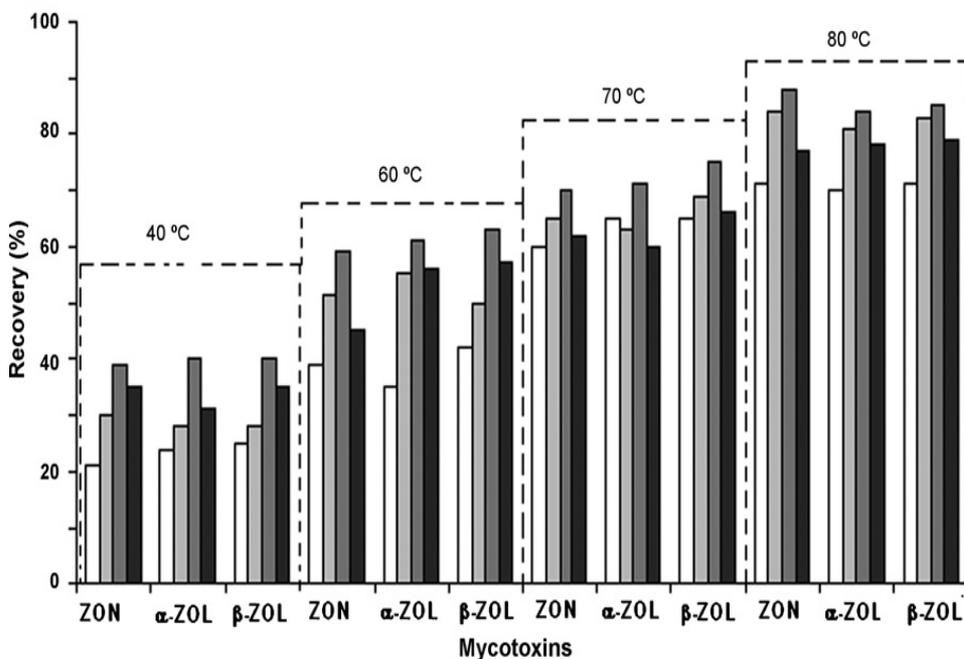
Journal of Chromatography A, 1177 (2008) 50–57

JOURNAL OF
CHROMATOGRAPHY A

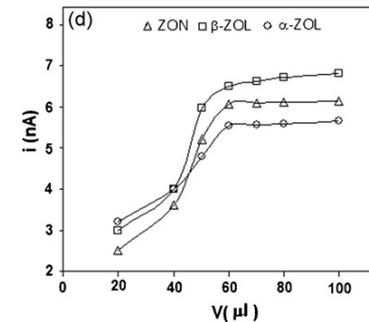
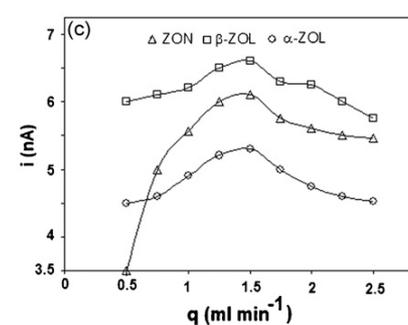
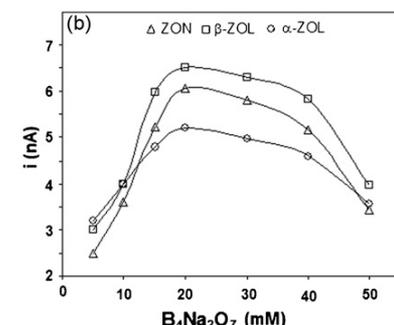
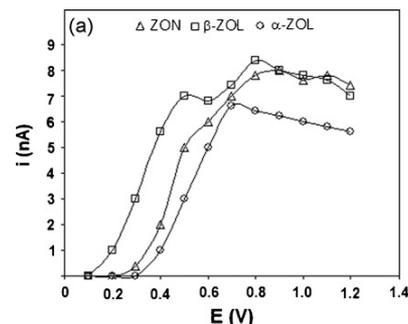
www.elsevier.com/locate/chroma

Supercritical fluid extraction of macrocyclic lactone mycotoxins in maize flour samples for rapid amperometric screening and alternative liquid chromatographic method for confirmation

Mohammed Zougagh, Ángel Ríos*

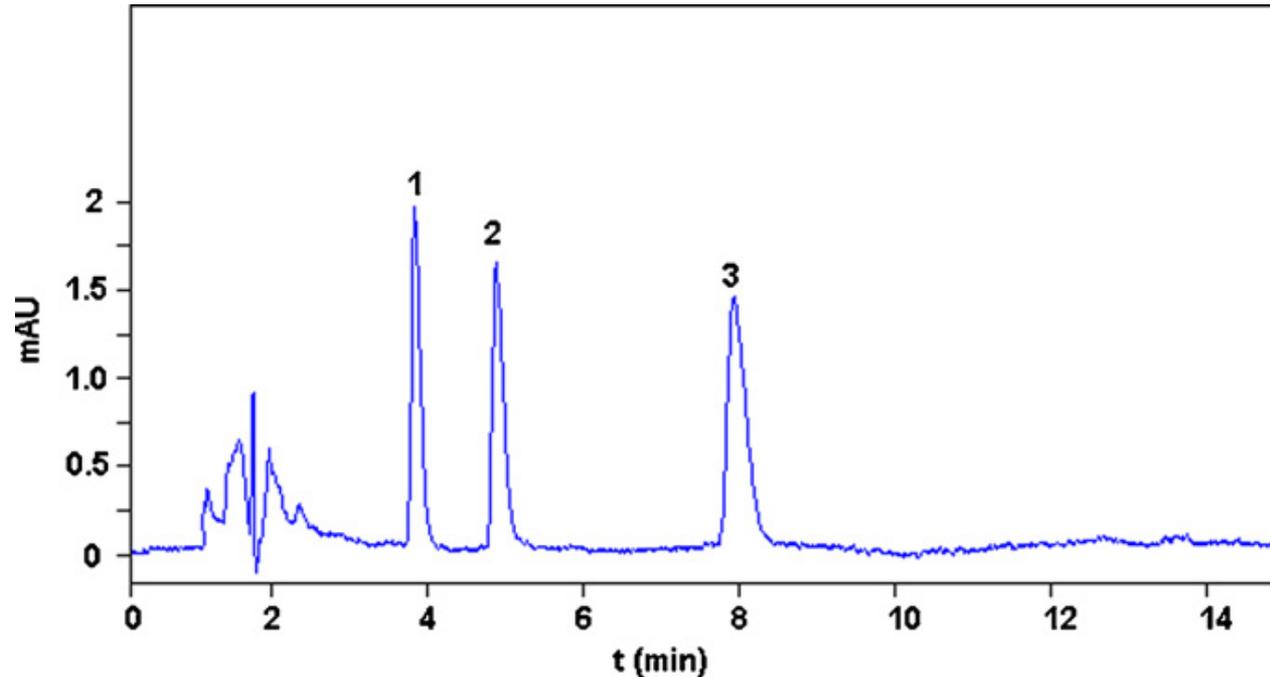


EXTRACCIÓN



DETECCIÓN

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



Confirmación mediante HPLC (1) β -ZOL, (2) α -ZOL and (3) ZON

Figures of merit for the confirmation method

Mycotoxins	Linear range ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	$Y = aX + b$	R^2	$S_{y/x}$	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD (%)
ZON	38–300	$Y = (0.0251 \pm 0.0004)X + (0.2774 \pm 0.0669)$	0.9994	0.0779	9	31	4.5
α -ZOL	38–300	$Y = (0.0265 \pm 0.0003)X + (0.4479 \pm 0.0581)$	0.9996	0.0676	8	26	3.9
β -ZOL	30–236	$Y = (0.0491 \pm 0.0018)X + (0.6241 \pm 0.2647)$	0.9985	0.3082	19	63	5.2

A: slope; b: intercept; R: regression coefficient; $S_{y/x}$: standard deviation of residuals; LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification, RSD: relative standard deviation.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

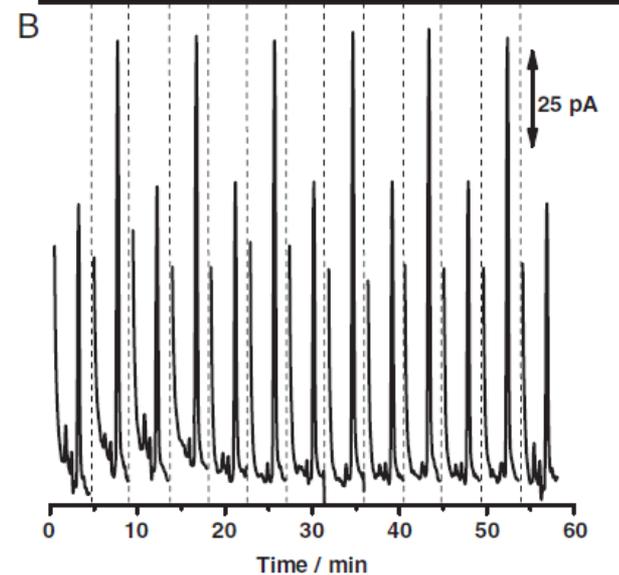
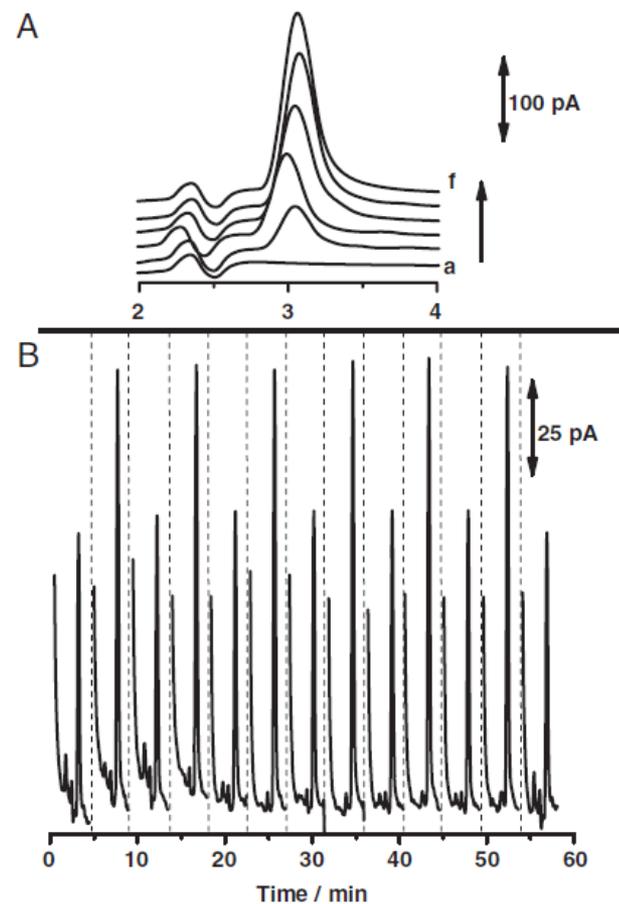
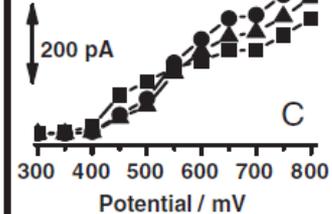
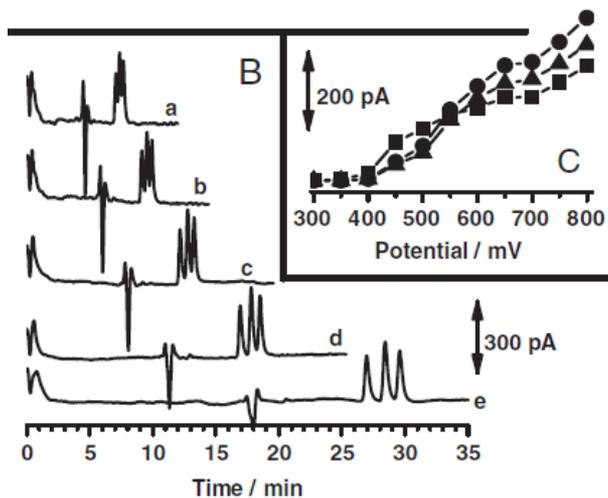
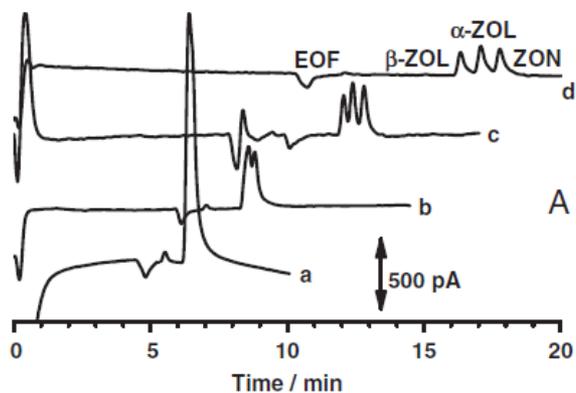
Electrophoresis 2009, 30, 499–506

499

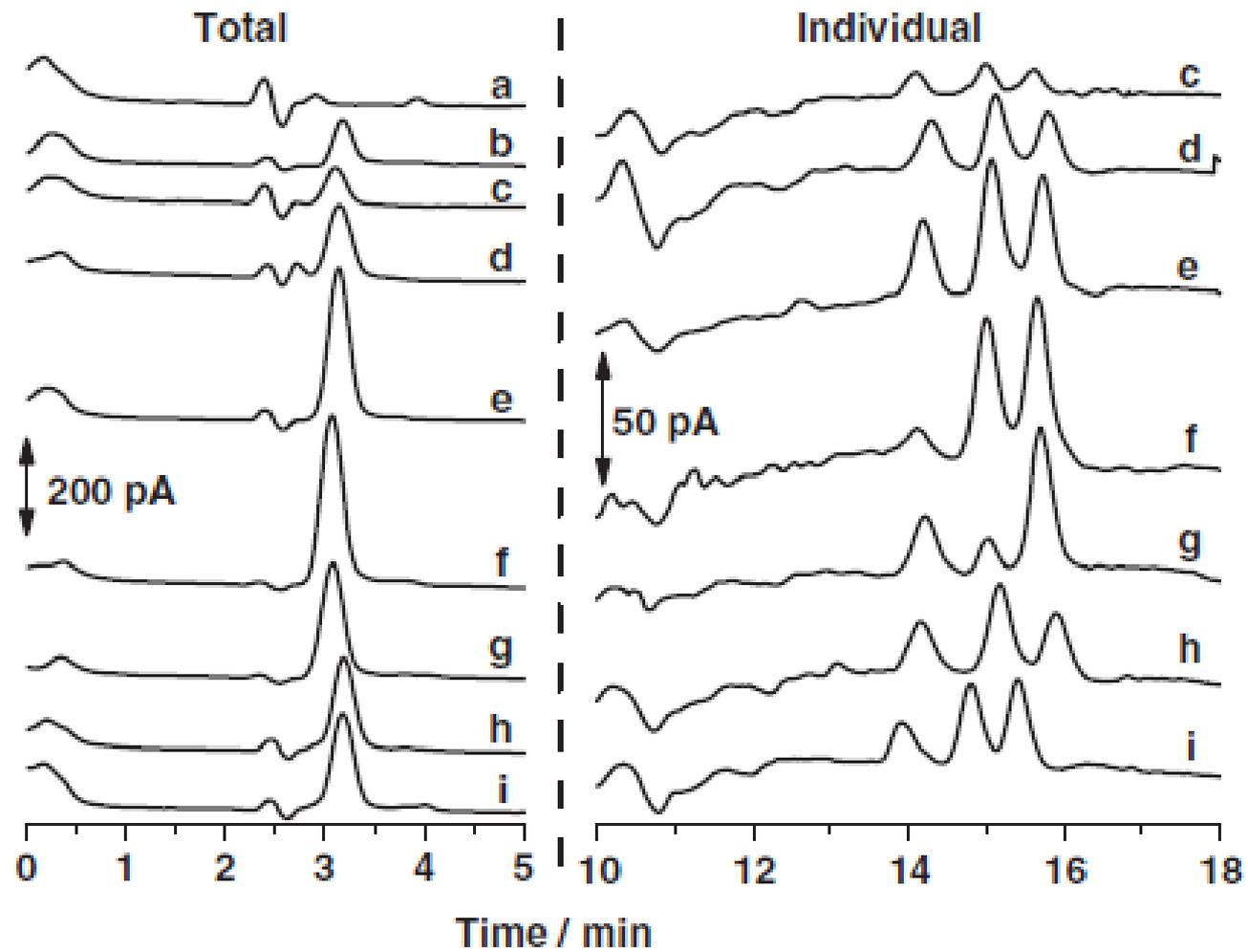
Alberto Sánchez Arribas¹
Esperanza Bermejo¹
Antonio Zapardiel²
Helena Téllez³
Juana Rodríguez-Flores³
Mohammed Zougagh³
Ángel Ríos³
Manuel Chicharro¹

Research Article

Screening and confirmatory methods for the analysis of macrocyclic lactone mycotoxins by CE with amperometric detection



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Journal of Chromatography A, 1212 (2008) 54–60



Contents lists available at ScienceDirect

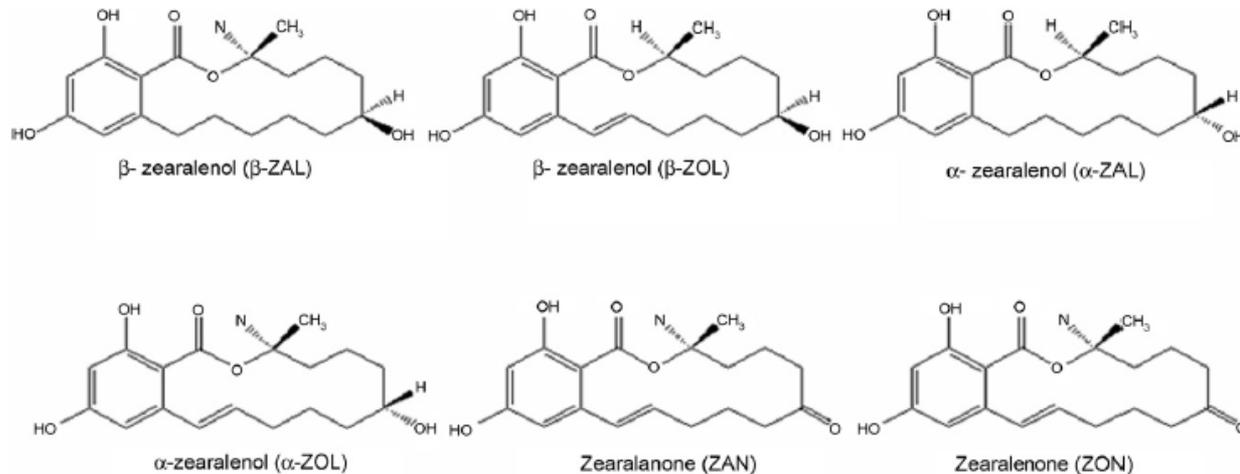
Journal of Chromatography A

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/chroma

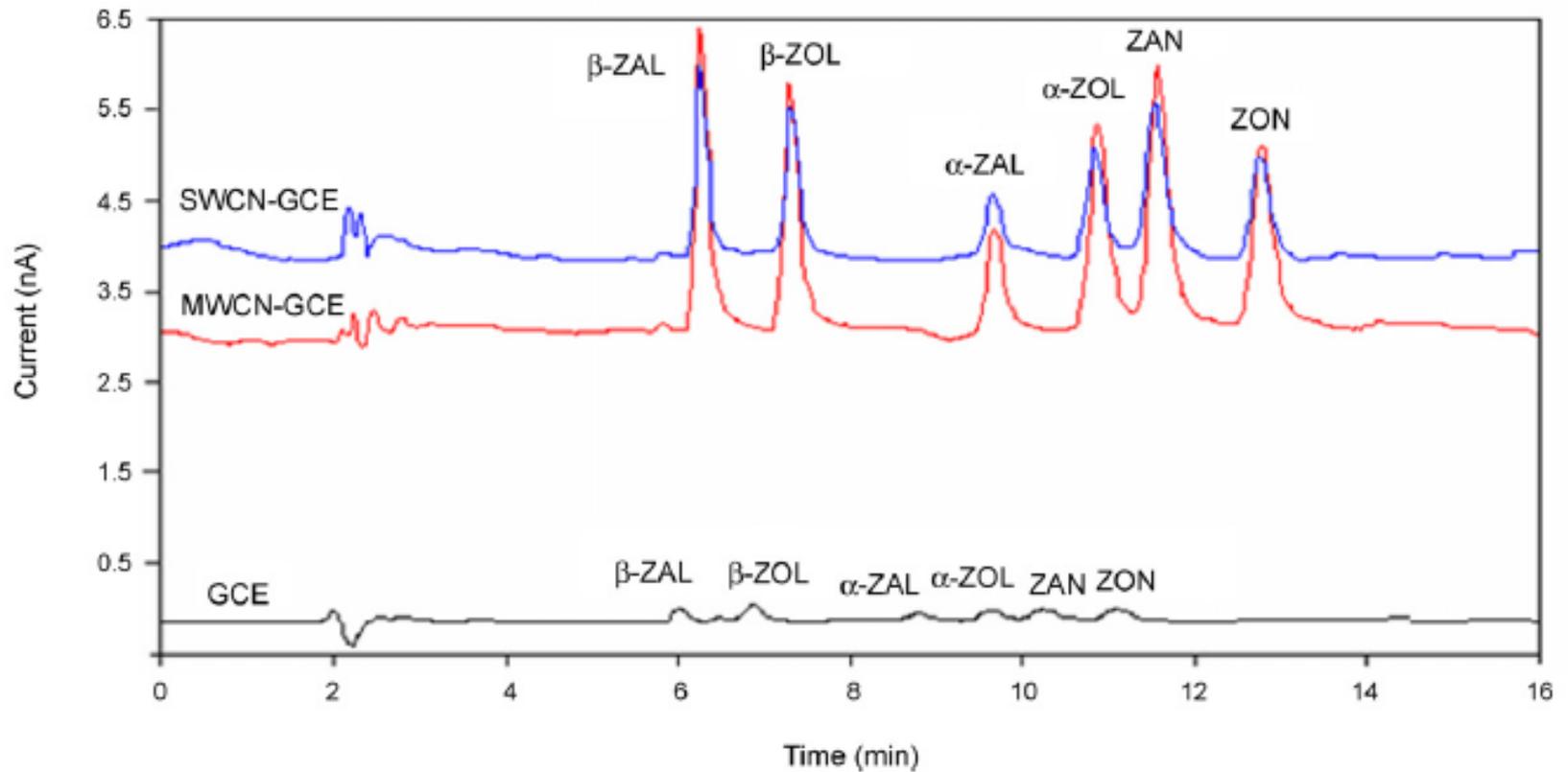


Determination of zearalenone and its metabolites in urine samples by liquid chromatography with electrochemical detection using a carbon nanotube-modified electrode

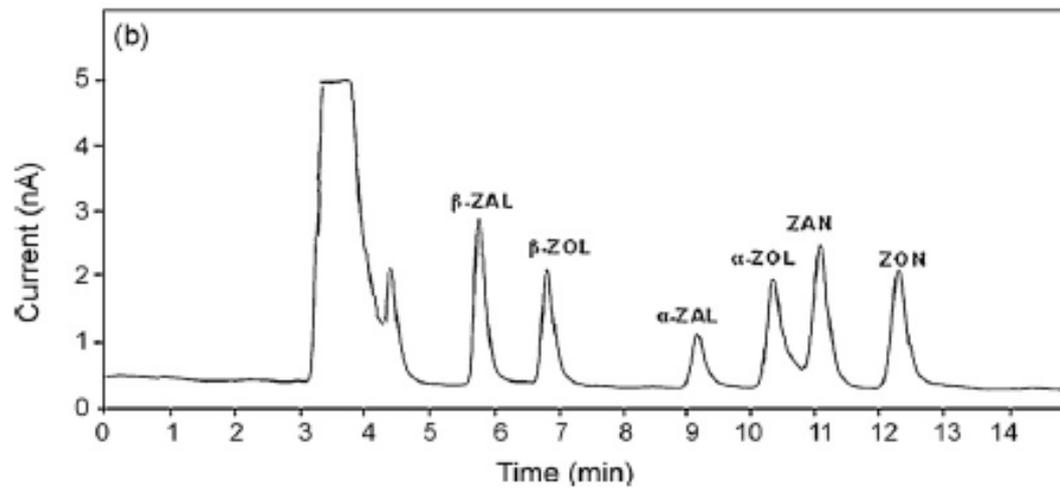
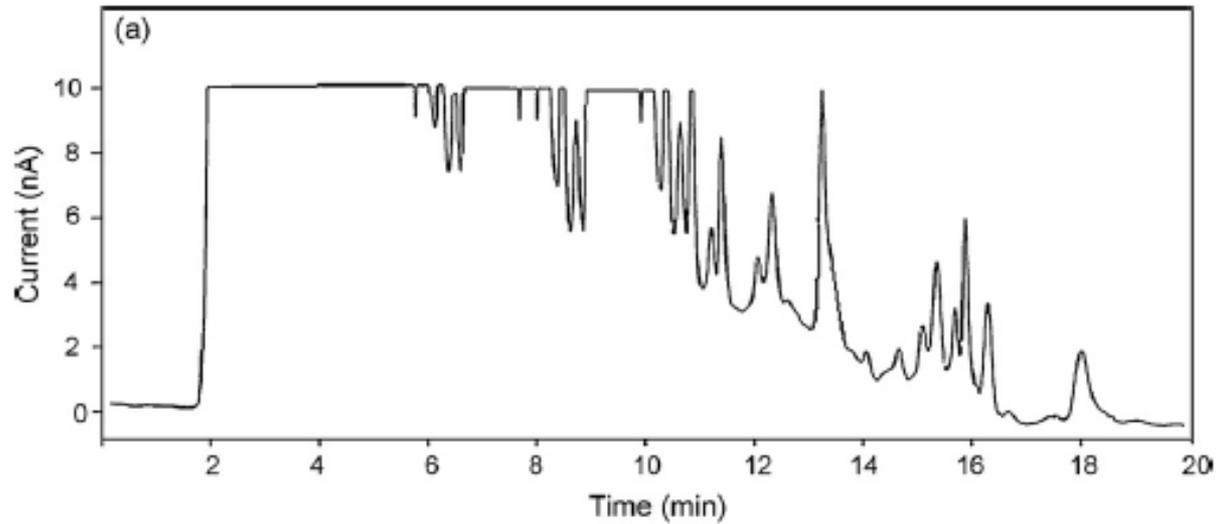
Fernando de Andrés, Mohammed Zougagh, Gregorio Castañeda, Angel Ríos*



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



ELSEVIER

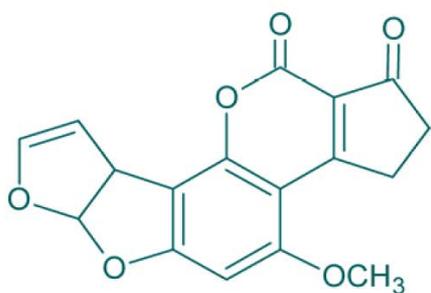
Journal of Chromatography A, 967 (2002) 303–314

JOURNAL OF
CHROMATOGRAPHY A

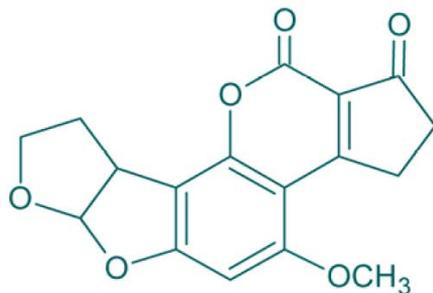
www.elsevier.com/locate/chroma

Screening of aflatoxins in feed samples using a flow system coupled to capillary electrophoresis

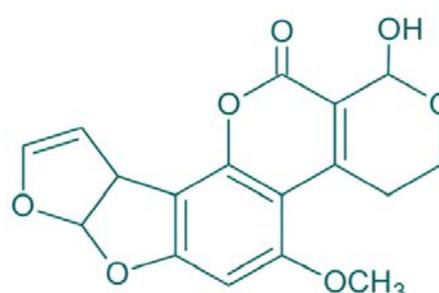
R. Peña^a, M.C. Alcaraz^b, L. Arce^b, A. Ríos^b, M. Valcárcel^{b,*}



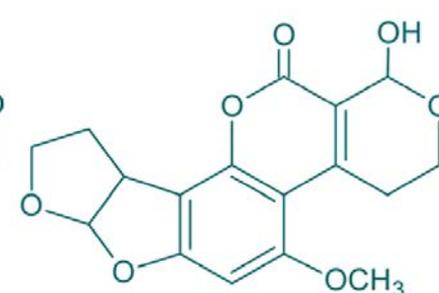
Aflatoxina B₁



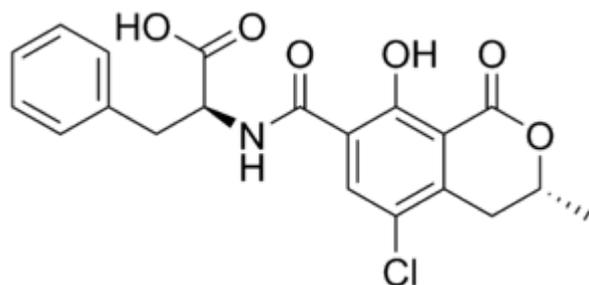
Aflatoxina B₂



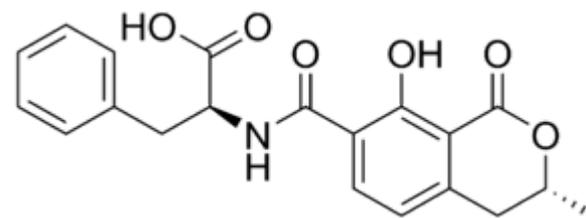
Aflatoxina G₁



Aflatoxina G₂



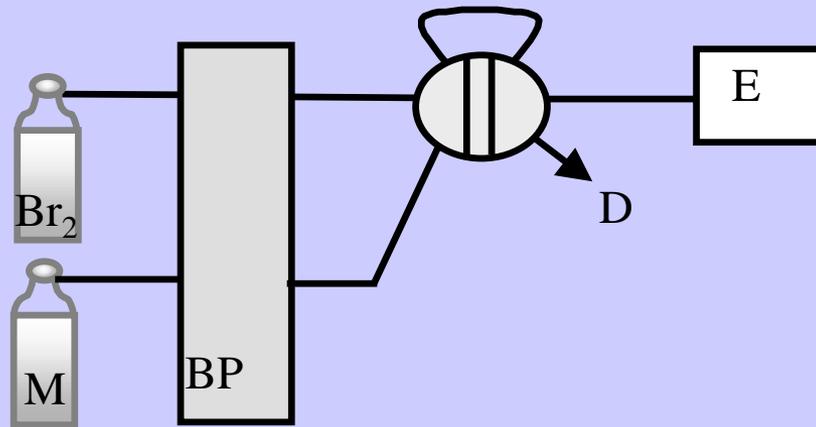
Ochratoxina A



Ochratoxina B

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Unidad para el screening



M = Muestra; D = Desecho; BP = Bomba peristáltica; E = Espectrofluorímetro

CONDICIONES EXPERIMENTALES

- $\lambda_{\text{ex}} = 360 \text{ nm}$ $\lambda_{\text{em}} = 470 \text{ nm}$
- Disolución derivatizadora = Br₂ ($4 \times 10^{-5} \text{ M}$) a 1.5 ml/min
- Volumen de inyección = 20 μl
- Velocidad de flujo = 1.5 ml/min
- Distancia válvula de inyección - espectrofluorímetro = 5 cm

**MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN
PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS**

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL MÉTODO DE SCREENING

Analito	Ecuación: $y = a + bx$	r	R^2 (%)	$S_{y/x}$	LOD	LOQ
Aflatoxina G ₂	$a = 0.0 \pm 0.2$ $b = 986 \pm 5$	0.9996	99.93	0.96	0.0006	0.002
Aflatoxina G ₁	$a = 0.9 \pm 0.3$ $b = 148 \pm 1$	0.9991	99.82	1.16	0.006	0.02
Aflatoxina B ₂	$a = 1.2 \pm 0.3$ $b = 312 \pm 1$	0.9998	99.96	1.10	0.003	0.01
Aflatoxina B ₁	$a = -0.2 \pm 0.4$ $b = 1240 \pm 10$	0.9994	99.89	1.55	0.001	0.003

a : Ordenada; b : Pendiente; r : Coeficiente de regresión; R^2 : Nivel de acoplamiento en % obtenido por el análisis de varianza (ANOVA) para la validación del modelo; $S_{y/x}$: Error estándar de la estima; LOD: Límite de detección; LOQ: Límite de cuantificación (LOD y LOQ en mg l⁻¹).

**MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN
PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS**

**RESULTADOS DEL SCREENING PARA
DIFERENTES MUESTRAS DE PIENSO**

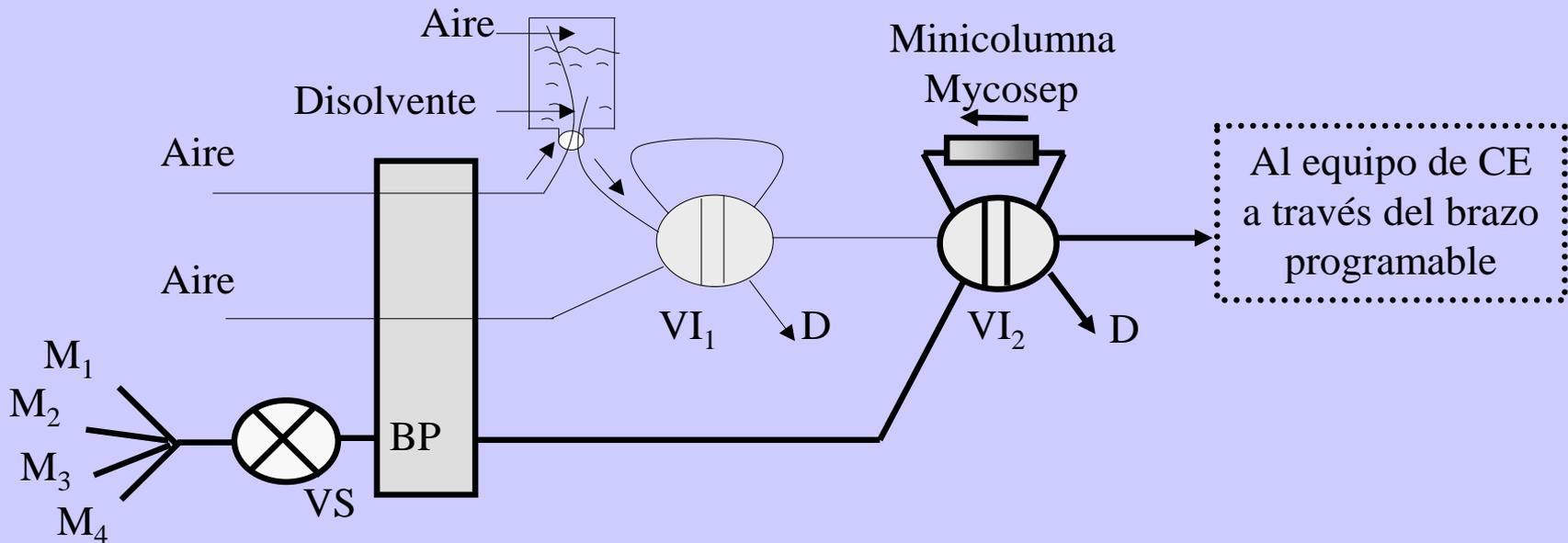
Muestra	Concentración en $\mu\text{g l}^{-1}$ en el "peor de los casos" *	Concentración en $\mu\text{g l}^{-1}$ en el "mejor de los casos" **
Pienso A	49 ± 2	6.7 ± 0.3
Pienso B	8.5 ± 0.4	0.13 ± 0.05
Pienso C	30 ± 10	5 ± 2
Pienso D	44 ± 3	6.1 ± 0.4
Pienso E	25 ± 6	3.8 ± 0.7
Pienso F	37.8 ± 0.7	5.40 ± 0.08

* Empleando la recta de calibrado de la aflatoxina G_1 .

** Empleando la recta de calibrado de la aflatoxina B_1 .

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

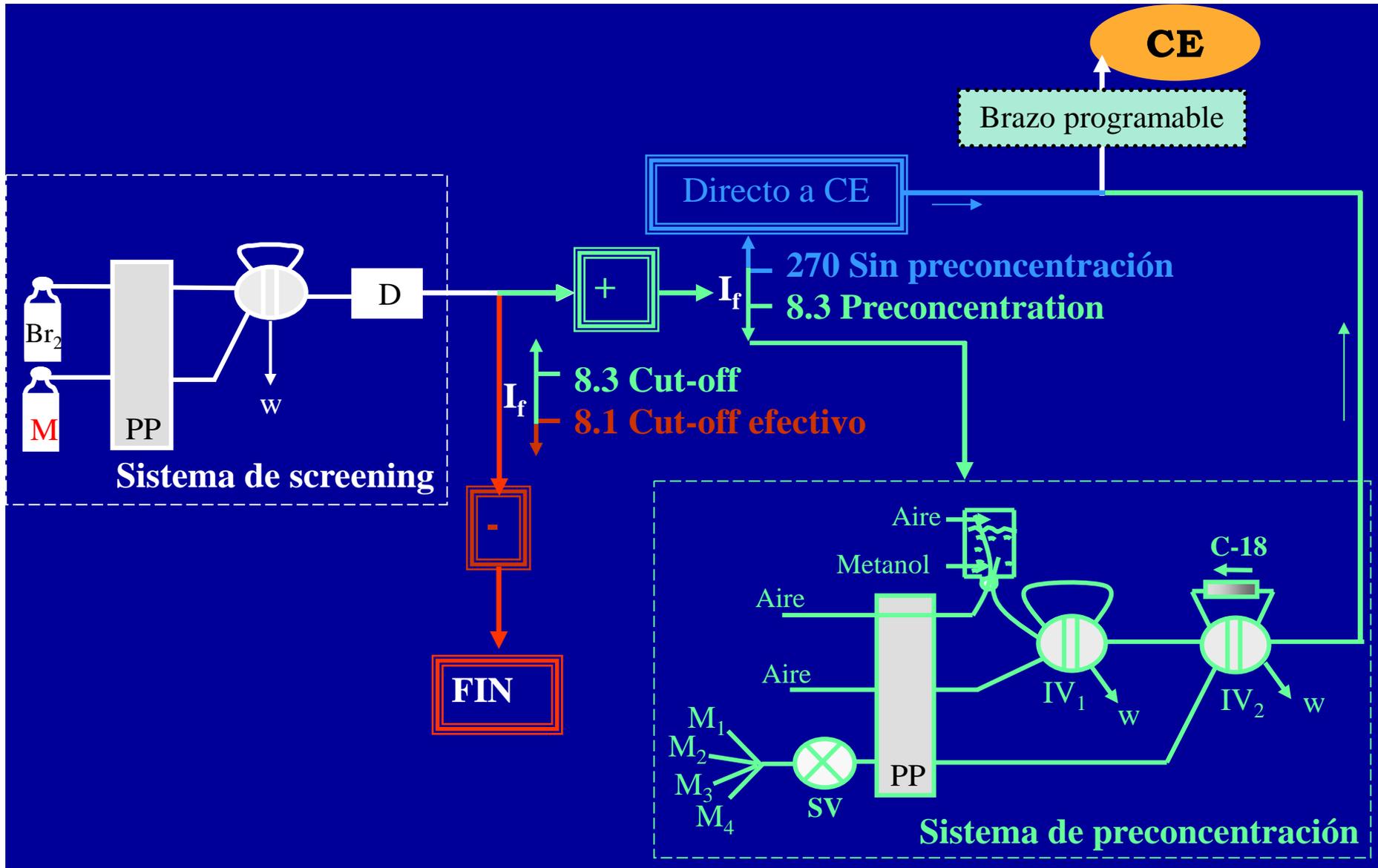
CFS USADO PARA EL PRETRATAMIENTO DE MUESTRA Y SU INTRODUCCIÓN EN EL EQUIPO DE CE



* VI = Válvula de inyección; VS = Válvula de selección;
D = Desecho; M = Muestra; BP = Bomba peristáltica.

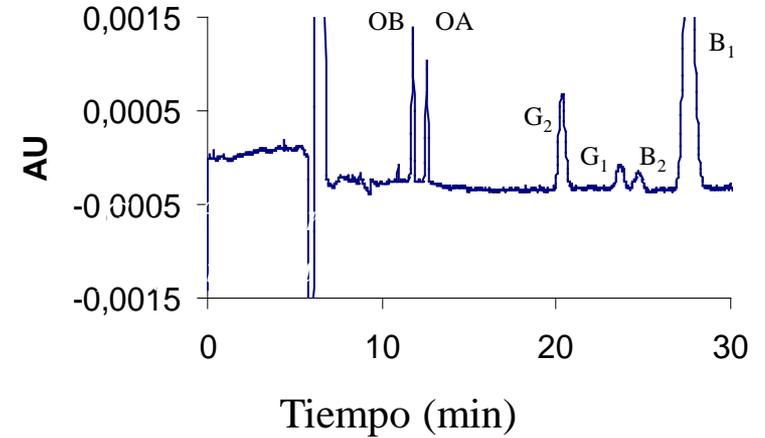
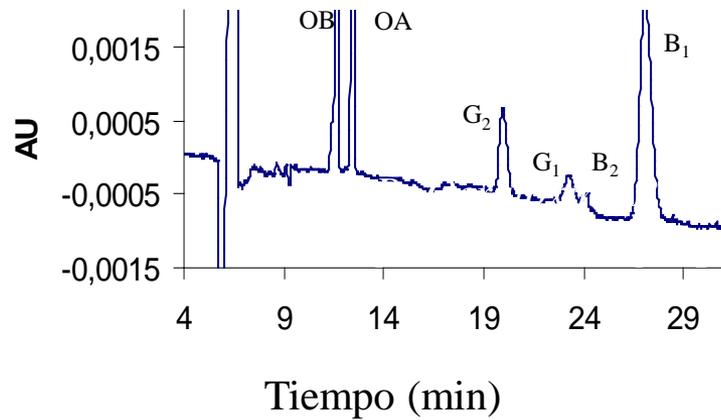
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Sistema integrado SCREENING – CONFIRMACIÓN (CE) (preconcentración)



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

ELECTROFEROGRAMAS DE LAS SEIS MICOTOXINAS A 214 nm Y A 362 nm



*OB; Ocratoxina B. OA; Ocratoxina A. G₂; Aflatoxina G₂.
G₁; Aflatoxina G₁. B₂; Aflatoxina B₂. B₁; Aflatoxina B₁.*

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL MÉTODO MEKC*

Analito	Ecuación: $y = a + bx$	r	R^2 (%)	$S_{y/x}$	LOD	LOQ	RSD
Ocratoxina B	$a = 81 \pm 1239$ $b = 30712 \pm 247$	0.9995	99.92	3603.73	0.12	0.40	7.26
Ocratoxina A	$a = 1459 \pm 2012$ $b = 32918 \pm 400$	0.9990	99.81	5848.95	0.18	0.61	10.83
Aflatoxina G ₂	$a = 162 \pm 263$ $b = 12428 \pm 108$	0.9999	99.97	474.18	0.06	0.21	8.17
Aflatoxina G ₁	$a = -4053 \pm 1954$ $b = 41817 \pm 805$	0.9993	99.85	3524.29	0.14	0.47	6.09
Aflatoxina B ₂	$a = 202 \pm 322$ $b = 10007 \pm 133$	0.9997	99.93	581.05	0.10	0.32	6.98
Aflatoxina B ₁	$a = -2612 \pm 1894$ $b = 45431 \pm 780$	0.9994	99.88	3415.97	0.12	0.42	9.00

* a : Ordenada; b : Pendiente; r : Coeficiente de regresión; R^2 : Nivel de acoplamiento en % obtenido por análisis de varianza (ANOVA) para la validación del modelo; $S_{y/x}$: Error estándar de la estima; LOD: Límite de detección; LOQ: Límite de cuantificación (LOD y LOQ en mg l⁻¹). RSD; Desviación estándar relativa.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Resultados

	<i>Muestras</i>				
	1	2	3	4	5
Aflatoxina G1*	0	0.025	0	0	0.05
Aflatoxina G2*	0	0	0	0	0.05
Aflatoxina B1*	0	0	0.04	1	0.05
Aflatoxina B2*	0	0	0	0	0.05
Resultado del screening **					
Etapas siguientes			(1 y 2)	(2)	(1 y 2)
Screening + CE					

**APLICACIÓN A
MUESTRAS REALES**

*Concentraciones en mg l⁻¹

**Referido a aflatoxina G₁

(1) Preconcentración

(2) CE.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

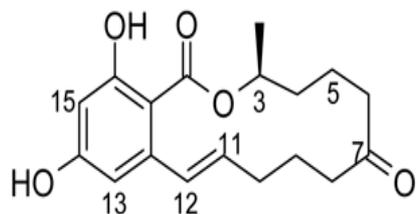
Microchim Acta (2016) 183:871–880
DOI 10.1007/s00604-015-1722-2



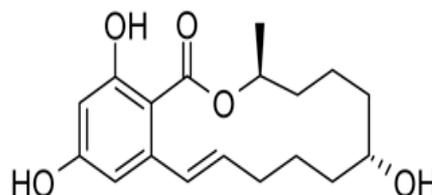
ORIGINAL PAPER

Hybrid nanoparticles based on magnetic multiwalled carbon nanotube-nanoC₁₈SiO₂ composites for solid phase extraction of mycotoxins prior to their determination by LC-MS

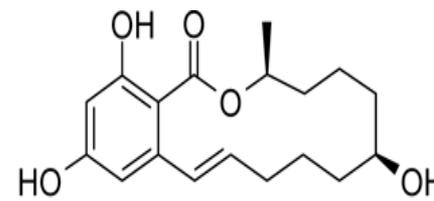
Virginia Moreno^{1,2} · Mohammed Zougagh^{2,3} · Ángel Ríos^{1,2}



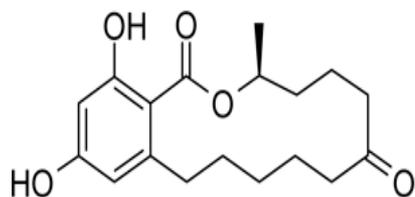
Zearalenone (ZON)



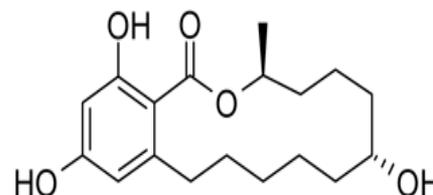
α -Zearalenol (α -ZOL)



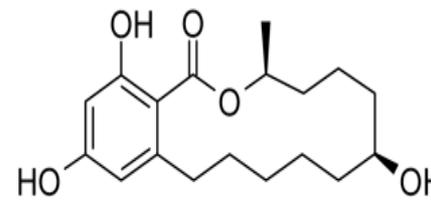
β -Zearalenol (β -ZOL)



Zearalanone (ZAN)

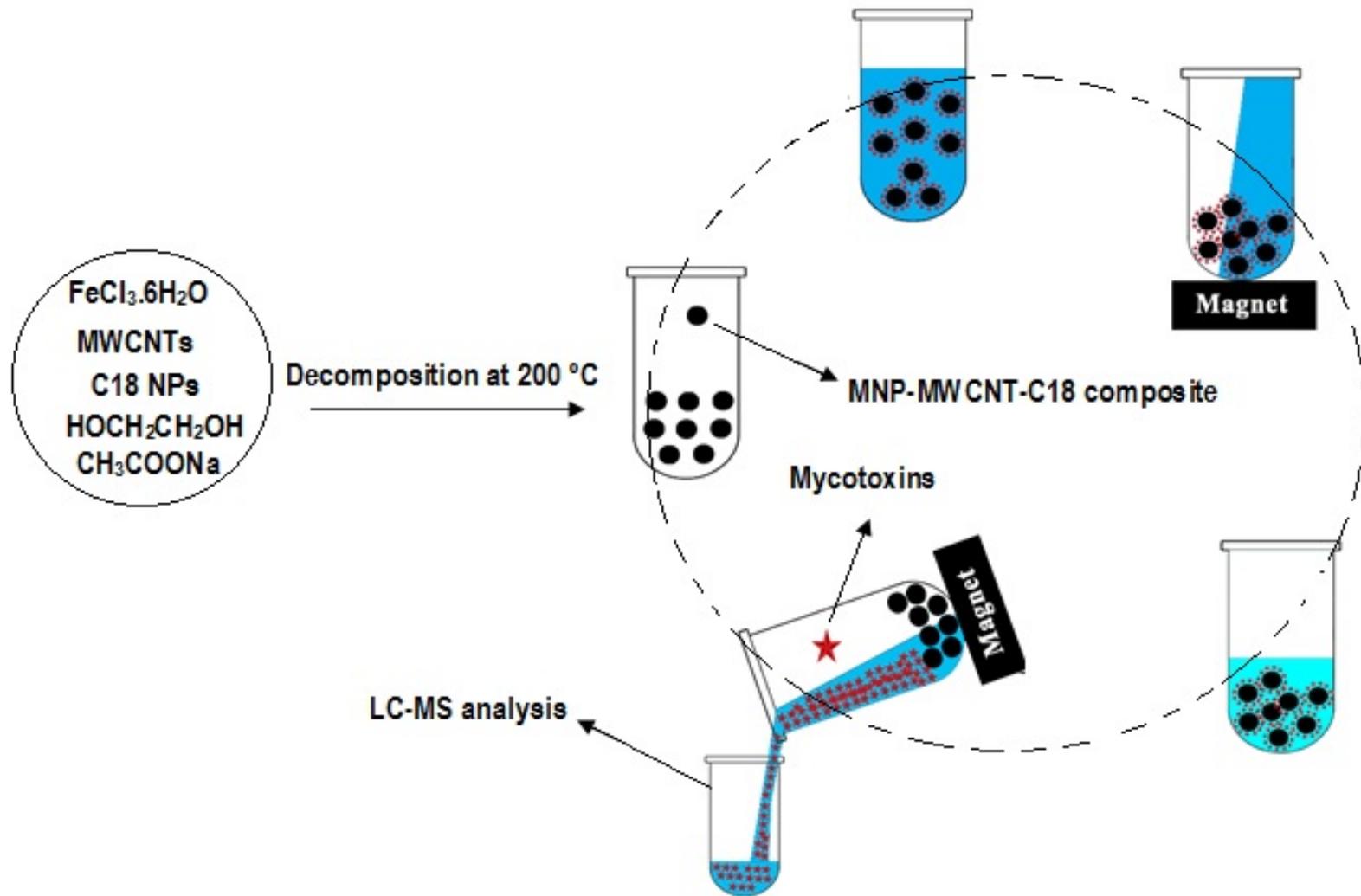


α -Zearalanol (α -ZAL)

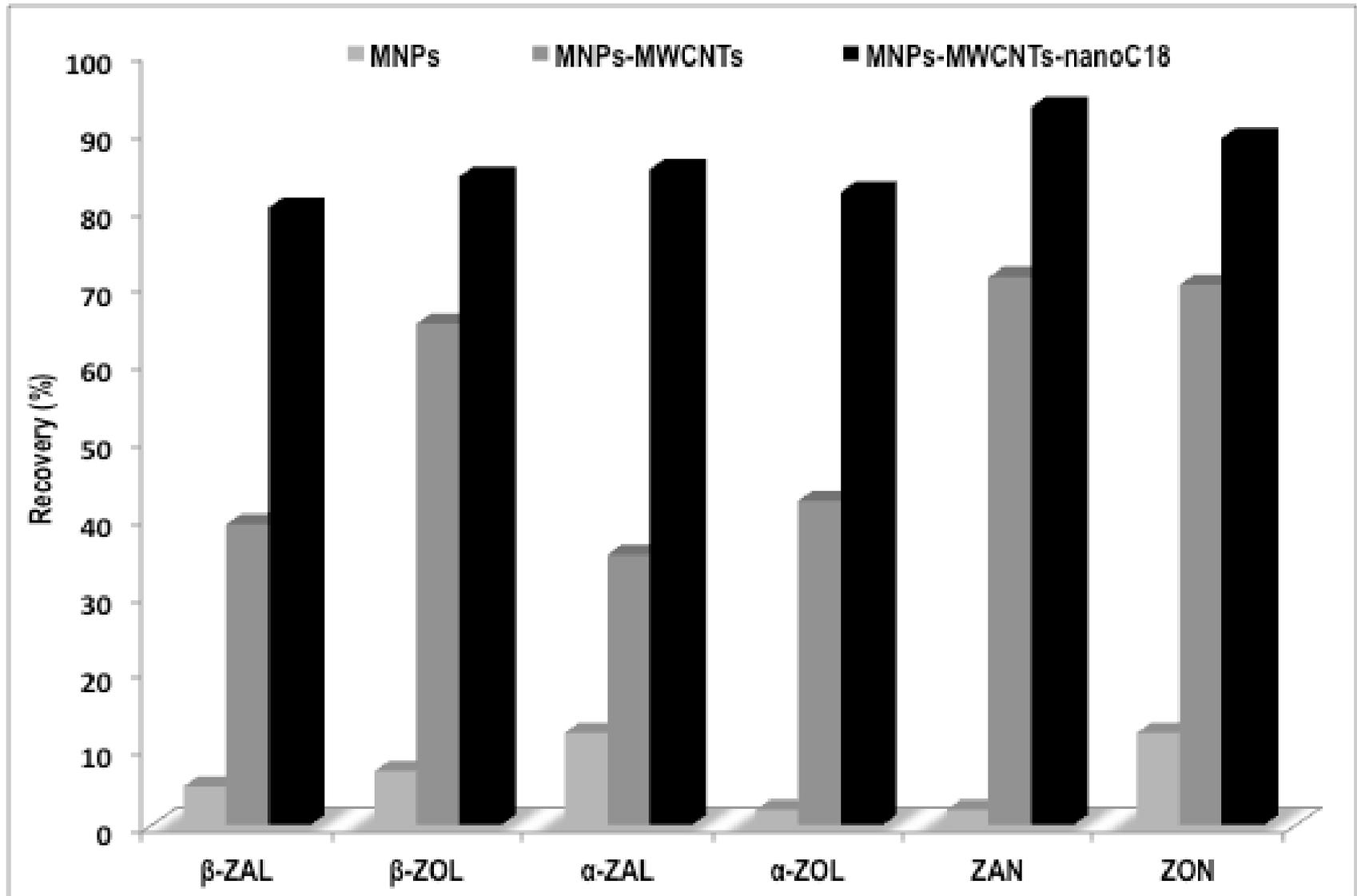


β -Zearalanol (β -ZAL)

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



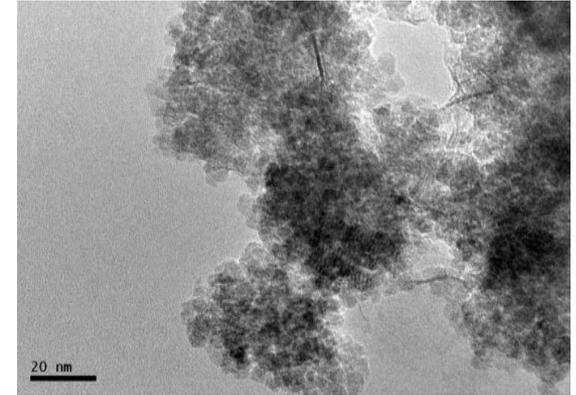
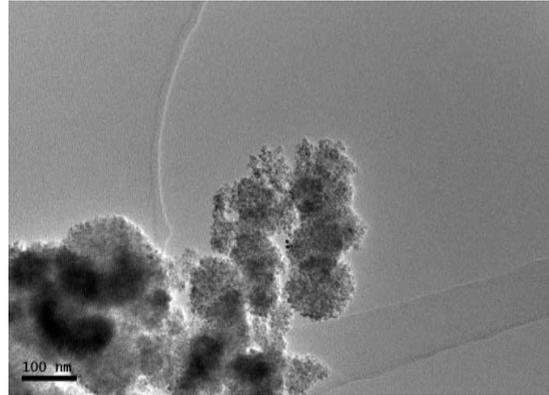
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



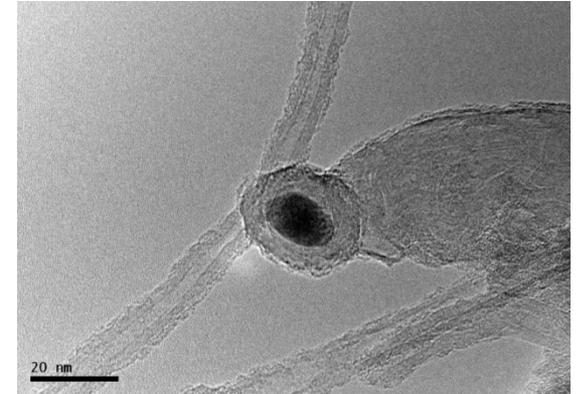
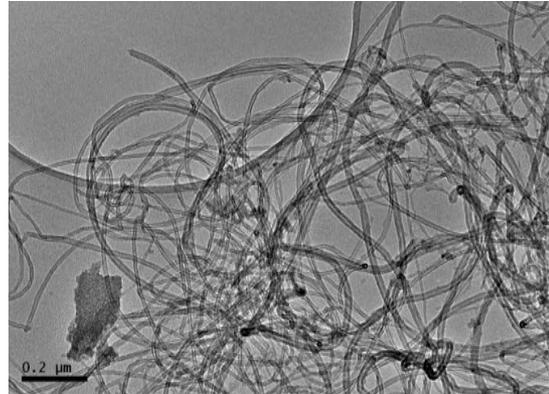
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

TEM images

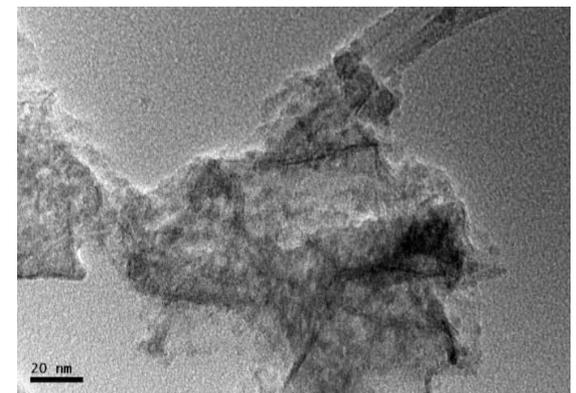
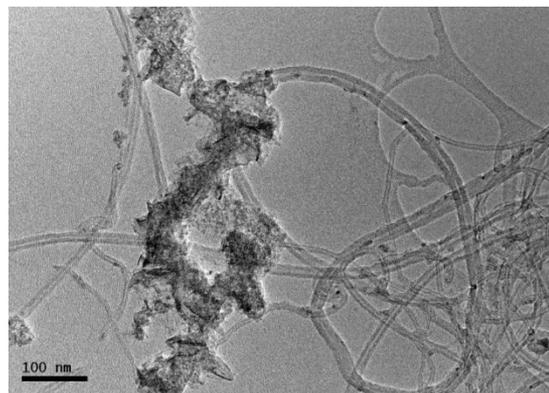
MNPs



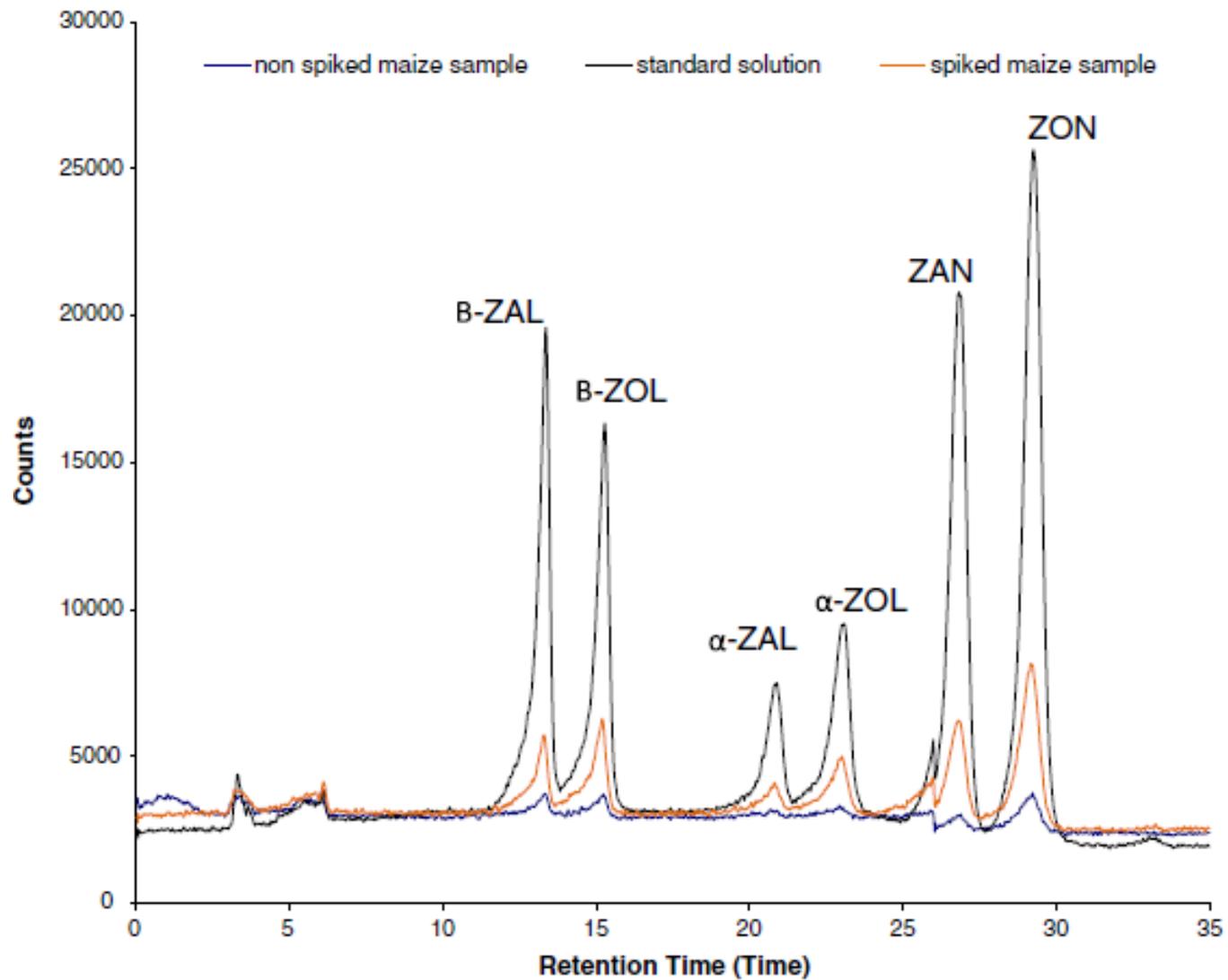
MNP-MWCNTs



MNP-MWCNT-C₁₈



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



Consideraciones sobre la transferibilidad a laboratorios de rutina

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN
PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Validación

**Resultado:
M ± N**

Lo habitual en métodos cuantitativos . . .

Adecuación al fin previsto

Demostración de la trazabilidad

Estimación de la incertidumbre

.

Métodos de screening (respuesta binaria)

**Resultado:
SI/NO (% fiabilidad)**

Adecuación al fin previsto

Zona de inseguridad (patrones)

Fiabilidad

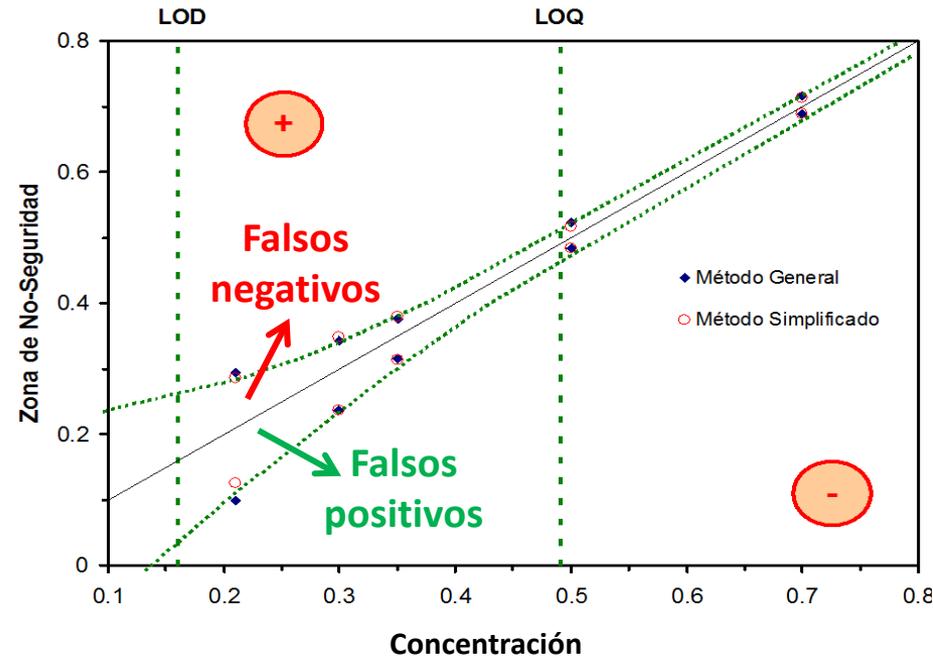
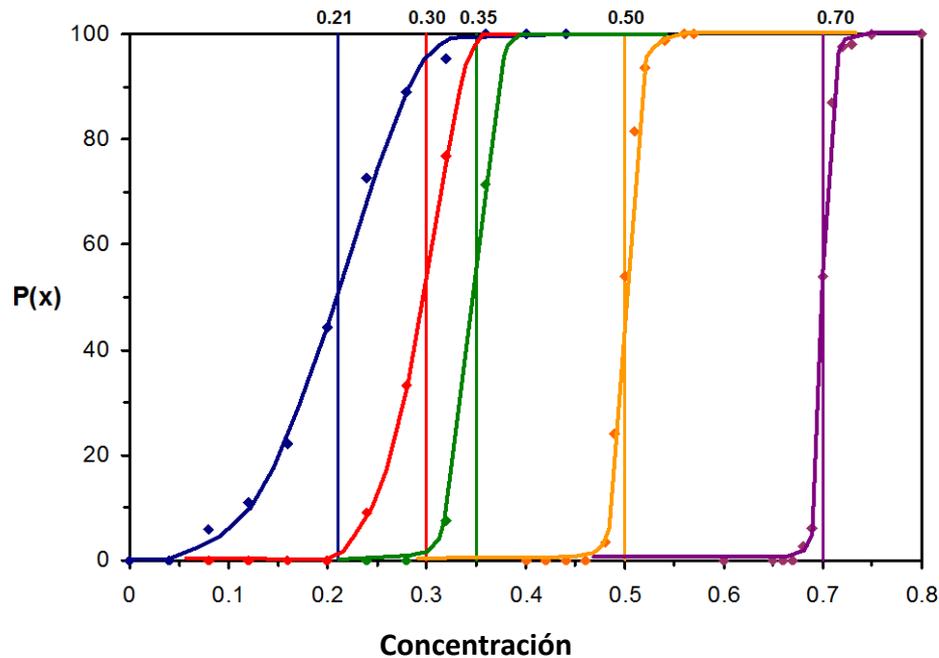
.

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Validación

“Adecuación al fin previsto”

*Ensayos con muestras concretas
 (“resolución del problema analítico”)
Consistencia con la señal de corte*



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN
PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

Validación

Transferibilidad

Análisis de rutina

PUESTA A PUNTO (validación interna)

CONTROL DE CALIDAD INTERNO (gráficos de control)

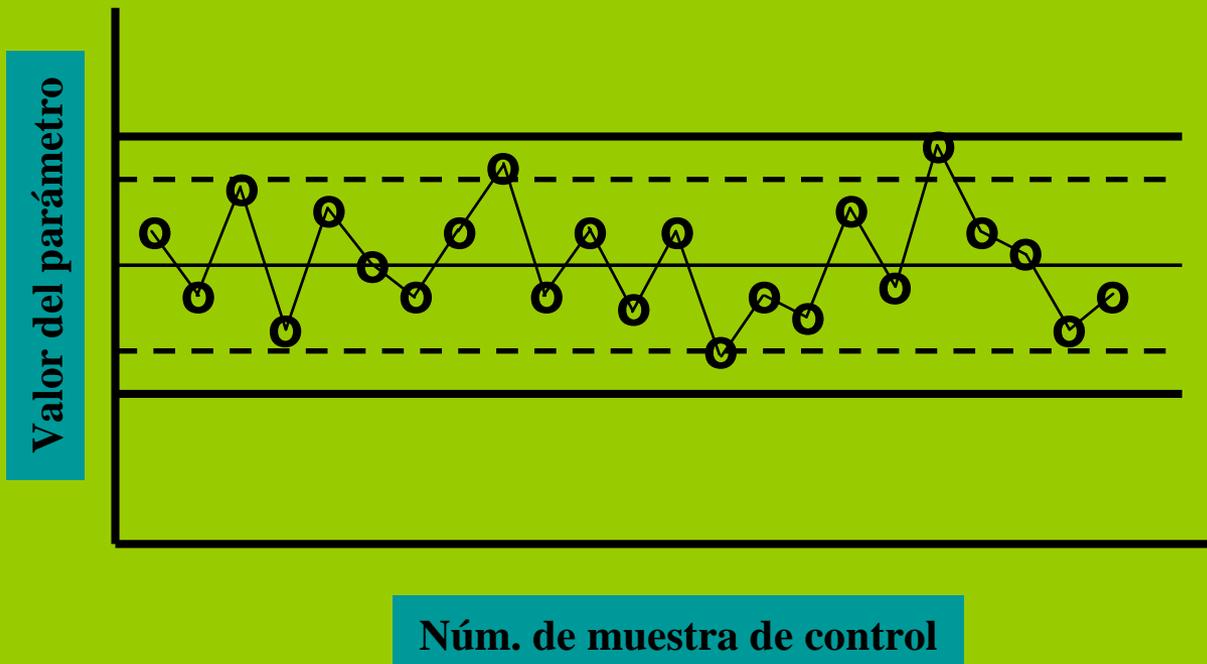
CONTROL DE CALIDAD EXTERNO (ensayos de aptitud)



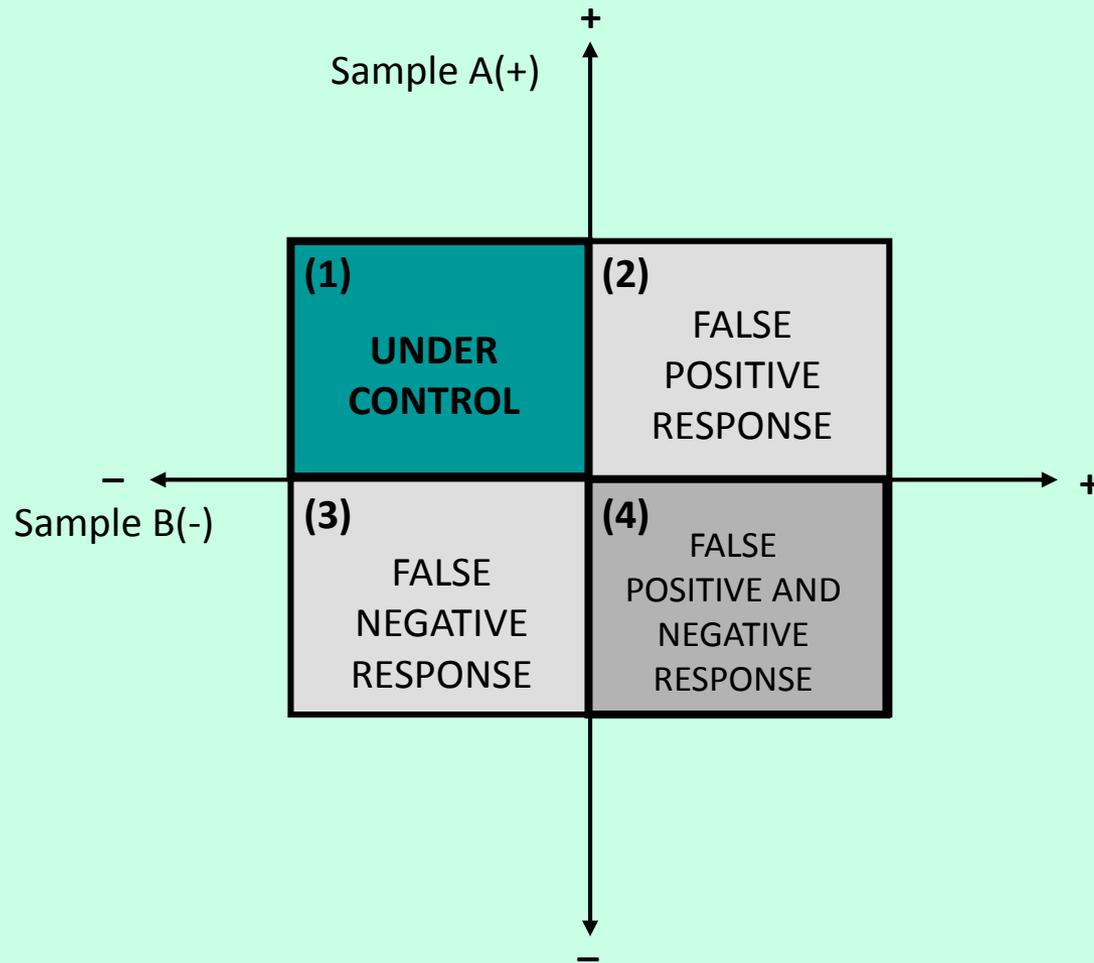
Métodos de screening (respuesta binaria)

Control de Calidad Interno

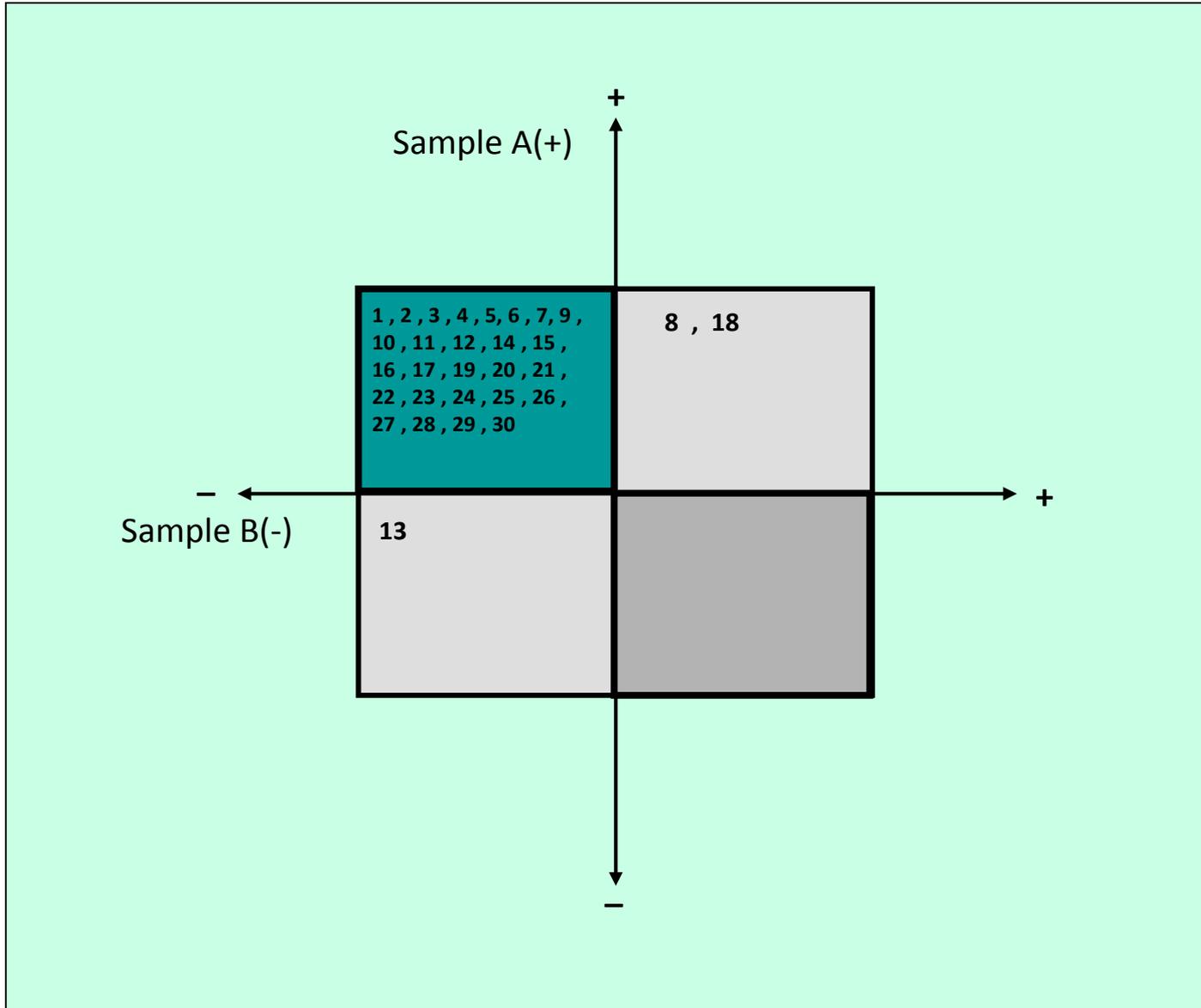
- Gráficos de Control



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



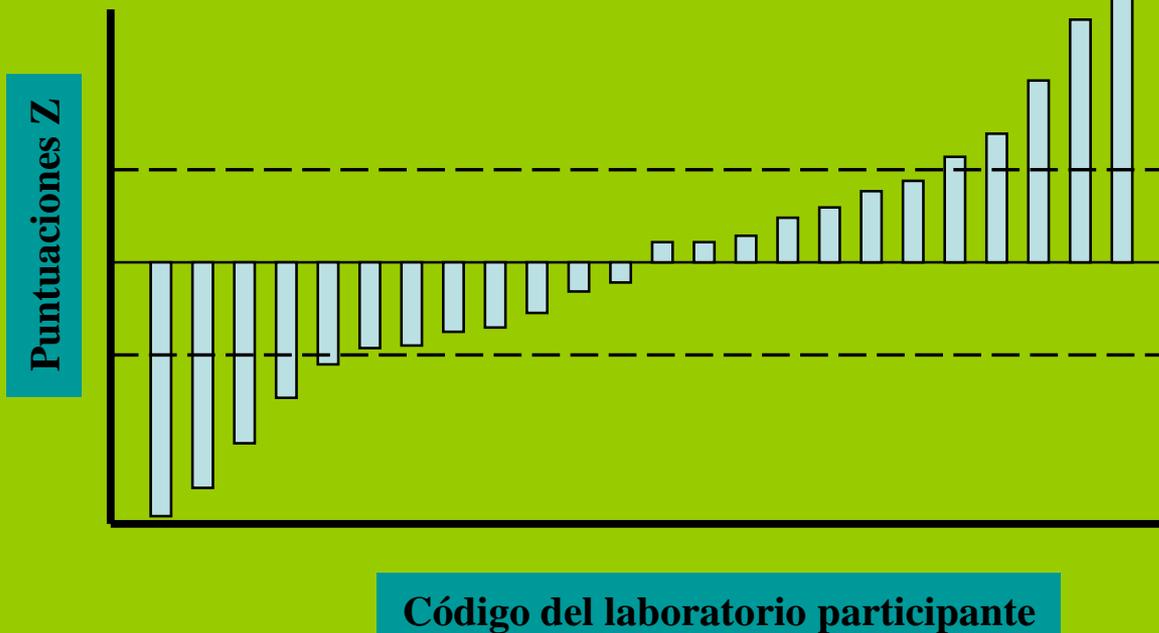
MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS



Control de Calidad Externo

- Ensayos de Aptitud

• • • • •



MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

ENSAYOS DE APTITUD PARA MÉTODOS DE RESPUESTA BINARIA

Sample	Laboratory #1 ^(*)	Laboratory #2 ^(*)	Laboratory #3 ^(*)	Laboratory #4 ^(*)
A (+)	0	0	0	1
B (+)	0	0	1	0
C (-)	0	1	0	0
D (-)	0	0	0	1
E (-)	0	0	0	0
F (-)	0	0	0	0
G (+)	0	0	0	0
H (-)	0	0	1	0
I (-)	0	0	0	1
J (-)	0	0	0	0

(*) **0 = true response; 1 = false response**

MÉTODOS DE SCREENING-CONFIRMACIÓN PARA EL CONTROL ANALÍTICO DE MICOTOXINAS

	Laboratory #1	Laboratory #2	Laboratory #3	Laboratory #4
Σz	0	1	2	3
<i>RSZ</i>	0	0.32	0.63	0.95
<i>SSZ</i>	0	1	4	9
<i>% T</i>	100	90	80	70

	<i>Laboratory #1</i>	<i>Laboratory #2</i>	<i>Laboratory #3</i>	<i>Laboratory #4</i>
Σz (%)	0	10	20	30
<i>RSZ (%)</i>	0	1	2	3
<i>SRSZ (%)</i>	0	1	4	9
<i>Remarks</i>	<i>Excellent</i>	<i>Acceptable</i>	<i>Questionable</i>	<i>Wrong</i>

CONCLUSIONES

Importancia social/económica de la contaminación por micotoxinas

Dificultades y retos pendientes en el control analítico de micotoxinas

Hay que reforzar las medidas preventivas → MAYOR NÚMERO DE CONTROLES

Ventajas de los métodos de screening para el control de micotoxinas

Combinación de métodos de screening-confirmación

Importancia de la VALIDACIÓN de los métodos de screening

Asegurar su transferibilidad a los laboratorios de rutina

*¡ Muchas gracias
por su atención !*