
METODO CONFIRMATIVO PARA ANALISIS DE TOXINA T-2 POR GC/MS EN GRANOS Y ALIMENTOS TERMINADOS.

Pérez-Franco, R.*; Lara A., J.; Medina Bravo, J.C.; Gutiérrez G., Delia J.

Nutek, S.A. de C. V.

7 norte 416, Tehuacán, Pue.; 75700 México.

E-mail: gpoidisa@acnet.net.

Introducción.

La toxina T-2 pertenece al grupo de los tricotecenos; estos son micotoxinas producidas por cepas de hongos del género *Fusarium*, *Trichoderma* y *Myrothecium*. Estructuralmente los tricotecenos se caracterizan porque poseen el sistema anular 12,13-epoxitricotec-9-eno; esta característica los hace indetectables por metodologías que utilizan detectores de UV o fluorescencia, aunque se han descrito metodologías que emplean cromatografía en capa fina, radioinmunoensayos y GC/EC.³ La toxicidad de la toxina T-2 es alta comparada con la de otros tricotecenos, sólo es superada por el diacetoxiscirpenol (DAS); las dosis letales medias son 1.2 y 0.37 mg/Kg respectivamente. La toxina T-2 es capaz de producir necrosis en la piel, vómito y leucopenia en animales de laboratorio. Se ha descrito que la toxina T-2 causa abortos en cerdas preñadas,⁴ y observaciones en el campo asocian decrementos en la productividad de cerdos con la presencia de ésta toxina a niveles de contaminación de 200 ppb o menos.¹ Esta micotoxina y sus efectos han comenzado a despertar interés en la porcicultura en la medida en que los métodos de detección y cuantificación son cada vez más específicos y confirmativos.

Objetivo.

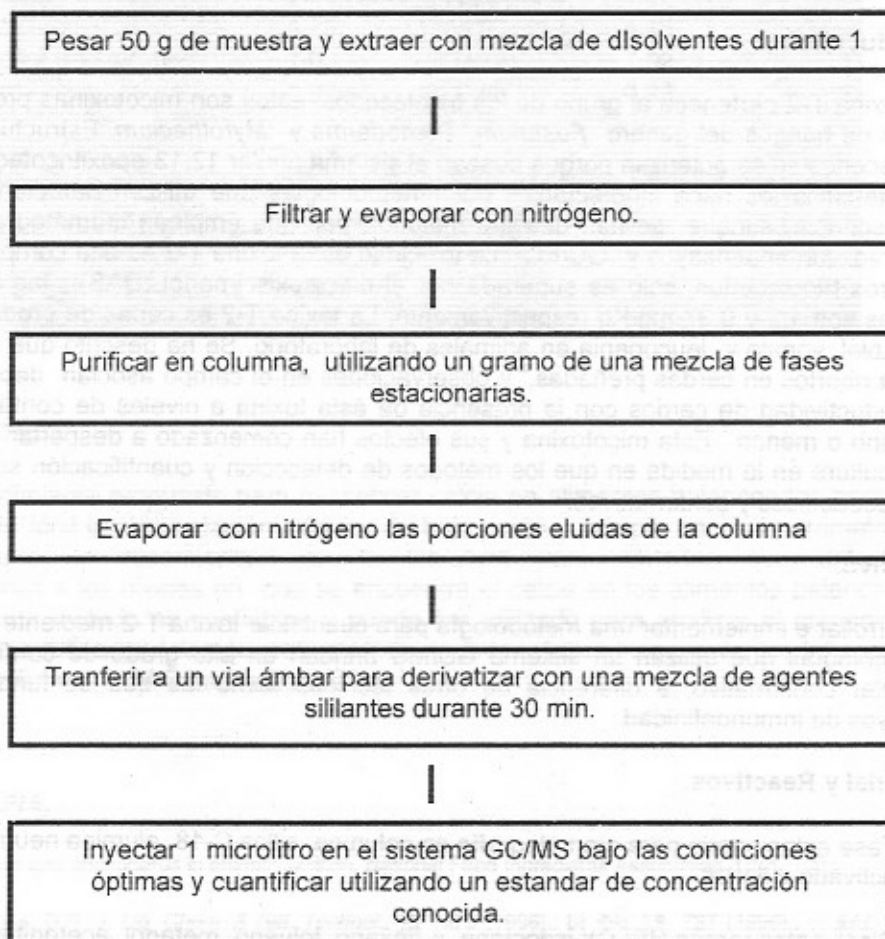
Desarrollar e implementar una metodología para cuantificar toxina T-2 mediante GC/MS. Las metodologías que utilizan un sistema GC/MS brindan un alto grado de confianza por su carácter confirmativo, a diferencia de otras técnicas como las que se fundamentan en ensayos de inmunofluorescencia.

Material y Reactivos.

- ◆ Fase estacionaria para cromatografía en columna: sílica C-18, alúmina neutra, carbón activado y florisil.
- ◆ Disolventes (grado HPLC): isooctano, n-hexano, tolueno, metanol, acetonitrilo, cloroformo, acetato de etilo y agua desionizada.
- ◆ Sorgo y alimento terminado.
- ◆ Estándar de toxina T-2 (T 4887, Sigma chemical Co., USA).
- ◆ Mezcla de reactivos sililantes: BSA+TMCS+TMSI, 3:2:3, (Sylon BTZ, 3-3030, Supelco, USA).
- ◆ Material de vidrio y de laboratorio apropiados.

Equipo. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (GC/MS); GCD system, Hewlett-Packard Co., equipado con inyector automático.

Procedimiento. En el siguiente diagrama se puede ver un bosquejo del procedimiento empleado para la cuantificación de toxina T-2 por GC/MS.



Resultados y Discusión.

La cromatografía de gases con columnas de alta resolución permite la separación de compuestos que poseen características y propiedades muy parecidas (incluyendo isómeros), y la espectrometría de masas genera un espectro que es característico de cada compuesto (huella digital), por lo tanto es una técnica confirmativa de la identidad de un analito determinado. Las dos técnicas, acopladas, permiten la identificación y cuantificación de una gran diversidad de analitos, sin ambigüedad.

En nuestro estudio, para verificar la linealidad del sistema se graficó la respuesta del equipo en función de la concentración. Se probaron 6 niveles de concentración de toxina con tres repeticiones cada uno, en un rango de concentraciones de T-2 equivalentes en la muestra a 10 y 200 ppb. El coeficiente de correlación es 0.997, lo cual indica linealidad. Se determinó también que el límite de cuantificación es tan bajo como 5 ppb.

Por otro lado, se realizaron ensayos de recuperación de toxina T-2 en sorgo y alimento terminado contaminados artificialmente a niveles de 10, 50, 100 y 200 ppb; los porcentajes de recuperación fluctúan entre 87 y 123 %, lo cual es perfectamente aceptable basados en los trabajos que Horwitz ha realizado sobre variación analítica.²

Conclusión.

La metodología desarrollada es cuantitativa y confirmativa para toxina T-2; ésta, elimina la incertidumbre propia de los procedimientos que emplean otras técnicas de cuantificación.

Bibliografía.

1. Hagler, W. Effects of Mycotoxins in Livestock Feed and Forage. Simposio Sobre Micotoxinas em Graos. Ponta Grossa, Brazil. 1999.
2. Horwitz, W., *Analytical chemistry*, **54**, 67-A (1982); b) Horwitz, W.; Kamps, L.R.; Boyer, K.W., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 1344 (1980).
3. Huguette, C. and Lapointe, M. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**, 1105 (1984).
4. Mirocha, J.C. Mycotoxins of growing interest. Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins. Túnez. Marzo de 1999.