

# MICOTOX LTDA



## DETERMINACION DE ZEARALENONA EN CEREALES POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA (TLC)

NORMA ICONTEC NTC 4881

### EXTRACCION

1. Pesar 50 g de muestra molida en un vaso de licuadora de vidrio de 250 mL o en un Erlenmeyer de 250 mL con tapa rosca.
2. Añadir 100 mL de acetonitrilo-agua, 84+16.
3. Homogenizar a alta velocidad durante 2 minutos (licuadora) o agitar vigorosamente durante una hora usando un agitador mecánico.
4. Filtrar a través de papel cualitativo rápido y transferir 8 mL del extracto a un tubo de ensayo de 15 x 85 mm. Adicionar 80 µL de ácido acético glacial y homogenizar con la ayuda de un vórtex (el ácido acético aumenta la recuperación de la zearalenona).

### PURIFICACION

5. Insertar el extremo con el tapón de caucho de un cartucho Micotox® M2006 y presionar hasta obtener solo un poco más de 2.0 mL de solución purificada en su interior.

6. Transferir exactamente 2.0 mL del extracto purificado a un tubo de ensayo limpio y evaporar a sequedad bajo nitrógeno o bajo vacío en un baño termostático a 60°C.

### CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

7. Disolver el residuo seco con 100 µL de tolueno-acetonitrilo, 95+5 (agregar el solvente, tapar el tubo y agitar en vórtex durante 30 segundos).
8. Sembrar 20 µL de cada muestra junto con 5, 10 y 20 µL de estándar de trabajo en una cromato-placa de silicagel 60 de 10 x 10 cm (Merck 1.05553). La solución estándar de trabajo contiene 10 µg/mL de zearalenona en tolueno-acetonitrilo, 95+5 (disponible en Micotox Ltda.)
9. Desarrollar la placa con tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico (6+2+1) hasta 1 cm del borde superior. Dejar secar al aire.

Nota: Algunas muestras de sorgo pueden dar falsos positivos con este solvente. En casos sospechosos puede utilizarse como solvente alternativo hexano-acetato de etilo-tolueno (10+10+1).

10. Observar la cromatoplaca bajo luz ultravioleta de onda larga (365 nm) y determinar el contenido de zearalenona comparando la intensidad de la mancha de zearalenona de las muestras con los estándares. La zearalenona presenta una fluorescencia azul y un Rf aproximado de 0.8.

### CONFIRMACION

La zearalenona puede confirmarse sumergiendo la placa por 1-2 segundos en una solución de bencidina diazotada al 0.25%. La zearalenona se torna de un color rojo ladrillo, el cual se desvanece lentamente.

### CALCULOS

Se toman 50 g de muestra en 100 mL de solvente; del extracto se toman 2 mL que se llevan a sequedad y se redisuelven en 100 µL, de los cuales se siembran 20 µL.

Equivalente en peso de la muestra sembrada:

50 g x 2/100 mL x 0.02/0.1 mL = 0.2 g en placa

$$\text{ng/g (ppb)} = \frac{\text{ng de toxina en la placa}}{0.2 \text{ g}}$$

#### Cantidad de estándar de zearalenona sembrado en placa (ng):

Vol. µL	ZEARALENONA
5	50 ng
10	100 ng
20	200 ng

#### Equivalente en ppb del estándar de zearalenona sembrado en placa (ng/g):

Vol. µL	ZEARALENONA
5	250 ppb
10	500 ppb
20	1000 ppb

Límite de detección: <200 ppb.  
Límite de cuantificación: 250 ppb

ZEARALENONA TLC V01-07