



Instituto  
Nacional  
de Tecnología  
Industrial



Ministerio de Economía  
**Argentina**

Secretaría de Industria  
y Desarrollo Productivo

## Seminario Día de la Metrología

# **Materiales de Referencia de Micotoxinas - Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones**

Mariano Simón - Fernando Raco - Fabrizio Straccia

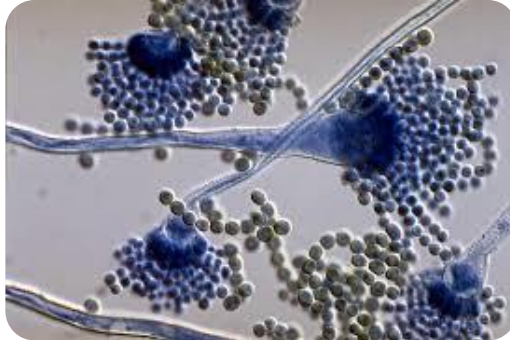


Martes 23 de mayo 2023

## Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

### ¿Qué son las micotoxinas? ¿Cuáles son las consecuencias de su presencia?

- Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos y que pueden contaminar distintos tipos de alimentos, entre ellos cereales, frutas y frutos secos.
- Los alimentos contaminados con micotoxinas aún en bajas concentraciones pueden afectar la salud tanto de seres humanos como animales.

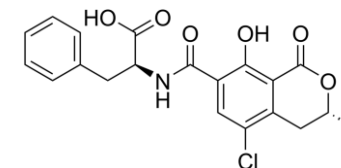
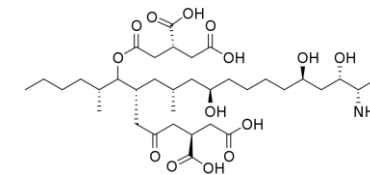
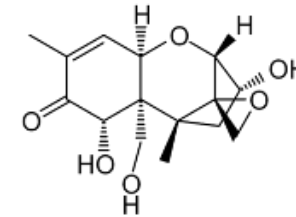
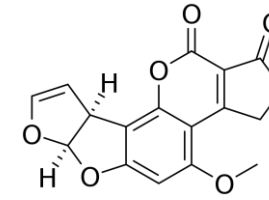


- Dependiendo el tipo de micotoxina y su concentración, puede afectar distintos órganos y puede ocasionar tanto intoxicaciones agudas (vómitos, supresión inmunológica, lesiones hepáticas) como intoxicaciones crónicas (efectos cancerígenos y tumorales).

# Materiales de Referencia de Micotoxinas - Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## ¿Qué son las micotoxinas? ¿Cuáles son las consecuencias de su presencia?

- **Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2:** común en cereales y frutos secos. Afecta principalmente el hígado. Es considerado por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cancer (IARC es su sigla en ingles) como agente cancerígeno del grupo 1.
- **Deoxinivalenol (DON o vomitoxina):** común su presencia en cereales. En altas concentraciones puede causar efectos negativos en el sistema inmunológico.
- **Fumonisina B1 y B2 (FB1, FB2):** muy comunes su presencia en maíz y otros cereales. Son hepatotóxicas y nefrotóxicas. Causante de encefalomalacia en equinos.
- **Ocratoxina A (OTA) :** puede estar presente en cereales y muy comúnmente en uvas. Efectos nefrotóxicos , inmunosupresores, carcinogénicos y teratogénicos en animales.



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Pérdidas económicas relacionadas con la presencia de micotoxinas.

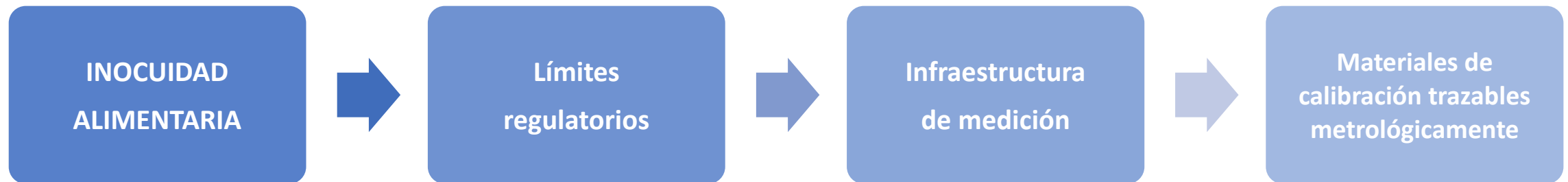
- Se considera que entre el 25% y el 50% de las cosechas del mundo están afectadas por micotoxinas.
- Las micotoxinas que representan mayores pérdidas económicas son las aflatoxinas, deoxinivalenol (DON) y zearalenona(ZON).
- Se calcula que los alimentos más afectados cada año son el maíz (16 millones de toneladas), arroz (12 millones de toneladas) y maní (1,8 millones de toneladas).
- En países como Estados Unidos, se calcula un promedio de 932 millones de dólares cada año de pérdidas por la presencia de micotoxinas.



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Legislación de micotoxinas y la importancia de su medición.

El aseguramiento de la inocuidad alimentaria, comienza a partir de establecer límites regulatorios específicos que sean apoyados por una fuerte infraestructura de medición para el análisis de micotoxinas.



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## ISO/IEC 17025 – Trazabilidad de la mediciones en el laboratorio

La ISO/IEC 17025:2017 establece los requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.



### 6.5 Trazabilidad metrológica

**6.5.1** El laboratorio debe establecer y mantener la trazabilidad metrológica de los resultados de sus mediciones por medio de una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medición, vinculándolos con la referencia apropiada.

**NOTA 1** En la Guía ISO/IEC 99, se define trazabilidad metrológica como la "propiedad de un resultado de medición por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medición".

**NOTA 2** Para información adicional sobre trazabilidad metrológica, véase el Anexo A.

**6.5.2** El laboratorio debe asegurarse de que los resultados de la medición sean trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) mediante:

a) la calibración proporcionada por un laboratorio competente; o

**NOTA 1** Los laboratorios que cumplen con los requisitos de este documento se consideran competentes.

b) los valores certificados de materiales de referencia certificados proporcionados por productores competentes con trazabilidad metrológica establecida al SI; o

**NOTA 2** Los productores de materiales de referencia que cumplen con los requisitos de la Norma ISO 17034 se consideran competentes.

c) la realización directa de unidades del SI aseguradas por comparación, directa o indirecta, con patrones nacionales o internacionales.

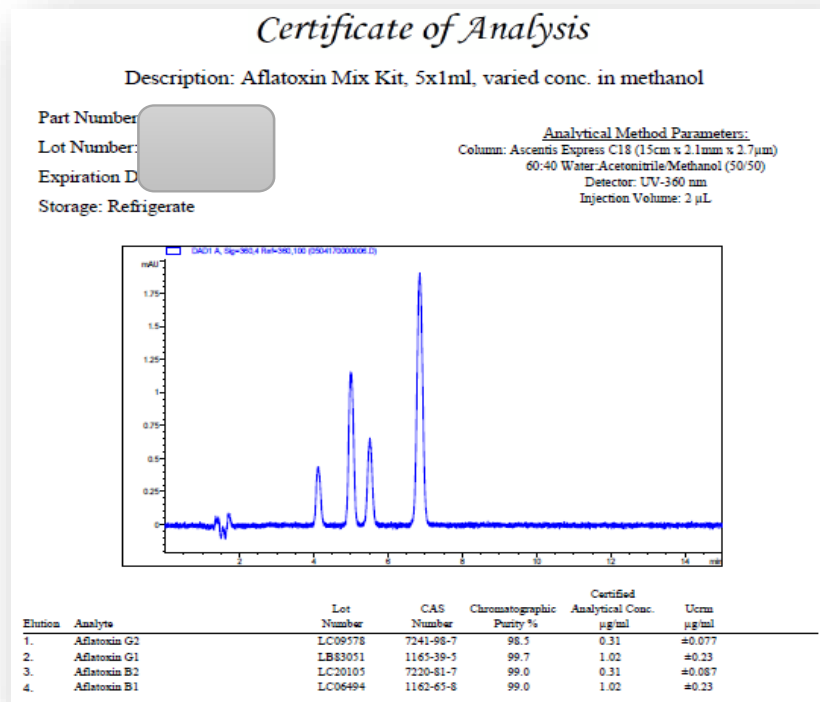
**NOTA 3** En el folleto de SI se proporcionan detalles de la realización práctica de las definiciones de algunas unidades importantes.



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Desafíos para adquirir o producir materiales de referencias de micotoxinas

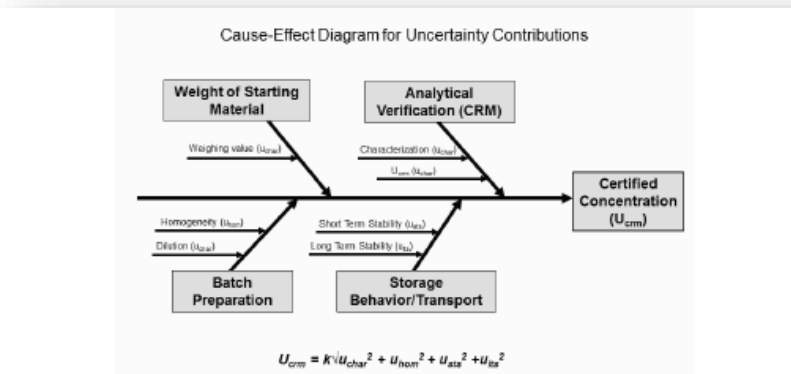
Los materiales de referencias certificados (MRC) que se pueden adquirir comercialmente muchas veces no son producidos o certificados de manera que su trazabilidad metrológica al Sistema Internacional (SI) sea clara.



- NIST traceable weights are used to verify balance calibration with the preparation of each lot. Concentration of analyte in solution is µg/ml.

- Certified value is determined analytically by comparison to an independent Certified Reference Material. Uncertainty in this document is expressed as Expanded Uncertainty (U<sub>cm</sub>) corresponding to the 95% confidence interval. U<sub>cm</sub> is derived from the combined standard uncertainty multiplied by the coverage factor k = 2. The components of combined standard uncertainty include the uncertainties due to characterization, homogeneity, long-term stability and short-term stability. The components due to stability are generally considered to be negligible unless otherwise indicated by stability studies.

- Homogeneity was assessed in accordance with ISO Guide 35. Completed units were sampled using a random stratified sampling protocol. The results of chemical analysis were then compared by Single Factor Analysis of Variance (ANOVA). The uncertainty due to homogeneity was derived from the ANOVA. Heterogeneity was not detected under the conditions of the ANOVA.



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Desafíos para adquirir o producir MRC de micotoxinas

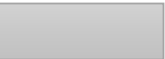
### REFERENCE MATERIAL CERTIFICATE ISO 17034

#### Reference Material

This certificate is designed in accordance with ISO 17034 and ISO Guide 31. This reference material (RM) was designed, produced and verified in accordance with ISO/IEC 17025, ISO 17034 and a registered quality management system ISO 9001.

#### Product Name

Fumonisin B1 50 µg/mL in Acetonitrile/Water, Solution of Fumonisin B1 in Acetonitrile/Water



**CAS No.**  
116355-83-0

**Mol. Weight**  
721.83

**Mol. Formula**  
C34H59NO15

**Volume (ml)**  
1

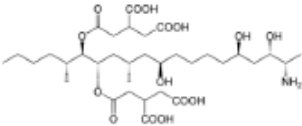
#### Lot Number

1000007895

**Format**  
Solution

**Expiry Date**  
10 Mar 2024

**Storage Temp**  
2-8°C



#### CERTIFIED

Concentration  
50.01 µg/mL

#### CERTIFIED

Expanded Uncertainty (U)  
2.24 µg/mL

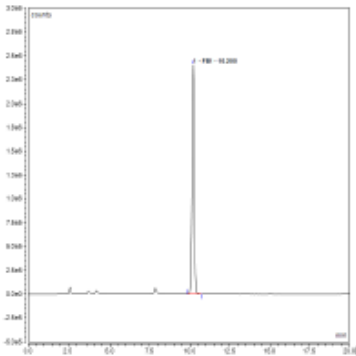
#### Uncertainty

The certified value(s) and uncertainty(ies) are determined in accordance with EURACHEM/CITAC Guide for "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd edition", with an 95% confidence level (k=2). Uncertainty is based on the Total Combined Uncertainty, including uncertainties of characterisation and stability testing. Stability values are based on real evidence opposed to simulation.

The producer certifies that this reference material meets the specification stated in this certificate until the expiry date, provided it is stored unopened at the recommended temperature herein. Product warranties for this reference material are set out in the terms and conditions of purchase.

### REFERENCE MATERIAL CERTIFICATE ISO 17034

CHROMATOGRAM



**Instrument**  
Thermo Fisher UPLC 3000

**Detection**  
FLD

**Column**  
Phenomenex Luna C18(2),  
250x3.00 mm, 5µ

**Method Details**  
see Batch Information

**Inj.-Vol.**  
10 µl

**Flow**  
0,5 ml/min

#### Method of Preparation

The certified value is based on gravimetric and volumetric preparation of this RM. This RM has been confirmed by the appropriate analytical techniques.

#### Method of Characterisation

Purity was determined by quantitative NMR.

#### Method of Identification

HPLC-FLD, MS, NMR

#### Batch Information

Solvent: Acetonitrile/Water, Acetonitrile, Merck 1000302500, Lot I1098930024, 500 mL.

#### Method Details:

Eluent A: acetonitrile / water / acetic acid ( 40 / 59 / 1 )  
Eluent B: acetonitrile/acetic acid (99/1)  
Eluent A->B: 20 min  
Derivatization with 50 µl OPA reagent  
Oven 25 °C  
Sample dilution with acetonitrile/water (1/1)  
Ex 335 nm, Em 440 nm

| Compound Name | Lot No.  | Chemical Purity |
|---------------|----------|-----------------|
| Fumonisin B1  | F1190603 | 97%             |



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Desafíos para adquirir o producir MRC de micotoxinas

Los productores de Materiales de Referencia encuentran enormes desafíos para producir sus Estándares o MRC de micotoxinas en solución:

Dificultad para conseguir los materiales puros (**costo, proceso de obtención natural**).

**Cantidad** necesaria de cada material puro para determinar pureza.

**Instrumentación y condiciones** necesarias (qRMN – Balance de Masa)

El **riesgo** de trabajar con altas concentraciones de este tipo de toxinas.



INTI

Instituto Nacional  
de Tecnología Industrial



# Proyecto Mycotoxin Metrology and Capacity Building and Knowledge Transfer (MM&CBKT)



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Proyecto MM&CBKT

La Oficina Internacional de Pesas y Medidas (BIPM es su sigla en francés) junto a los Institutos Nacionales de Metrología (INM) de varios países lleva adelante desde el 2016 el proyecto MM&CBKT (Mycotoxin Metrology and Capacity Building and Knowledge Transfer).

A través de estudios interlaboratorios (Key Comparison) evalúa la capacidad de los INM para preparar Materiales de Referencia Certificados de micotoxinas en solución.

Bureau  
International des  
Poids et  
Mesures



Los Materiales de Referencia Certificados de micotoxinas en solución deben poseer una concentración y una incertidumbre trazables al Sistema Internacional de Unidades.

# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Proyecto MM&CBKT

En cada Key Comparison los INM pueden demostrar su competencia preparando el MRC a partir de las sustancias puras y asignando su pureza por un método primario como Resonancia Magnética Nuclear cuantitativa (qRMN) o partiendo de ampollas de solución stock las cuales son preparadas, certificadas y enviadas por el BIPM a cada participante.



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Proyecto MM&CBKT

R.D. Josephs

Final Report of CCQM-K154.b

02.02.2022

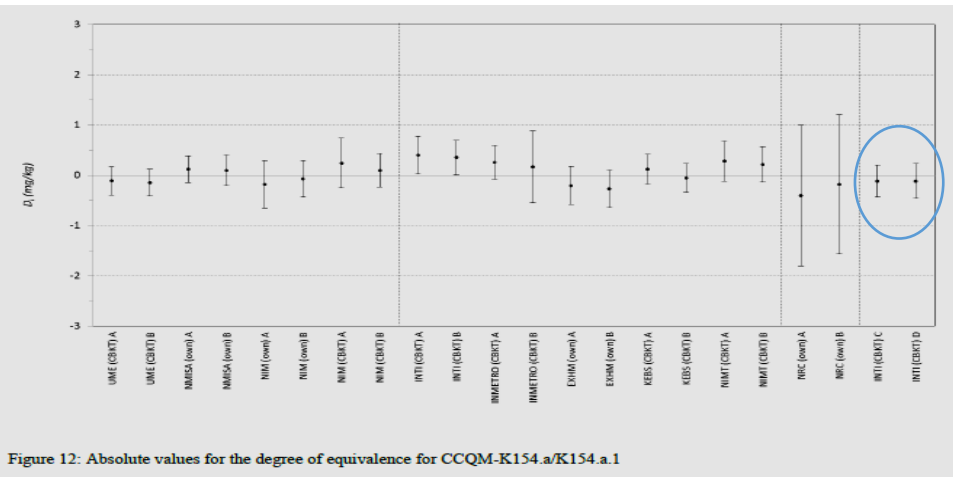
### CCQM-K154.b

#### Key Comparison Study – Organic Solvent Calibration Solution

Gravimetric preparation and value assignment of  
aflatoxin B<sub>1</sub> (AfB<sub>1</sub>) in acetonitrile (ACN)

Final Report

February 2022



R.D. Josephs

Final Report of CCQM-K154a and CCQM-K154.a.1

16.06.2020

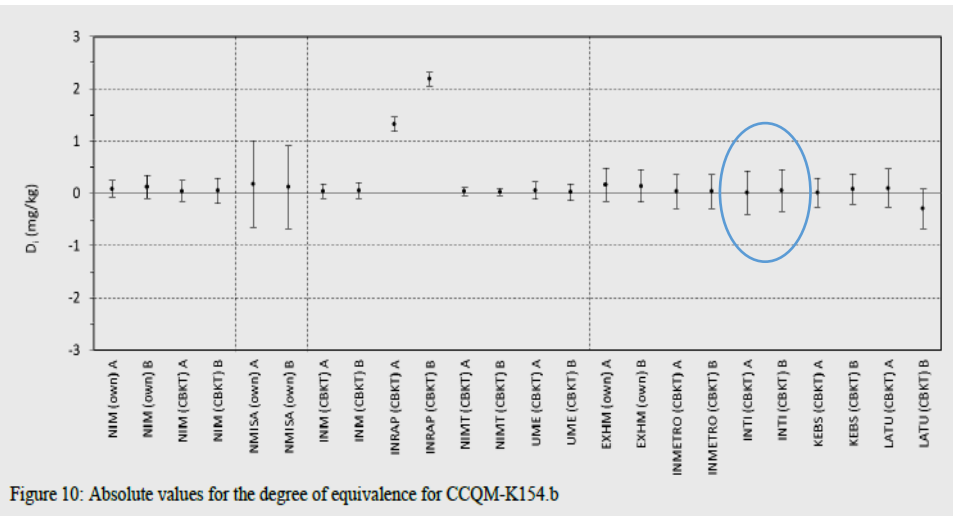
### CCQM-K154.a and CCQM-K154.a.1

#### Key Comparison Study – Organic Solvent Calibration Solution

Gravimetric preparation and value assignment of  
*trans*-zearalenone (*trans*-ZEN) in acetonitrile (ACN)

Final Report

June 2020



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Proyecto MM&CBKT

CCQM-K154.c

Key Comparison Study – Organic Solvent Calibration Solution

Gravimetric preparation and value assignment of  
deoxynivalenol (DON) in acetonitrile (ACN)

Final Report

December 2022

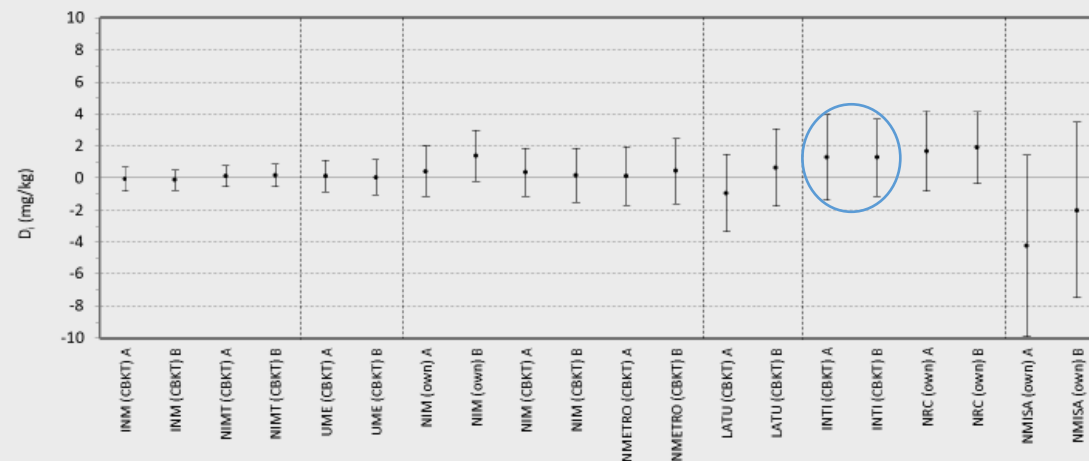


Figure 14: Absolute values for the degree of equivalence for CCQM-K154.c

CCQM-K154.d

Gravimetric preparation and value assignment of  
Patulin (PAT) in acetonitrile (ACN)

Key Comparison  
Track C, Model II  
**DRAFT** Study Protocol  
February 2022



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Materiales de Referencia de Micotoxinas producidos por INTI

### MRC de Aflatoxina B1 en acetonitrilo

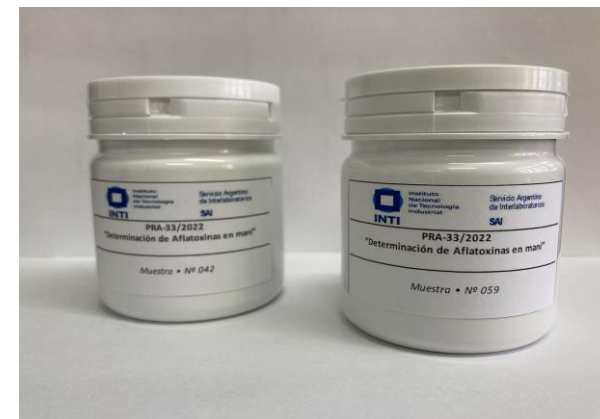
Ampollas de 4 ml conteniendo una solución de aflatoxina B1 en acetonitrilo. MRC que puede utilizarse como calibrante en métodos analíticos o para certificar otras soluciones calibrantes.



### MR de Aflatoxina B1 y B2 en Maní liofilizado

Material preparado a partir de maní contaminado naturalmente. Luego de preparar un slurry, fue liofilizado y separado en frascos. Material de referencia adecuado para la validación de métodos de análisis.

Este material fue utilizado como ítem de ensayo en un interlaboratorio organizado junto al Servicio Argentino de Interlaboratorios (SAI) en 2022.





Instituto Nacional  
de Tecnología Industrial

INTI

Certificación de contenido de  
micotoxinas en maíz por

ID-LC-MS/MS

**INTI-NIST-SIM**

# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## PREPARACIÓN DE SRM1565

### Desarrollo de material de referencia estándar

- Tomás López Seal, INTI
- Melissa Phillips, NIST
- Kai Zhang, FDA

Mezcla de maíz procesado (diferentes lotes), con variedad de micotoxinas detectadas, en distintos niveles de concentración

- Dos tipos de material: Incurrido (12 micotoxinas)/ Blanco (2 micotoxinas)
- Test de Homogeneidad
- Test de Estabilidad y medición de tamaño de partículas
- Asignación de valor (NIST, FDA, ensayo colaborativo)
- Ocratoxina A (OTA): valor certificado (solución de calibración certificada OTAN-1, NRC-CNRC)



Date of Issue:  
07 August 2020

Standard Reference Material® 1565

Mycotoxins in Corn

### CERTIFICATE OF ANALYSIS

**Purpose:** This Standard Reference Material (SRM) is intended for validation of methods for determining mycotoxins in corn and similar materials.

**Description:** A unit of SRM 1565 consists of one bottle each of two materials: low level (blank) corn and incurred corn with native levels of mycotoxins. Each bottle contains approximately 60 g of ground corn.

**Certified Value:** Certified values are provided in Tables 1 and 2. A NIST certified value is a value for which NIST has the highest confidence in its accuracy in that all known or suspected sources of bias have been fully investigated or accounted for by NIST.

Certified mass fraction values for deoxynivalenol, ochratoxin A, and zearalenone in SRM 1565 (Incurred) and for deoxynivalenol in SRM 1565 (Blank), reported on an as-received basis, are provided in Tables 1 and 2, respectively. These values were assigned based upon measurements made at NIST and the United States Food and Drug Administration (FDA) using established methods [1–3] and include data from collaborating laboratories participating in a NIST-conducted interlaboratory study [4]. These values are traceable to the SI measurement unit for chemical mass fraction, expressed as nanograms per gram.

Table 1. Certified Mass Fraction Values for Mycotoxins in SRM 1565 (Incurred)<sup>(a)</sup>

| Measurand      | Mass Fraction<br>(ng/g) |
|----------------|-------------------------|
| Deoxynivalenol | 466 ± 69                |
| Ochratoxin A   | 9.4 ± 1.2               |
| Zearalenone    | 62 ± 31                 |

# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## CERTIFICACIÓN DON Y ZON EN SRM 1565

### Esquema general de trabajo

#### 1. Muestras del test de homogeneidad



#### 2. Extracción



#### 3. Análisis por LC-MS/MS

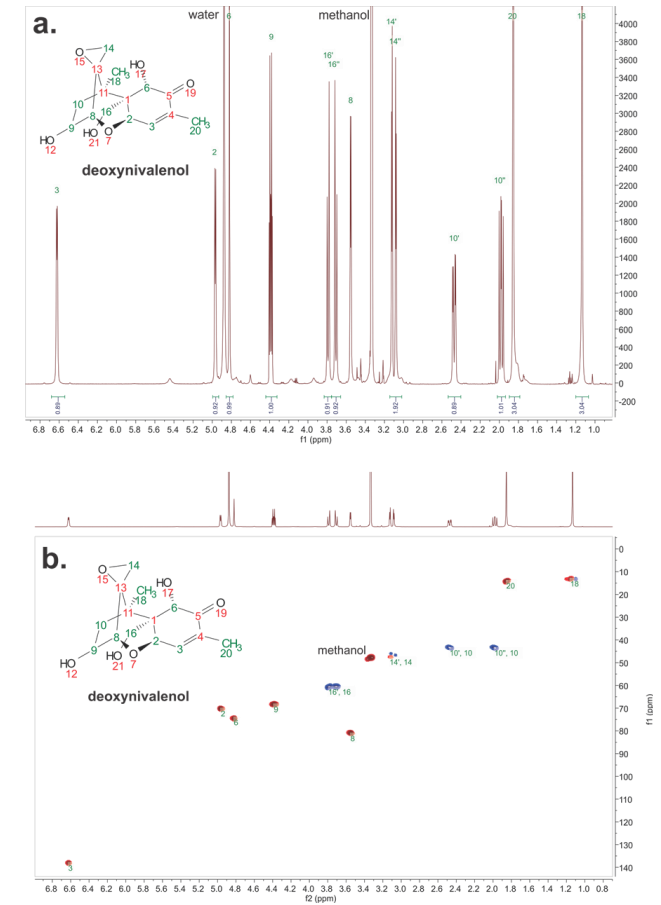
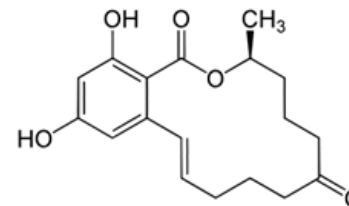
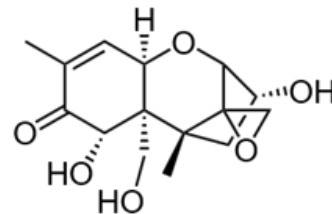


# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## CERTIFICACIÓN DON Y ZON EN SRM 1565

### Pureza y trazabilidad de estándares

- Deoxinivalenol (DON): estándar comercial Biopure (Romer), Lote S14341D
- Zearalenona (ZON): estándar comercial Biopure (Romer), Lote S13114Z
- $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  qRMN: Identificación de isómeros e impurezas, método primario de cuantificación (MR ácido benzoico- NIST PS1-)



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## CERTIFICACIÓN DON Y ZON EN SRM 1565

### Cuantificación con calibrantes certificados vía qRMN

- Parámetros de control:

Control de calidad externo (MR FAPAS)

Consistencia con valor asignado según certificado de análisis (NIST+ FDA+ ensayo colaborativo)

| Source        | Compound | Concentration (ng/g) | U (ng/g) | k factor | x - U | x+ U | using W Cal DON I |           |       | using W Cal DON II |           |       |
|---------------|----------|----------------------|----------|----------|-------|------|-------------------|-----------|-------|--------------------|-----------|-------|
|               |          |                      |          |          |       |      | Calculated (ng/g) |           |       | Calculated (ng/g)  |           |       |
|               |          |                      |          |          |       |      | Average           | % Rel dif | % Rec | Average            | % Rel dif | % Rec |
| SRM 1565 Inc. | DON      | 467                  | 67       | 2        | 400   | 534  | 414               | -11,4     | 88,6  | 445                | -4,9      | 95,3  |
| FAPAST04359QC | DON      | 948                  | z ≤ 2    |          | 643   | 1254 | 903               | -4,7      | 95,3  | 971                | 2,4       | 102,5 |

| Source        | Compound | Concentration (ng/g) | U (ng/g) | k factor | x - U | x+ U  | using W Cal ZON I |           |       | using W Cal ZON II |           |       |
|---------------|----------|----------------------|----------|----------|-------|-------|-------------------|-----------|-------|--------------------|-----------|-------|
|               |          |                      |          |          |       |       | Calculated (ng/g) |           |       | Calculated (ng/g)  |           |       |
|               |          |                      |          |          |       |       | Average           | % Rel dif | % Rec | Average            | % Rel dif | % Rec |
| SRM 1565 Inc. | ZON      | 61                   | 36       | 2        | 25    | 97    | 62                | 1,2       | 101,2 | 60                 | -1,6      | 98,4  |
| FAPAST04359QC | ZON      | 95,8                 | z ≤ 2    |          | 53,7  | 138,0 | 94,7              | -1,1      | 98,9  | 92,1               | -4,0      | 96,2  |



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## CERTIFICACIÓN DON Y ZON EN SRM 1565

### Certificación

- Luego de realizado el análisis estadístico y de incertidumbre, DON y ZON se agregaron a OTA como micotoxinas certificadas en SRM 1565 maíz incurrido.
- La certificación de DON puede realizarse también para SRM 1565 maíz blanco, donde el compuesto está presente con valor de referencia.
- Futuras micotoxinas a certificarse en SRM 1565 blanco e incurrido (standard dependiente): FB1.  
Compuesto verificado en comparación con FDA, con rango lineal y sensibilidad evaluadas en Qtrap 6500+.

Table 1. Certified Mass Fraction Values for Mycotoxins in SRM 1565 (Incurred)<sup>(a)</sup>

| Measurand      | Mass Fraction<br>(ng/g) |
|----------------|-------------------------|
| Deoxynivalenol | 466 ± 69                |
| Ochratoxin A   | 9.4 ± 1.2               |
| Zearalenone    | 62 ± 31                 |

<sup>(a)</sup> Certified values are expressed as  $x \pm U_{95}(x)$ , where  $x$  is the value and  $U_{95}(x)$  is the expanded uncertainty of the value. The true value of the measurand lies within the interval  $x \pm U_{95}(x)$  with 95 % confidence. A certified value can be regarded as a normally distributed random variable with mean  $x$  and standard deviation  $U_{95\%}(x)/2$  [5].





INTI

Instituto Nacional  
de Tecnología Industrial



# Evaluación y desarrollo de un nuevo MR incurrido de micotoxinas en piensos

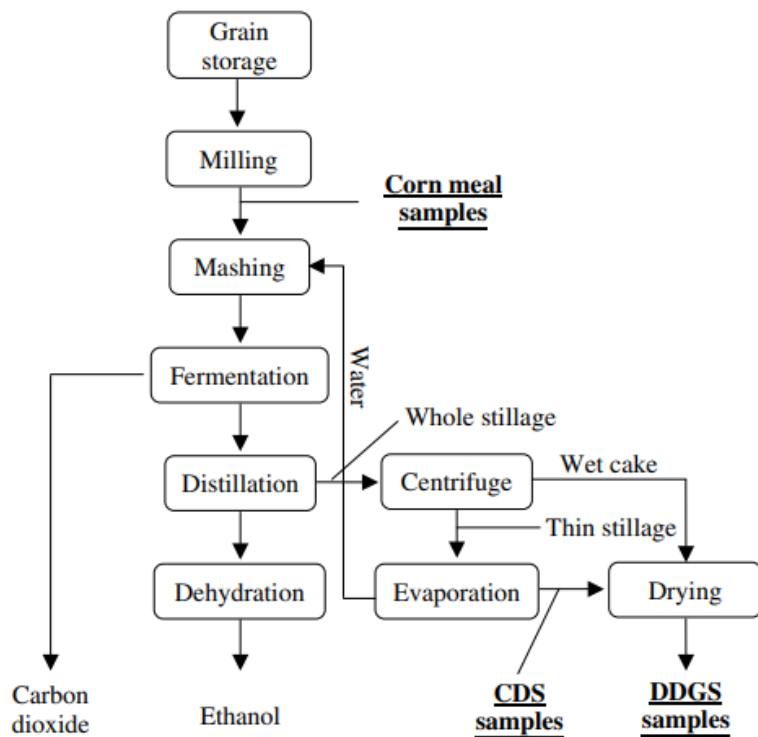
ID-LC-MS/MS

**INTI-NIST-SIM**

# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Situación y coyuntura.

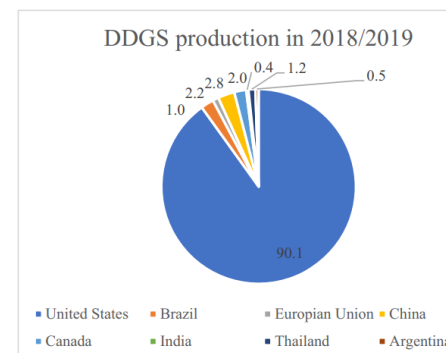
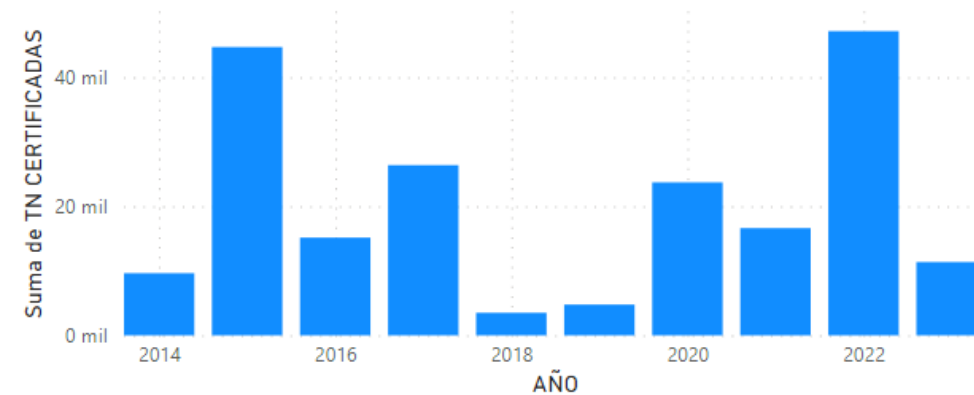
### Tipo de muestra



**Figure 1.** Sampling schema of corn meal, dried distiller's grain with solubles (DDGS) and condensed distiller's solubles (CDS) from a continuous corn dry-milling process plant.

### Exportación de DDGS en Argentina y E.E.U.U.

Suma de TN CERTIFICADAS por AÑO



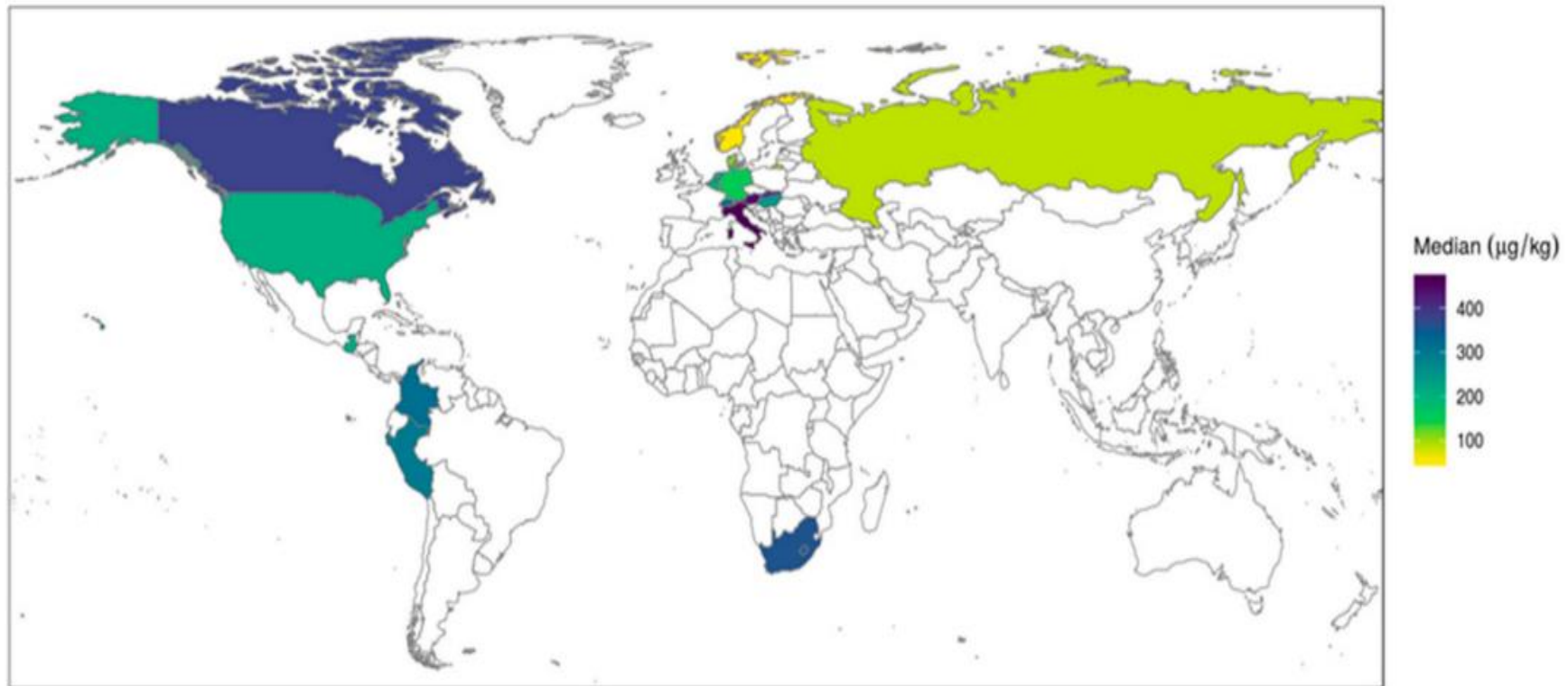
**Fig. 3** Estimation of DDGS production (% of million tons) in top eight countries (Cordonnier 2019; DOE 2019; Reuters 2019; Tunpaiboon 2019; USDA 2019; Voegelé 2019a, b)

# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Situación y coyuntura.

## Problemática a nivel mundial

Median Deoxynivalenol contamination (Countries with n > 4)

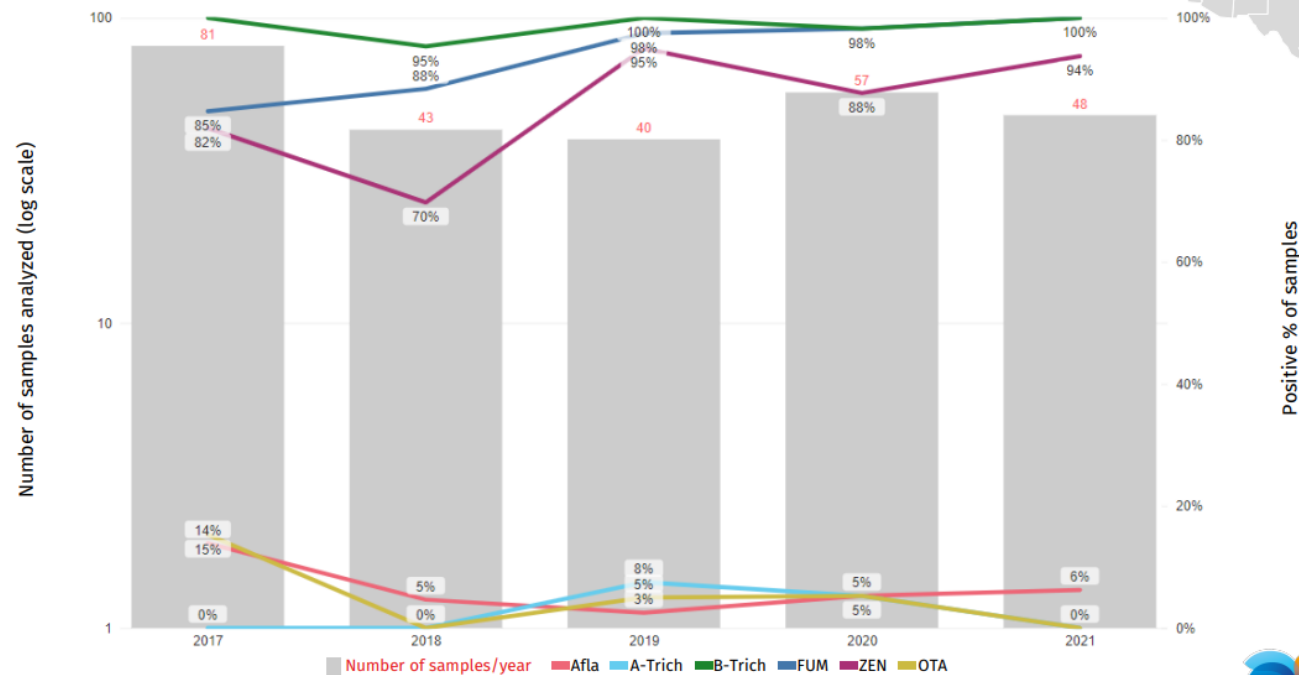


# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Situación y coyuntura.

## Problemática a nivel mundial

### Occurrence Trend in 2021 US Corn DDGS



Based on the samples analyzed.

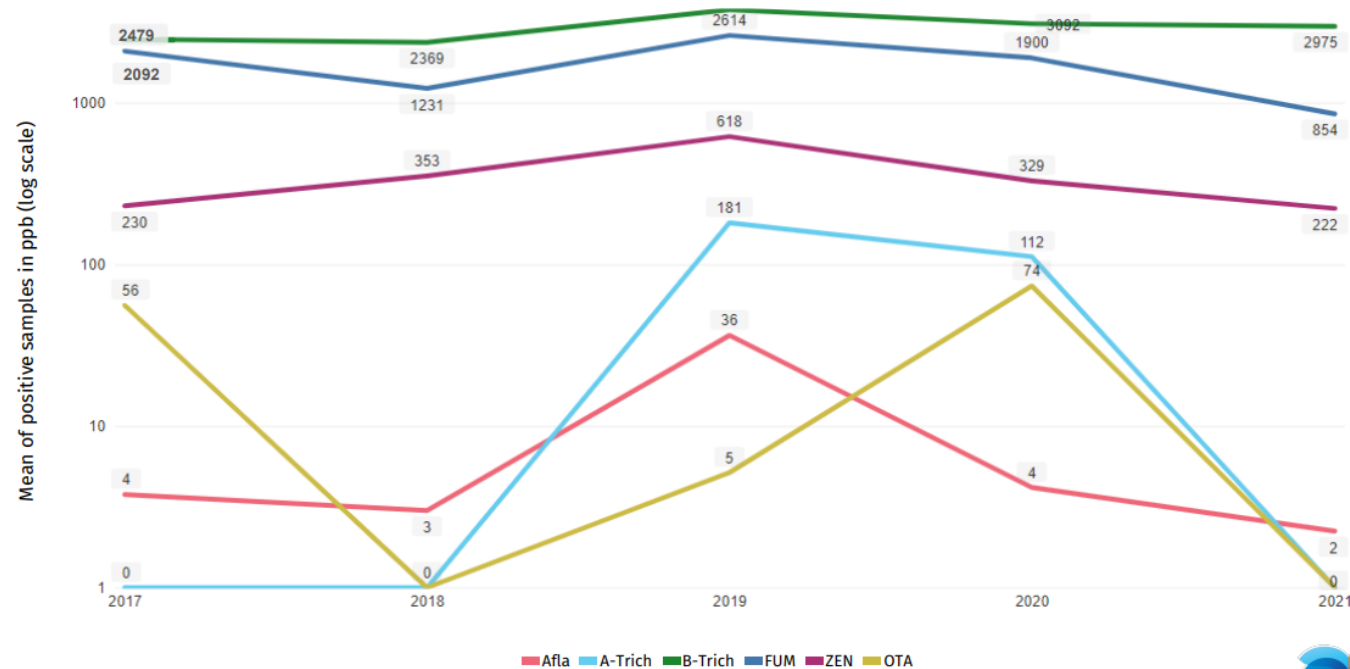


# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Situación y coyuntura.

## Problemática a nivel mundial

### Mean of Positives Trend in 2021 US Corn DDGS



Based on the samples analyzed.



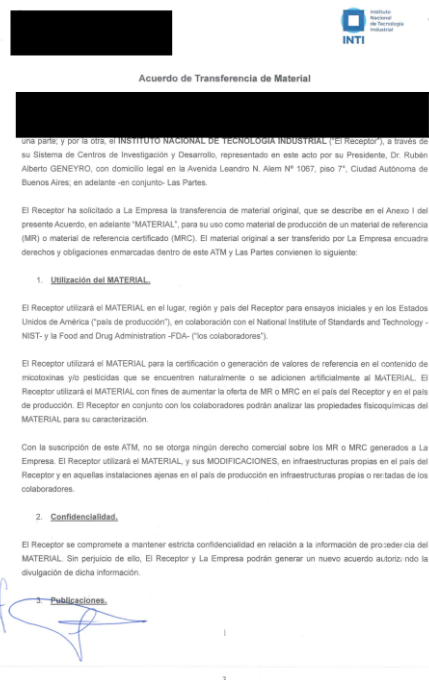


# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Desarrollo de MR candidato en DDGS

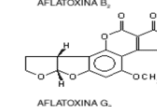
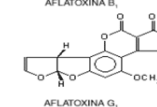
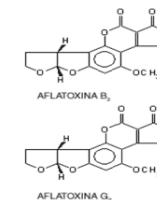
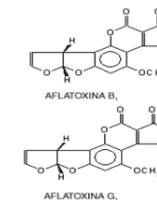
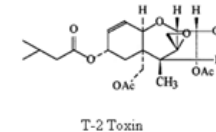
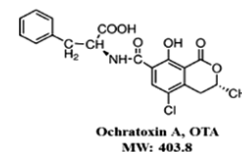
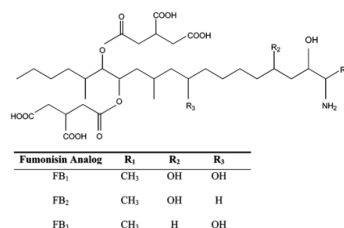
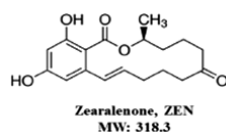
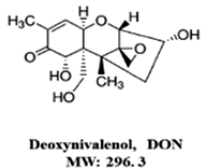
### Obtención del material y desarrollo metodológico

#### 1. Acuerdo de transferencia de material



#### 2. Contaminación natural

- Deoxinivalenol: 4000 ng/g
- Zearalenona: 250 ng/g
- Fumonisin B1: 4500ng/g
- Fumonisin B2: 1250 ng/g
- Fumonisin B3: 500 ng/g
- Aflatoxinas B1; B2: G1; G2 <5 ng/g
- Toxina T2 y ocratoxina < 50ng/g



# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Desarrollo de MR candidato en DDGS

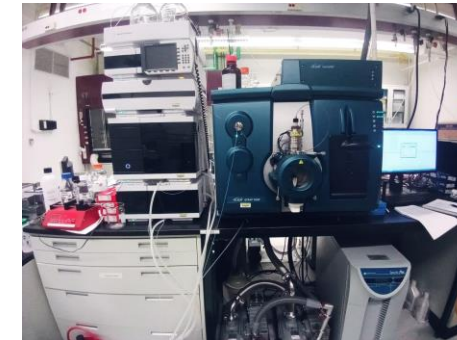
### Obtención del material y desarrollo metodológico

#### 1. Homogenización y molienda inicial



Cryogenic Grinder SPEX  
SamplePrep 6875D

#### 2. Puesta a punto de un método ID-LC-MS/MS



Sciex Qtrap 6500 LC MS/MS

#### 3. Desarrollo de metodología de extracción

- Número de extracciones
- Masa de muestra
- Proceso de extracción
- Estudios previos de validación



Glas Col  
LLC Vortexer



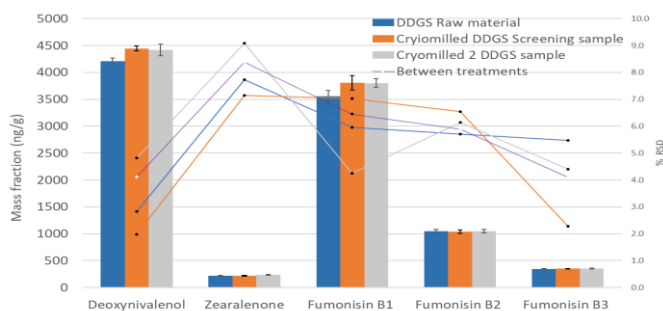
Ro-Tap  
Motorized Sieve  
Shaker model  
RX-30.

# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Desarrollo de MR candidato en DDGS

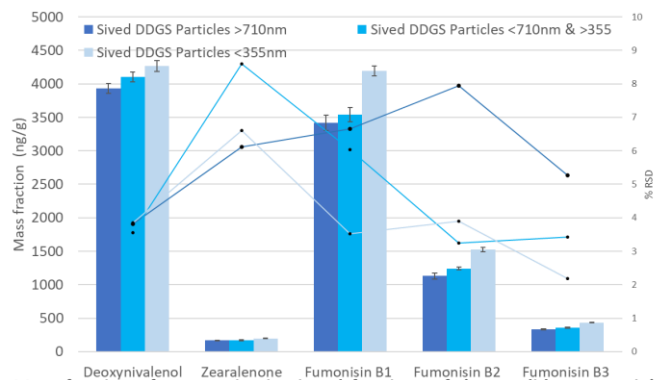
### Estudios previos de preparación del MR

#### 1. Evaluación del tamaño de partícula requerido



Mass fraction of mycotoxins from samples that were milled at various degrees. The raw DDG material was used as received (no milling) while the cryomilled DDGS sample contained the smallest particles. The cryomilled 2 DDGS sample was not milled as long as the cryomilled DDGS sample and represents material in between the raw and the cryomilled sample. Error bars represent the standard deviation of four replicates (each replicate was injected twice). The % RSD between replicates is also plotted.

#### 2. Homogeneidad de distribución de micotoxinas



Mass fraction of mycotoxins in sieved fractions of the candidate material. Error bars represent the standard deviation of 4 replicates (each replicate was injected twice). The % RSD between replicates is also plotted.

#### 3. Irradiación, evaluación de la estabilidad microbiológica

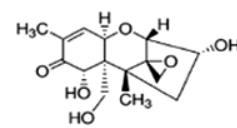
| Test (Time 0)                     | Control                     | 10 kGy     | 20 kGy     |
|-----------------------------------|-----------------------------|------------|------------|
| Total Mesophilic Aerobic Bacteria | 2,15x10 <sup>3</sup> CFU/g  | < 10 CFU/g | < 10 CFU/g |
| Fungal and Yeast Count            | 1,10x10 <sup>3</sup> CFU /g | < 10 CFU/g | < 10 CFU/g |
| Dose uniformity                   |                             | 1,09 kGy   | 1,00 kGy   |
| Dose rate                         |                             | 8,8 kGy/h  | 8,8 kGy/h  |

Dosimetry was performed with alanine dosimeter. 60Co source activity of approximately 800,000 Ci.

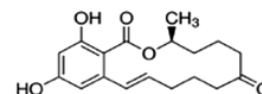
| Test (Time 5 months)              | Control                     | 10 kGy     | 20 kGy     |
|-----------------------------------|-----------------------------|------------|------------|
| Total Mesophilic Aerobic Bacteria | 7.7 x 10 <sup>2</sup> CFU/g | < 10 CFU/g | < 10 CFU/g |
| Fungal and Yeast Count            | 1.5x10 <sup>2</sup> CFU/g   | < 10 CFU/g | < 10 CFU/g |

Samples were storage at room temperature [10-30°C] and high humidity during storage.

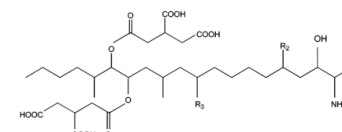
Effect of bacteria and yeast growth on a control sample (not irradiated), and for samples that were irradiated at 10KGy and 20KGy dose rates, after the samples were irradiated and after 5 months.



Deoxynivalenol, DON  
MW: 296.3



Zearalenone, ZEN  
MW: 318.3

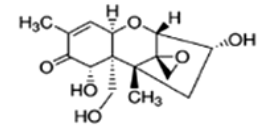
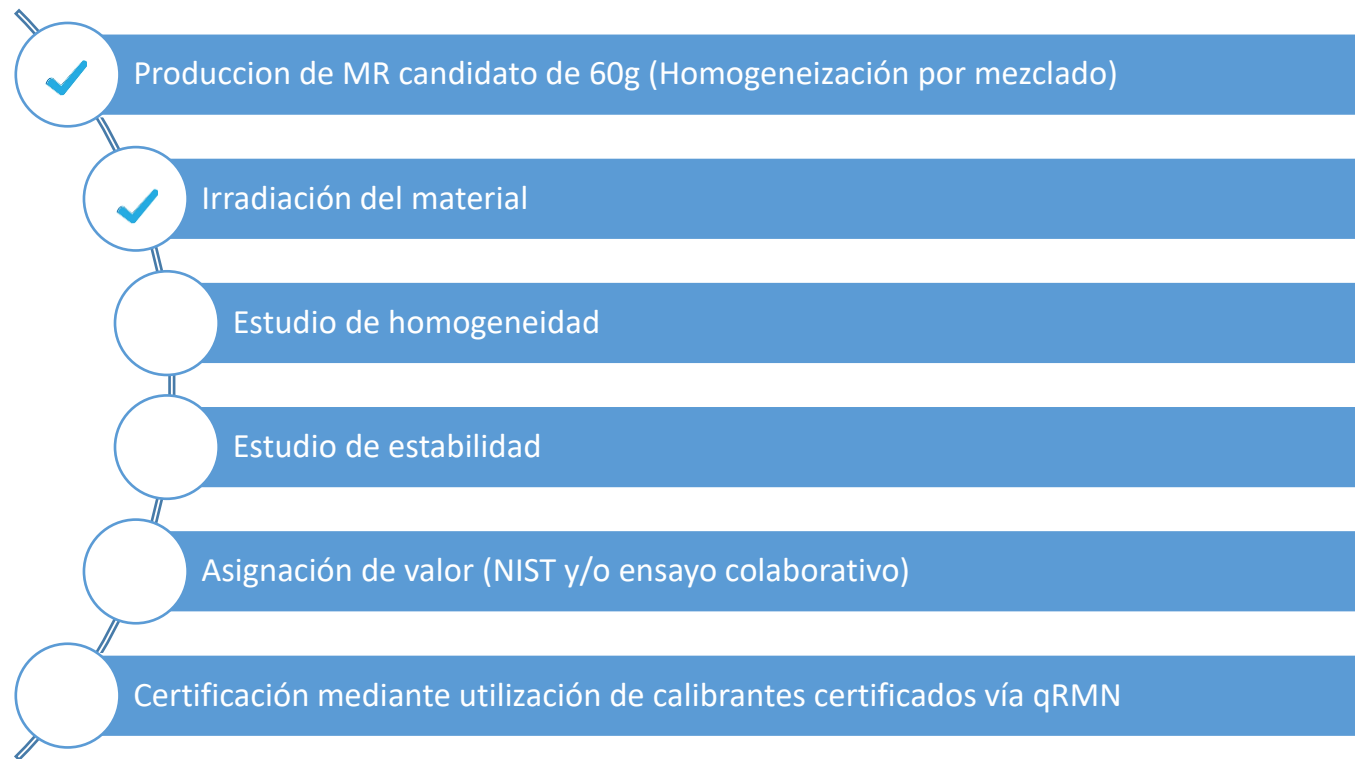


| Fumonisin Analog | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|------------------|-----------------|----------------|----------------|
| FB <sub>1</sub>  | CH <sub>3</sub> | OH             | OH             |
| FB <sub>2</sub>  | CH <sub>3</sub> | OH             | H              |
| FB <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> | H              | OH             |

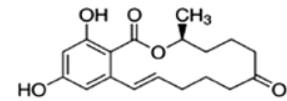
# Materiales de Referencia de Micotoxinas -Mediciones aplicadas a la protección del consumidor y calidad en exportaciones

## Desarrollo de MR candidato en DDGS

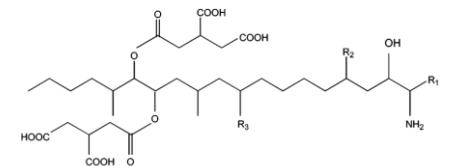
### Etapas del desarrollo de MR



**Deoxynivalenol, DON**  
MW: 296.3



**Zearalenone, ZEN**  
MW: 318.3



| Fumonisin Analog | R <sub>1</sub>  | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> |
|------------------|-----------------|----------------|----------------|
| FB <sub>1</sub>  | CH <sub>3</sub> | OH             | OH             |
| FB <sub>2</sub>  | CH <sub>3</sub> | OH             | H              |
| FB <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> | H              | OH             |



Instituto  
Nacional  
de Tecnología  
Industrial



Ministerio de Economía  
Argentina

Secretaría de Industria  
y Desarrollo Productivo

Seminario Día de la Metrología

# MUCHAS GRACIAS



[www.inti.gob.ar](http://www.inti.gob.ar) | [consultas@inti.gob.ar](mailto:consultas@inti.gob.ar) | 0800 444 4004