



**Universidad de Concepción
Facultad de Farmacia.**

***“Estudio de prevalencia de Ocratoxina A en vinos
chilenos: Importancia toxicológica de los niveles
detectados”***

**Maritza E. Alvarado Villarroel
Químico Farmacéutico**

**Tutor:
Profesor Mario Vega H.**

**Co-tutor:
Dr. Mario Aranda B.**

**Tesis para optar al grado de
Magíster en Ciencias Farmacéuticas
2009.**

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue optimizar y validar un método por cromatografía líquida para cuantificar selectivamente Ocratoxina A en vinos previamente purificados con columnas C₁₈. Las condiciones cromatográficas óptimas fueron definidas utilizando un diseño central compuesto para tres factores relevantes: porcentaje de acetonitrilo en la fase móvil, flujo y temperatura de la columna. Las respuestas de 16 experimentos realizados se ajustan a un modelo polinomial de segundo orden, el cual se utilizó para predecir las condiciones óptimas: fase móvil compuesta por acetonitrilo:agua:ácido acético (59.5:39.5:1.0 v/v/v), flujo de 1.2 ml min⁻¹ y temperatura de columna de 30°C. Con estas condiciones, se logró la efectiva separación y cuantificación de la micotoxina en menos de 5 minutos, usando una columna C₁₈ YMC-Pack ODS-A (150 x 4.6 mm, S-5 µm) y detección por fluorescencia a las longitudes de onda de excitación y emisión de 333 nm y 460 nm, respectivamente. La validación se realizó de acuerdo a la ICH guidelines. La calibración se ajustó a un modelo de regresión lineal en un rango 0.5 a 50 ng ml⁻¹ con un coeficiente de determinación (R²) de 0.9992. La repetibilidad (desviación estándar relativa, RSD) y la precisión intermedia en matriz arrojaron valores de 1.3% (n=6) y 0.8% (n=3) respectivamente. Los límites de detección y cuantificación fueron 0.03 y 0.1 ng ml⁻¹, respectivamente. Los estudios de recuperación en muestras sobrecargadas a cinco niveles de concentración se encontraron en el rango de 87.2 a 118.9% con un promedio de RSD de 7.4%. Adicionalmente, la exactitud también fue evaluada por comparación de metodologías. Los resultados obtenidos con el presente método fueron estadísticamente no diferentes (F-test, t-test) a los obtenidos con el método oficial de la Organización Internacional del Vino y la Viña (OIV). Por lo tanto, la metodología aquí propuesta es altamente útil y representa una buena alternativa para la determinación de ocratoxina A en vino bajo el límite máximo residual.