

# VIGILANCIA DE AFLATOXINA B1 EN PIPAS, FRUTOS SECOS Y PRODUCTOS DERIVADOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, EPIDEMIOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA (INHEM)



## RESUMEN

Los frutos secos son aquellos que poseen escasa proporción de agua en su composición y se encuentran concentrados energéticamente. Existen numerosos estudios sobre el grado de contaminación por aflatoxinas en distintos frutos secos como cacahuètes, pistachos o almendras. El objetivo de este trabajo fue identificar los resultados de la vigilancia de aflatoxina B1 en frutos secos, pipas y productos derivados por cromatografía líquida de alta resolución. En el período comprendido entre enero 2015 a diciembre 2017 se realizó un estudio descriptivo transversal con las muestras llegadas al laboratorio de micotoxinas adquiridas a través de los departamentos de Registro Sanitario e Higiene e Inocuidad de los Alimentos del INHEM. El universo estuvo constituido por 40 unidades. De las muestras analizadas se halló que el 20% estaban contaminadas con aflatoxina B1. El valor máximo de contaminación encontrado fue de 2.06  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y el valor mínimo de 0.03  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Se muestran las variedades de frutos secos analizadas durante el período de estudio además de las variedades de frutos secos que se recibieron en el laboratorio en los tres años de estudio observándose que los resultados son similares a los reportados por otros autores.

I. Hernández Garcíarena<sup>1</sup>; R. García Baluja<sup>1</sup>; A. M. Jordán Quintáns<sup>1</sup>; Y. Sánchez Azahares<sup>1</sup>; M. Cardona Gálvez<sup>1</sup> y A. Vivar Pérez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología (INHEM). La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA). La Habana, Cuba

## INTRODUCCIÓN

Las micotoxinas son compuestos altamente tóxicos originados del metabolismo secundario de ciertos hongos. Pueden formarse tanto en el cultivo del alimento en el campo, como durante la recolección, transporte y almacenamiento. Entre las condiciones favorables para su desarrollo se destacan factores físicos, tales como humedad y agua disponible, temperatura e integridad física del grano o del alimento, y factores químicos tales como composición del sustrato, pH, nutrientes minerales y disponibilidad de oxígeno. Las micotoxinas se producen en los frutos secos, los cereales y el arroz por acción de hongos como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*<sup>(1,2,3)</sup>.

Los efectos tóxicos de las micotoxinas sobre la salud humana y animal incluyen carcinogenicidad, inmunosupresión y disrupciones endocrinas; la principal vía de exposición es la oral a través del consumo de alimentos contaminados, aunque también se presentan casos de micotoxicosis por inhalación<sup>(1,4)</sup>.

De entre todas las aflatoxinas (B1, B2, G1, G2, M1 y M2), se destaca desde el punto de vista de la seguridad alimentaria la aflatoxina B1, tanto por ser la más prevalente en alimentos como la más tóxica para los seres humanos.

Los frutos secos son aquellas frutas que poseen escasa proporción de agua en su composición. Desde el punto de vista nutricional, poseen alta densidad calórica, proteínas y vitaminas y son excelentes para combatir el estrés. Todos los frutos secos tienen una característica en común en su composición natural (sin manipulación humana): son alimentos muy energé-

ricos, ricos en grasas, en proteínas, así como en oligoelementos. Según el tipo de fruto seco, también pueden aportar buenas cantidades de vitaminas (sobre todo del grupo B) y ácidos grasos omega 3<sup>(5,6)</sup>.

Los frutos secos, semillas y especies tropicales resultan especialmente sensibles a la contaminación con hongos. Entre los más ricos en aflatoxinas se encuentran los cacahuètes, nueces de Brasil, almendras y pistachos. Las autoridades sanitarias europeas han puesto cerco a las aflatoxinas después de que estudios clínicos vincularan su presencia en alimentos como cacahuètes, pistachos, nueces o frutos secos de origen tropical con un riesgo de cáncer hepático<sup>(7,8)</sup>. Existen numerosos estudios sobre el grado de contaminación por aflatoxinas en distintos frutos secos<sup>(9,10)</sup>. En el año 2008, el Codex Alimentarius estableció que para frutos secos listos para consumo, el nivel máximo de aflatoxinas totales varía entre 10 µg/kg y 15 µg/kg dependiendo del fruto seco del que se trate<sup>(11, 12)</sup>. Esta propuesta fue aceptada por la Unión Europea en el 2009<sup>(13)</sup> aunque el Codex Alimentarius<sup>(11)</sup> al igual que las normas de muchos países proponen entre 5 µg/kg y 8 para aflatoxina B1 en los frutos secos<sup>(14)</sup>.

El Instituto Nacional de Higiene Epidemiología y Microbiología (INHEM) tiene dentro de sus funciones la misión de realizar la vigilancia de los diferentes contaminantes para todo tipo de alimentos y entre ellos se encuentran los frutos secos, por lo que este equipo de trabajo se trazó como objetivo principal identificar el comportamiento de la vigilancia de aflatoxina B1 en frutos secos, pipas y productos derivados por Cromatografía Líquida de Alta Resolución utilizando columnas multifuncionales y el método de análisis propuesto por Barbas y col.<sup>(15)</sup>.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal con las muestras de pipas, frutos secos y subproductos llegadas al laboratorio de micotoxinas del INHEM, estas muestras fueron adquiridas a través de los departamentos de Registro Sanitario e Higiene e Inocuidad de los Alimentos analizándose un total de 40 muestras que constituyó el universo en el periodo de estudio comprendido entre enero 2015 a diciembre 2017.



**François Frères**  
TONNELLERIE



# CERSA



**Henkel**  
Adhesive Technologies



**Rousselot**  
a Sobel Company

## CENTRO ENOLÓGICO RIVADAVIA S.A.

COMERCIALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN EN ARGENTINA Y LATINOAMÉRICA DE PRODUCTOS QUÍMICOS PARA LA INDUSTRIA VITIVINÍCOLA



**AB Enzymes**  
an ABF ingredients company



**TATE & LYLE**  
CONSISTENTLY FIRST IN RENEWABLE INGREDIENTS

■ MENDOZA

Tels.: 54 (0261) 4932626 / 2666 / 2502 - mendoza@centro-enologico.com  
Maza Norte 3237 Gutiérrez (5511) Maipú, Mendoza.

● CERSA atiende directamente las siguientes zonas en Argentina:  
*Neuquén, San Luis, San Juan, La Rioja, Salta, Tucumán, Catamarca y Jujuy.*



**AB MAURI**



**SOLVAY**

■ CALIDAD DE PRODUCTO, SERVICIO, SEGURIDAD Y EXPERIENCIA

[WWW.CENTROENOLOGICO.COM.AR](http://WWW.CENTROENOLOGICO.COM.AR)



**BASF**  
The Chemical Company



**CERSA**  
IMPORTACIÓN

- Acido Cítrico
- Carbón Activado
- Carbonato e H. de Potasio
- Metabisulfito de Potasio
- Metabisulfito de Sodio
- Sorbato de Potasio

DEXTROGUM  
Y LEVOGUM  
GOMAS ARÁBIGAS

VINTAGE

- Bisulfito de Amonio
- Bisulfito de Potasio





Se analizaron un total de 40 muestras por duplicado, utilizando el método de extracción propuesto por Barbas y col. para la cuantificación de aflatoxinas por HPLC, que se fundamenta sobre la extracción de la micotoxina con metanol o acetonitrilo. En cada caso, la muestra se procesó en un molino de granos con un tamiz de tamaño de poro de 2 mm, luego se agitó por 45 minutos y se centrifugó a 3000 rpm durante 20 minutos a 4°C. Después de este tiempo se colocó la columna multifuncional o de inmunoafinidad (columnas de la firma Grace Davison Discovery Sciences) en el

adaptador del manifold para extracción en fase sólida, donde el flujo no debe exceder las tres gotas por minuto. Luego se colocó un recipiente adecuado (frasco corazón) debajo de la columna y se eluyó el eluato con 1 a 3 ml de metanol en pequeñas porciones, esta solución se llevó a sequedad con corriente de nitrógeno a 40°C. Después se reconstituyó con fase móvil quedando lista para ser inyectada en el equipo HPLC<sup>(15)</sup>. Las condiciones de la corrida cromatográfica fueron:

Fase móvil: Acetonitrilo – Metanol – Agua; 90, 90, 400  
 Flujo: 0.8 mL / min  
 Temperatura: 40°C.  
 Detector UV a 365 nm.  
 Columna de fase reversa RP-18 Lichrospher (12,5 cm x 4,5 mmØx5m).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra los productos analizados durante el período de estudio. Se observa que la entrada de muestras al laboratorio no es uniforme cada año, además de que no siempre se reciben las mismas muestras porque este proceso depende de muchos factores, entre los que se encuentran la necesidad de cada proveedor de analizar su producto.

Las muestras de maní tostado natural y las muestras de maní garrapiñado son las que se recibieron en el laboratorio en los tres años de estudio, otras muestras como la manteca de maní, las nueces con cascara, los pistachos, los cacahuets fritos con miel, los cocteles de frutos secos, la pasta de avellana, la almendra, la pasta de almendra y el turrón de alicante se recibieron durante dos años de los tres de estudio y otras, como la semilla de sésamo, maní triturado, maní en grano, etc, sólo se recibieron en un año en el laboratorio para su posterior análisis.

En la tabla 2 se presentan las muestras que resultaron positivas a la contaminación con aflatoxina B1 durante el período de estudio. Se aprecia que en el 2015 no hubo resultados positivos en las cuatro muestras analizadas. En el año 2016 sólo una muestra arrojó resultado positivo de nueve analizadas (11,11%). En el 2017, se encontraron siete muestras contaminadas con aflatoxinas de 27 muestras recibidas en el laboratorio (25,93% de positividad). Aquí se aprecia una similitud

**SILPLAST**  
 ENVASES PLÁSTICOS

- POTES A ROSCA
- POTES A PRESIÓN
- LINEA APICOLA
- MATRICERIA PROPIA
- ENVIOS AL INTERIOR
- SERVICIO DE ETIQUETADO
- IMPRESIÓN SERIGRAFICA

**ENVASES VARIOS USOS**

Migueletes 2425 (B1778DZA) Ciudad Evita – Bs. As.  
 Tel.: (54 11) 2078-7100 / 4620-5266  
 info@silplast.com.ar - www.silplast.com.ar

**TABLA 1** - Productos evaluados por año

Fruto o subproducto de fruto seco	Año de Análisis		
	2015	2016	2017
	Cantidad de productos Evaluados		
	4	9	27
Mantequilla de maní		1	2
Semilla de Chia			1
Semilla de Lino			1
Semilla de sésamo			3
Maní Triturado			1
Muesli con Frutas			1
Turrón de Maní con Cremas			1
Maní Garapiñado	1	1	2
Maní Tostado Salado			1
Nueces con Cascara		1	
Pistachos		1	
Cacahuete Frito con Miel		1	
Coctel de frutos Secos		1	
Avellana			2
Pasta de Avellana		1	
Pipas de calabaza			1
Almendras	1		1
Pasta de Almendras		1	
Turrón de Alicante	1		
Harina de Almendras			1
TurrónBlando de Maní			1
TurrónDuro de Maní			1
Granillo de Almendra			1
FrutosSecos			2
Maní			1
Maní Tostado Natural	1	1	2
Laminas de Almendras			1

Fuente: registro laboratorio de Micotoxinas

con los resultados reportados por Montaner<sup>(7)</sup> que examinó 197 muestras y encontró en el 70% de los casos cantidades indetectables de aflatoxinas, y EFSA<sup>(10)</sup> que mostró que en el 25% de las muestras analizadas se detectaron niveles de aflatoxinas por debajo de los LMR que fijan las normas de muchos países<sup>(11,12,13)</sup>

Montaner<sup>(7)</sup> reporta que en un control selectivo de aflatoxinas realizado en pistachos y cacahuets (los frutos secos más consumidos), donde las muestras fueron recogidas directamente de establecimientos mayoristas (21 muestras de pistachos y 38 de cacahuets), cuatro de las muestras de pistachos analizadas contenían niveles de aflatoxinas superiores a los permitidos por la legislación<sup>(14)</sup> (19,05%) y el nivel más elevado correspondió a una muestra en la que se encontraron 84 µg/kg de aflatoxina B1 y 15 µg/kg de aflatoxina B2. Asimismo, en tres de las muestras de cacahuets se detectaron niveles ligeramente superiores a los permitidos (7,89%). Los porcentajes de contaminación encontrados por nuestro equipo de trabajo en cada año se encuentran entre 11,11% en el 2016 y 25,93% en el 2017, estos valores se encuentran en el rango de los reportados por otros autores en diferentes países.

La Food Standards Agency (FSA) del Reino Unido certificó que en el 95% de las muestras de frutos secos comercializados en ese país los niveles de aflatoxinas estaban ausentes o se encontraban muy por debajo de lo que marca la ley. Pero sostienen que aun siendo muy pocas, las marcas que contienen más aflatoxinas de lo permitido han proliferado con respecto a resultados de años anteriores<sup>(7)</sup>.

La tabla 3 muestra los valores de aflatoxina B1 en los productos que resultaron contaminados durante el período de estudio, todas esas muestras resultaron ser de producciones foráneas, como en el estudio rea-

La tabla 3 muestra los valores de aflatoxina B1 en los productos que resultaron contaminados durante el período de estudio, todas esas muestras resultaron ser de producciones foráneas, como en el estudio rea-

## División FRUTIHORTÍCOLA

Tecnología, innovación y eficiencia productiva





- € Líneas completas para el procesamiento de frutas: frutillas, arándanos, etc.
- € Sistemas de lavado para frutas, verduras y hortalizas
- € Túneles de congelado IQF para frutas y verduras, enteras o cubeteadas
- € Líneas de clasificación, tamañado y empaque de fruta congelada

- € Túneles hidrocooling para procesamiento de frutas y hortalizas
- € Equipos para escaldado por vapor o agua caliente
- € Plantas para elaboración de pulpas y néctares de frutas
- € Concentración de jugos y néctares

**www.asema.com.ar**

asema@asema.com.ar  
Tel/Fax: +54 (0342) 490-4600

Ruta Prov. N°2 km 13  
Monte Vera (3014) | Santa Fe, Argentina

**TABLA 2** - Niveles de aflatoxinas encontrados en las muestras analizadas por años

Fruto o subproducto de fruto seco	Año de Análisis			Total
	2015	2016	2017	
<b>Cantidad de productos Evaluados</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>27</b>	<b>40</b>
Mantequilla de maní		0.21	0.03	2
Semilla de Chia			2.06	1
Semilla de Lino			1.02	1
Semilla de sésamo			0.12	1
Maní en granos			0.11	1
Nueces con Cascara			0.21	1
Coctel de frutos Secos			0.97	1
<b>Porcentaje de Contaminación</b>	<b>0%</b>	<b>11.11%</b>	<b>25.93%</b>	<b>20%</b>

Fuente: registro laboratorio de Micotoxinas

**TABLA 3** - Valores de las muestras contaminadas

Muestras	Valor µg/kg	LMR
Mantequilla de maní(2016)	0.03	<b>5 µg/kg</b>
Semilla de Chia	2.06	
Semilla de Lino	1.02	
Semilla de sésamo	0.12	
Maní Triturado	0.97	
Muesli con Frutas	0.21	
Maní en granos	0.11	
Mantequilla de Maní(2017)	0.21	

Fuente: registro laboratorio de Micotoxinas

lizado con pistachos y cacahuets en el 2004 por Montaner<sup>(7,9,13)</sup>. En nuestro estudio, sólo una muestra resultó ser de producción nacional, encontrándose valores -al igual que las demás- por debajo de lo establecido en las leyes y normas cubanas e internacionales. Se observa que la mantequilla de maní analizada en el 2016 y en el 2017 arrojó niveles de contaminación de 0.21 y 0.03 µg/kg, aunque estos se mantuvieron por debajo de lo que establecen las legislaciones internacionales.

Según plantea Gimferrer<sup>(13)</sup> los últimos niveles permitidos de aflatoxinas por la Comisión Europea son de 4 µg/kg a 10 µg/kg en almendras, avellanas y pistachos. La norma Codex CXS 193-195 indica valores entre 10 y 15 µg/kg; la norma cubana NC 1205: 2017 para este tipo de alimento indica que los niveles de aflatoxinas deben estar entre 5 y 10 µg/kg de producto. En las semillas oleaginosas, también susceptibles de contaminación por aflatoxinas, los niveles permitidos deben ser más estrictos, según informa la EFSA<sup>(10)</sup>. Nuestros resultados se mantuvieron por debajo de los LMR de las legislaciones consultadas.

Escudero<sup>(16)</sup> (2016) utilizando un método HPLC-FL y el uso de columnas de inmunoafinidad, plantea que es un método fácil, reproducible y robusto que permitió identificar con exactitud y especificidad las aflatoxinas, demostrando además que la totalidad de las

muestras de semilla, cáscara y pelón de las matrices en estudio (nueces y almendras), estuvieron bajo el límite de detección. Verónica Alfaro y col.<sup>(17)</sup> utilizaron cromatografía líquida de ultra-alta resolución con detección UV y concluyeron que el UHPLC-UV es una técnica adecuada y rápida para el análisis cromatográfico de las aflatoxinas, a partir de un proceso simple de extracción de

estos analitos en semillas de anacardo. En nuestro caso utilizamos un método HPLC-UV con columnas multifuncionales y nuestros resultados coinciden casi en su totalidad con los que plantean estos equipos de trabajo.

Blanco Rojo y sus colaboradores<sup>(18)</sup>, en un estudio realizado en el 2007 con uvas pasas, encontraron que de 25 muestras analizadas, sólo el 12% presentaba concentraciones superiores a las permitidas por la legislación europea para este producto y esta toxina. En el presente estudio de 40 muestras analizadas, solo ocho (el 20%) se encontraban contaminadas, y todas con valores por debajo de los LMR que establece las normas y legislaciones vigentes.

### CONCLUSIONES

Aunque se encontraron muestras positivas en los productos analizados, no se registraron valores por encima de los LMR.

El HPLC-UV es una técnica adecuada y rápida para el análisis cromatográfico de la aflatoxina AFB1 en frutos secos.

Se recomienda continuar este estudio por un mayor tiempo y con un mayor número de muestras.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rodríguez HWM. Micotoxinas y Aflatoxina B1, un problema en salud animal. Revista Teoría y Praxis Investigativa. Centro de Investigación y Desarrollo. CID. Fundación Universitaria de Área Andina. 2010; 5, 71-78.
2. Instituto de Salud Pública. Gobierno de Chile. 2013 Informe de Resultados de Vigilancia de Laboratorio Micotoxinas en Alimentos en <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documentotecnico/2015/11/Informe-Micotoxinas-2013-final.pdf>
3. Gimeno A., Martis M. L. Micotoxinas y Micotoxicosis en animales y humanos. 3° edición [Internet]. en: <http://www.specialnutrients.com/pdf/book/3%20edicion%20MICOTOXINAS%20LR%20Secure.pdf>
4. Duarte-Vogel S, Villamil-Jiménez LC. Micotoxins in PublicHealth. Revista de Salud Pública. 2006 May; 8:129–35.
5. Top 10 frutos secos para una dieta fitness en <https://www.hsnstore.com/blog/top-10-frutos-secos-para-una-dieta-fitness/>
6. Frutos Secos en [https://es.wikipedia.org/wiki/Fruto\\_seco](https://es.wikipedia.org/wiki/Fruto_seco)
7. Montaner J. 2004 Aflatoxinas y frutos secos. en <http://www.consumer.es /seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2004/08/17 /13973.php>
8. Zhang D, Li P, Zhang Q, Zhang, W. Biosensors & Bioelectronics 2011; 26: 2877.
9. Rodrigues P, Venancio A, Lima N. FoodResearchInt. 2012; 48: 76.
10. EFSA <http://www.efsa.europa.eu/en/contamttopics/topic/aflatoxins.htm>. Recuperada en 25 de abril de 2018.
11. Codex Alimentarius Norma General para los Contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos. CXS 193-195. Adoptada en 1995 Revisada en 1997, 2006, 2008, 2009 Enmendada en 2010, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017.
12. NC 1205: 2017. Norma General para los Contaminantes y las toxinas en los alimentos y piensos
13. Gimferrer Morató N 2012. Combatir las aflatoxinas en los frutos secos <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2012/04/16/208753.php>
14. Codex Alimentarius: International Food Standars. [Internet]. [Roma]: Food and Agriculture Organization of the United Nations; [fechadesconocida]. About Codex; [actualizado 2 Ene 2014; citado 2014 Ene 18]. Disponible en: <http://www.codexalimentarius.org/about-codex/en/>
15. Barbas C, Dams A, Majors R. E. 2005. Separation of Aflatoxins by HPLC. Application, Environmental, Food Safety... Facultad de CC Experimentales y de La Salud, Universidad San Pablo-CEU, Urbanización Montepíncipe, Boadilla del Monte, 28668 Madrid, Spain.. Agilent Technologies, Inc. Amstelveen, The Netherlands. Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road. Wilmington, DE 19808-1610. USA. en <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-3634EN.pdf>
16. Escudero A, Indira M 2016 Determinación de la contaminación de aflatoxinas en nueces y almendras recolectadas en centros de producción: estudio preliminar. Repositorio Académico de la Universidad de Chile. Inicio Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Tesis Postgrado. En <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/138261>
17. Veronica Alfaro C, Broto-Puig F, Agut M, Comellas L. Estudio de la producción de aflatoxinas B1, G1, B2 y G2 en semillas de anacardo por parte de Aspergillus parasiticus CECT 2681 mediante cromatografía líquida de ultra-alta resolución: en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4472709>
18. Blanco Rojo R, Pavón Moreno M, A, Alonso González I, Tutores: García Lacarra T, Martín de Santos M<sup>a</sup> R, 2007. Detección de Ocratoxina A en Higos secos mediante HPLC. Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria, UCM. ISSN: 1988-2688 RCCV Vol. 1 (2).

**On line en**  
**www.publitec.com**

Av. Honorio Pueyrredón 550 - Piso 1 (1405) CABA - ARGENTINA  
 Tel.: +54 11 6009 3067 - info@publitec.com.ar