

Índice de Contenidos

1	INTRODUCCIÓN	19
1.1	PRODUCCIÓN Y EXPORTACIONES	19
1.2	MICOTOXINAS	26
1.3	EL CULTIVO DE MANÍ EN ARGENTINA	30
1.3.1	ETIOLOGÍA DE <i>ASPERGILLUS</i>	34
1.3.2	OCURRENCIA DE <i>ASPERGILLUS</i> EN EL CULTIVO DE MANÍ EN ARGENTINA	35
1.3.3	CONDICIONES DE PRODUCCIÓN DE AFLATOXINAS	37
1.3.4	SUELOS.....	39
1.3.5	RESISTENCIA DEL CULTIVO A LA INFECCIÓN POR <i>ASPERGILLUS</i>	42
1.4	AFLATOXINAS	44
1.4.1	ESTRUCTURA Y TOXICIDAD	46
1.4.2	METABOLISMO	50
1.4.3	ALIMENTOS CONTAMINADOS POR AFLATOXINAS	53
1.5	LEGISLACIÓN Y VIGILANCIA DE LAS AFLATOXINAS	56
1.5.1	AFLATOXINAS TOTALES EN LOS ALIMENTOS	58
1.5.2	AFLATOXINA AFB ₁ EN LOS ALIMENTOS.....	59
1.5.3	CODEX ALIMENTARIOUS	60
1.5.4	ARGENTINA	60
1.5.5	EUROPA.....	61
1.5.6	ESTADOS UNIDOS.....	62
1.6	DATOS ESTADÍSTICOS DE OCURRENCIA DE MICOTOXINAS	63
1.6.1	EUROPA.....	68
1.6.2	ASIA.....	69
1.6.3	NORTEAMÉRICA	69
1.6.4	SUDAMÉRICA.....	69

Índice de Contenidos

1.6.5	MEDIO ESTE	70
1.6.6	ÁFRICA	70
1.7	PLANES DE MUESTREO DE AFLATOXINAS Y TOMA DE DESICIONES	71
1.7.1	CODEX ALIMENTARIOUS	73
1.7.1.1	Plan de muestreo para maní.....	73
1.7.1.2	Preparación de la muestra.....	74
1.7.1.3	Homogeneización - trituración	74
1.7.1.4	Porción de ensayo.....	75
1.8	PLANES DE MUESTREOS UTILIZADOS EN ARGENTINA	75
1.8.1	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DEL LOTE	77
1.9	PLANES DE MUESTREO EN LA COMUNIDAD EUROPA	78
1.9.1	ACEPTACIÓN DE UN LOTE O SUBLOTE	78
1.10	PLANES DE INSPECCIÓN EN LOS ESTADOS UNIDOS	79
1.10.1	PLAN DE INSPECCIÓN	79
1.10.2	CRITERIO DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO.....	79
1.11	MÉTODOS DE ANÁLISIS DE AFLATOXINAS	81
1.11.1	VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	84
1.12	TRATAMIENTOS PARA ELIMINAR AFLATOXINAS.....	86
1.13	PROCESAMIENTO DE MANÍ BLANQUEADO	91
1.13.1	SELECCIÓN DE LOTES DE MANÍ CONFITERÍA.....	94
1.13.2	TRATAMIENTO TÉRMICO	94
1.13.3	ESTABILIZACIÓN	99
1.13.4	BLANQUEADO.....	99
1.13.5	SELECCIÓN ELECTRÓNICA	100
1.13.6	TAMIZADO	102
1.13.7	SELECCIÓN MANUAL	102
1.13.8	RENDIMIENTOS DEL PROCESO DE BLANQUEADO	103

Índice de Contenidos

2	OBJETIVOS	111
3	MATERIALES Y MÉTODOS	115
3.1	ANÁLISIS DE HUMEDAD	117
3.2	MUESTREO DE PRODUCTO BLANQUEADO	118
3.3	ANÁLISIS DE AFLATOXINAS	120
3.3.1	REDUCCIÓN DE LA MUESTRA.....	123
3.3.2	HOMOGENEIZACIÓN DE LA MUESTRA	124
3.3.3	EXTRACCIÓN DE AFLATOXINAS	124
3.3.4	PURIFICACIÓN.....	125
3.3.5	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE AFLATOXINAS.....	125
3.3.6	ESTANDARES CROMATOGRÁFICOS	126
3.4	ANÁLISIS DE ÁCIDO OLEICO.....	126
3.4.1	EXTRACCIÓN DEL ACEITE EN FRÍO.....	126
3.4.2	DERIVATIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS.	127
3.4.3	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS.....	127
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	128
3.5.1	LINEALIDAD	129
3.5.2	LÍMITE DE DETECCIÓN.....	130
3.5.3	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	131
3.5.4	EXACTITUD	131
3.5.5	REPETIBILIDAD	132
3.5.6	REPRODUCIBILIDAD (PRECISIÓN INTERMEDIA)	133
3.5.7	EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE	135
3.5.8	ESTUDIO DE LA EXACTITUD (RECUPERACIONES).....	138

Índice de Contenidos

3.5.9 ESTUDIO DE LA INCERTIDUMBRE DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS ESTÁNDARES PARA LA CALIBRACIÓN	138
3.5.10 CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE EXPANDIDA.....	139
3.6 LÍNEAS DE PROCESO INDUSTRIAL	140
3.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS: RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS EN MUESTRAS DE MANÍ	142
<u>4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	<u>147</u>
4.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE AFLATOXINAS.....	147
4.1.1 LINEALIDAD	147
4.1.2 LÍMITE DE DETECCIÓN	155
4.1.3 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	156
4.1.4 EXACTITUD	157
4.1.5 REPETIBILIDAD	157
4.1.6 REPRODUCIBILIDAD (PRECISIÓN INTERMEDIA)	158
4.1.7 EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE	159
4.1.8 ESTUDIO DE LA PRECISIÓN	160
4.1.9 ESTUDIO DE LA EXACTITUD (RECUPERACIONES)	160
4.1.10 ESTUDIO DE LA INCERTIDUMBRE DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS ESTÁNDARES PARA LA CALIBRACIÓN	161
4.1.11 CÁLCULO DE LA INCERTIDUMBRE EXPANDIDA.....	163
4.1.12 RESULTADOS FINALES.....	166
4.2 ANÁLISIS DE MANÍ EN CAJA	167
4.3 ZONAS GEOGRÁFICAS DE PRODUCCIÓN CONSIDERADAS.....	168
4.3.1 CICLO 2010/2011.....	170
4.3.2 CICLO 2011/2012.....	172

Índice de Contenidos

4.3.3	CICLO 2012/2013.....	174
4.4	ACONDICIONAMIENTO Y ALMACENAMIENTO DE MANÍ EN CAJA	180
4.5	MICROBIOLOGÍA	184
4.6	ANÁLISIS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO.....	186
4.7	TRATAMIENTOS DE DESTRUCCIÓN DE AFLATOXINAS.....	190
4.8	PROCESO DE BLANQUEADO EN SECO	192
4.8.1	SELECCIÓN ELECTRÓNICA	192
4.9	DISMINUCIÓN DEL CONTENIDO DE AFLATOXINAS	206
4.10	CONSIDERACIONES FINALES	216
5	<u>CONCLUSIONES.....</u>	<u>224</u>
6	<u>BIBLIOGRAFÍA.....</u>	<u>229</u>

Índice de Tablas

Tabla 1: Rango de temperatura para el crecimiento fúngico.	38
Tabla 2: Rango de temperatura para la formación de micotoxinas.	39
Tabla 3: Propiedades físicas y químicas de los compuestos de aflatoxinas	46
Tabla 4: Frecuencia de los controles físicos de maní de acuerdo al origen para ingresar a Unión Europea.	64
Tabla 5: Criterios de funcionamiento de un método para el análisis de aflatoxinas. reglamento Unión Europea 401/2006.	84
Tabla 6: Requerimientos de validación analítica en Estados Unidos.....	85
Tabla 7: Resultados de aflatoxinas de lotes en origen y en destino	123
Tabla 8: Concentración de las soluciones de estándares preparadas (ng/ml).....	129
Tabla 9: Concentraciones teóricas agregadas sobre una muestra de maní negativa	131
Tabla 10: Concentraciones teóricas agregadas sobre una muestra de maní negativa	132
Tabla 11: Esquema ilustrativo de precisión intermedia	134
Tabla 12: Resumen de ensayos.....	135
Tabla 13: Resultados de inyecciones de linealidad	147
Tabla 14: Datos del cálculo de residuales para AFG2	150
Tabla 15: Datos del cálculo de residuales para AFG1	152
Tabla 16: Datos del cálculo de residuales para AFB2.....	153
Tabla 17: Datos del cálculo de residuales para AFB1.....	155
Tabla 18: Resultados recuperaciones a 6,27 µg/kg.....	156
Tabla 19: Límites de detección obtenidos.....	156
Tabla 20: Límites de cuantificación de aflatoxinas obtenidos	157
Tabla 21: Concentraciones obtenidas y porcentajes de recuperación ...	157

Índice de Tablas

Tabla 22: Resultados de Repetibilidad para aflatoxinas por HPLC	158
Tabla 23: Resultados precisión intermedia	158
Tabla 24: Valores de ru_precisión	160
Tabla 25: Factores de recuperación para aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 y totales.....	160
Tabla 26: Valores de recuperación para cada toxina.....	161
Tabla 27: Valores de ru_conc.std para cada toxina	161
Tabla 28: valor de ru_vol.std.conc	162
Tabla 29: Valor de ru_dilución.std.....	162
Tabla 30: Datos ru_conc.std.calib	162
Tabla 31: Incertidumbre combinada relativa e incertidumbre expandida relativa de AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 y aflatoxinas totales.....	163
Tabla 32: Resumen de resultados de la validación del método analítico	166
Tabla 33: Niveles porcentuales de aflatoxinas detectados durante el muestreo y análisis de recepción de maní en caja	179
Tabla 34: Granos dañados en muestras de maní en caja durante la recepción en lotes de maní con aflatoxinas	183
Tabla 35: Carga microbiana de granos de maní contaminado con aflatoxinas	185
Tabla 36: Niveles medio de ácido oleico hallados en las muestras de maní en caja de las diferentes campañas analizadas.....	190
Tabla 37: % rechazo de granos dañados a diferentes flujos másicos de operación	194
Tabla 38: % medios de eficiencia de remoción de granos dañados en el primer paso	195

Índice de Tablas

Tabla 39: eficiencia de la selección electrónica a diferentes flujos en el segundo paso	198
Tabla 40: % medios de eficiencia de remoción de granos dañados en el segundo paso	199
Tabla 41: Eficiencia de la selección electrónica en la remoción de granos dañados (1° y 2° paso)	200
Tabla 42: Contraste de coeficientes de correlación lineal	216

Índice de Gráficos

Figura 1: Evolución de las exportaciones del complejo maní argentino - (Cámara Argentina del Maní, 2015).	23
Figura 2: Micotoxinas de mayor importancia mundial y los correspondientes hongos toxigénicos productores. Adaptado de Miller (1994).	30
Figura 3: Calendario de producción de maní en Argentina.....	32
Figura 4: Área geográfica del cultivo de maní en Argentina – (Adaptado de Fernández y Giayetto, 2006).....	40
Figura 5: Rendimientos de maní. Campaña 2014/2015 en qq/ha.	41
Gráfico 6: Estructura de las aflatoxinas más importantes que contaminan alimentos	46
Figura 7: Etapas de la activación metabólica de la AFB1 y moléculas resultantes. (Adaptado de Rodriguez, 2010).....	52
Figura 8: Países con reglamentación de aflatoxinas (FAO, 2003).....	56
Figura 9: Límites para el contenido de aflatoxinas totales en $\mu\text{g}/\text{kg}$ (FAO, 2003).....	59
Figura 10: Límites establecidos para el contenido de AFB1 (FAO, 2003)	60
Figura 11: Cantidad de notificaciones RASFF para maní de los principales países productores y exportadores emitidos por la Unión Europea.....	67
Figura 12: Materia prima, producto final y subproductos obtenidos en el proceso de blanqueado	93
Figura 13: Diagrama de flujo del proceso de blanqueado en seco	95
Figura 14: Esquema del funcionamiento de la clasificación electrónica	101

Índice de Gráficos

Figura 15: Diagrama del balance de masas para el blanqueado en seco de maní.....	104
Figura 16: Daños hallados en los granos de maní (Fuente propia)	109
Figura 17: Muestreador neumático empleado en el muestreo de maní en caja.....	116
Figura 18: Esquema de muestreo y principio de funcionamiento del muestreador neumático.....	116
Figura 19: Muestreo de lotes de maní blanqueado.....	119
Figura 20: Línea de producción de maní blanqueado empleada	142
Ilustración 21: Esquema de la metodología empleada para el análisis de maní en caja en cada uno de los tres ciclos productivos	143
Ilustración 22: Análisis y selección de variables del proceso de blanqueado de maní con aflatoxinas.....	144
Ilustración 23: Proceso de blanqueado de maní de lotes con aflatoxinas para la determinación de la reducción de la contaminación	145
Figura 24: Cromatograma de diferentes niveles de concentración de aflatoxinas	148
Figura 25: Regresión lineal para AFG2.....	149
Figura 26: Residuos y valores ajustados para AFG2	149
Figura 27: Regresión lineal para AFG1.....	151
Figura 28: Residuos y valores ajustados para AFG1	151
Figura 29: Regresión lineal para AFB2	152
Figura 30: Residuos y valores ajustados para AFB2.....	153
Figura 31: Regresión lineal para AFB1	154
Figura 32: Residuos y valores ajustados para AFB1.....	154
Ilustración 34: Fuentes de incertidumbre.....	159

Índice de Gráficos

Gráfico 35: Comparaciones gráficas de las incertidumbres relativas para AFG2.....	163
Gráfico 36: Comparaciones gráficas de las incertidumbres relativas para AFG1.....	164
Gráfico 37: Comparaciones gráficas de las incertidumbres relativas para AFB2	164
Gráfico 38: Comparaciones gráficas de las incertidumbres relativas para AFG2.....	165
Gráfico 39: Comparaciones gráficas de las incertidumbres relativas para AFG2.....	165
Figura 40: Departamentos de la provincia de Córdoba.....	169
Gráfico 41: Registro pluviométricos promedios por mes y departamento Ciclo 2010/2011	172
Gráfico 42: Registro pluviométricos promedios por mes y departamento	174
Gráfico 43: Registro pluviométricos promedios por mes y departamento	176
Figura 44: Histogramas del contenido de humedad de las muestras de maní analizadas en cada ciclo.....	178
Ilustración 45: Evolución de la apariencia de los granos de maní con daños por frío y heladas – Fuente propia.....	183
Gráfico 46: Curvas de evolución de humedad y total de granos dañados y defectuosos durante el almacenamiento	184
Gráfico 47: Histogramas comparativos del nivel de hongos y levaduras (CFU/g) en lotes con y sin aflatoxinas	185
Figura 48: Cromatograma indicando el pico mayor de ácido oleico (C18:1 cis-9)	188

Índice de Gráficos

Gráfico 49: Determinación de ácido oleico en aceite de muestras de maní en caja.....	189
Gráfico 50: Niveles de concentración de H ₂ O ₂ y su incidencia sobre la concentración de alfatoxina.....	192
Gráfico 51: Eficiencia del proceso de remoción de daños en selectora electrónica Sortex Buhler Z+ en primer paso para maní blanqueado calibre 38/42	196
Gráfico 52: Eficiencia de remoción de daños en selectora electrónica Sortex Buhler Z+ en segundo paso para maní blanqueado calibre 38/42	199
Figura 53: Esquema de selección electrónica de doble paso.....	201
Figura 54: Granos de maní con restos de tegumento al egreso de los blanchers – Fuente propia.....	202
Figura 55: Diagrama del proceso completo de blanqueado en seco realizado	205
Gráfico 56: Resultados de aflatoxinas en lotes de maní confitería empleados para los ensayos.....	210
Figura 57: Cromatogramas de aflatoxinas estándar (rojo) y muestra (azul).....	210
Figura 58: Cromatogramas de aflatoxinas estándar (rojo) y muestra (azul).....	211
Gráfico 59: Resultados obtenidos de aflatoxinas luego del blanqueado y selección electrónica con dos pasos y doble etapa.....	212
Gráfico 60: Regresión exponencial y los límites de confianza	213
Ilustración 61: Residuos de regresión.....	214