

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	6
2.1. Nueces.	6
2.2. Almendras.	10
2.3. Antecedentes generales de los hongos.	15
2.4. Micotoxinas.	17
2.4.1 Aflatoxinas.	18
2.4.1.1. Contaminación de alimentos por aflatoxinas.	23
2.4.1.1.1. Ocurrencia Internacional.	23
2.4.1.1.2. Ocurrencia en Chile.	24
2.4.1.2. Acciones para eliminar y controlar la presencia de aflatoxinas.	26
2.4.1.2.1. Realizar buenas prácticas agronómicas.	26
2.4.1.2.2. Identificar y separar productos contaminados.	30
2.4.1.2.3. Implementar un sistema de almacenamiento de productos en condiciones de humedad y temperatura controladas.	30
2.5. Impacto económico.	31
3. HIPÓTESIS.	33
4. OBJETIVO GENERAL.	33
4.1. Objetivos específicos.	33
5. MATERIALES Y MÉTODOS.	34
5.1. Lugar e Infraestructura.	34
5.2. Materiales, equipos y reactivos.	34
5.3. Metodología.	34
5.3.1. Metodología en campo.	34

5.3.1.1. Centro de producción de nueces. -----	34
5.3.1.1.1. Características geográficas. -----	35
5.3.1.1.2. Condiciones agroclimáticas. -----	37
5.3.1.1.3. Controles fitosanitarios. -----	37
5.3.1.1.4. Recolección de muestras de nueces. -----	38
A. Árbol. -----	39
B. Cosecha -----	39
C. Almacén del fondo. -----	40
D. Almacén del Laboratorio. -----	40
5.3.1.2. Centro de producción de almendras. -----	41
5.3.1.2.1. Descripción geográfica. -----	42
5.3.1.2.2. Condiciones agroclimáticas. -----	43
5.3.1.2.3. Controles fitosanitarios. -----	44
5.3.1.2.4. Recolección de muestras de almendras. -----	45
A. Árbol -----	45
B. Cosecha. -----	46
C. Almacén del fondo. -----	46
D. Almacén del laboratorio -----	47
5.3.2. Metodología analítica. -----	48
5.3.2.1. Acondicionamiento de las muestras. -----	48
5.3.2.2. Preparación de solución estándar. -----	48
5.3.2.3. Extracción de AFLAs. -----	48
5.3.2.4. Derivatización de aflatoxinas. -----	49
5.3.2.5. Condiciones cromatográficas. -----	49
5.3.2.6. Curva de calibración de matriz fortificada. -----	50
5.3.2.6.1. Límite de Detección. -----	51
5.3.2.6.2. Límite de Cuantificación. -----	52
5.3.2.7. Recuperabilidad. -----	52
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES. -----	55
6.1. Resultados. -----	55

6.1.1. Reproducibilidad del método. -----	55
6.1.1.1. Curva de calibración de nuez fortificada. -----	55
6.1.1.2. Curva de calibración de almendra fortificada. -----	60
6.1.1.3. Recuperabilidad en nueces. -----	66
6.1.1.4. Recuperabilidad en almendras. -----	67
6.1.2. Análisis de las matrices en estudio. -----	68
6.1.2.1. Análisis de muestras de nueces. -----	68
6.1.2.2. Análisis en muestras de almendras. -----	73
6.2. Discusiones. -----	79
7. CONCLUSIONES. -----	83
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. -----	85
9. ANEXOS. -----	94

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	:	Determinación AFLAs Totales y AFLA B1 en alimentos de Sudamérica	1
Tabla 2	:	Determinación AFLA B1 en muestras de alimentos de Asia, Oceanía y Europa	2
Tabla 3	:	Limites de crecimiento por <i>A. Flavus</i> y <i>A. parasiticus</i>	21
Tabla 4	:	Limites de producción de aflatoxinas por <i>A. Flavus</i> y <i>A. parasiticus</i>	21
Tabla 5	:	Limites Máximos Permitidos (LMP) de Aflatoxinas Totales en Chile	22
Tabla 6	:	LMP de Aflatoxinas Totales según diferentes regulaciones	23
Tabla 7	:	Características de los cuarteles del Nosedal de Santa Amalia de Lo Vicuña	35
Tabla 8	:	Condiciones agroclimáticas del mes de Abril de la comuna de Putaendo, Valparaíso	37
Tabla 9	:	Control de plagas o enfermedades en el Cuartel N° 3	38
Tabla 10	:	Total de análisis realizados en muestras de nueces	41
Tabla 11	:	Características de los cuarteles del Fundo El Rosario de Llope	42
Tabla 12	:	Condiciones agroclimáticas del mes de Mayo de la comuna de Pumanque, O'Higgins	44
Tabla 13	:	Control de plagas o enfermedades en el Cuartel N° 2	44
Tabla 14	:	Total de análisis realizados en muestras de almendras	47
Tabla 15	:	Respuesta Cromatográfica de nueces fortificadas con AFLA G1	56

Tabla 16 :	Respuesta Cromatográfica de nueces fortificadas con AFLA B1-----	57
Tabla 17 :	Respuesta Cromatográfica de nueces fortificadas con AFLA G2-----	58
Tabla 18 :	Respuesta Cromatográfica de nueces fortificadas con AFLA B2-----	59
Tabla 19 :	Respuesta Cromatográfica de almendras fortificadas con AFLA G1-----	61
Tabla 20 :	Respuesta Cromatográfica de almendras fortificadas con AFLA B1-----	62
Tabla 21 :	Respuesta Cromatográfica de almendras fortificadas con AFLA G2-----	63
Tabla 22 :	Respuesta Cromatográfica de almendras fortificadas con AFLA B2-----	64
Tabla 23 :	Cálculo de la recuperación de AFLAs en nueces fortificadas-----	66
Tabla 24 :	Cálculo de la recuperación de AFLAs en almendras fortificadas-----	67
Tabla 25 :	Resultados de AFLAs en los componentes de muestras de nueces recolectadas en Árbol-----	68
Tabla 26 :	Resultados de AFLAs en las muestras de nueces recolectadas en Cosecha-----	69
Tabla 27 :	Resultados de AFLAs en muestras de nueces recolectadas en Almacén del Fundo-----	69
Tabla 28 :	Resultados de AFLAs en muestras de nueces almacenadas en Laboratorio-----	70
Tabla 29 :	Resultados de AFLAs en los componentes de muestras de almendras recolectadas en Árbol-----	74
Tabla 30 :	Resultados de AFLAs en las muestras de almendras recolectadas en Cosecha-----	74

Tabla 31 :	Resultados de AFLAs en muestras de almendras recolectadas en Almacén del Fondo-----	75
Tabla 32 :	Resultados de AFLAs en muestras de almendras almacenadas en Laboratorio-----	75

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 :	Árbol de Nogal-----	7
Figura 2 :	Pelón y cáscara de la Nuez-----	8
Figura 3 :	Semilla de la Nuez-----	8
Figura 4 :	Nuez lista para ser cosechada-----	9
Figura 5 :	Exportaciones de Nueces de Nogal con cáscara (2009-2014)-----	10
Figura 6 :	Árbol de Almendro-----	11
Figura 7 :	Pelón, cáscara y semilla de la almendra-----	12
Figura 8 :	Almendra lista para ser cosechada-----	12
Figura 9 :	Exportaciones de Almendras sin cáscara 2009-2014 (mayo)-----	14
Figura 10 :	Microflora de los granos y su relación con la actividad de agua-----	16
Figura 11 :	Micotoxinas de mayor importancia mundial y lo correspondientes hongos toxicogénicos productores-----	18
Figura 12 :	Estructura de la aflatoxina B1, B2, G1 y G2-----	19
Figura 13 :	Esquema general de acciones a desarrollar para reducir la contaminación de hongos y micotoxinas-----	28
Figura 14 :	Ubicación geográfica de la comuna de Putaendo-----	36

Figura 15 :	Distribución de cuarteles del Nosedal Santa Amalia de Lo Vicuña-----	38
Figura 16 :	Muestreo de nueces en forma de "W" o "Z" en el cuartel N°3-----	39
Figura 17 :	Sacos cosechados de nueces con cáscara-----	39
Figura 18 :	Saco de nuez con cáscara rezagado por un año-----	40
Figura 19 :	Ubicación geográfica de la comuna de Pumanque-----	43
Figura 20 :	Distribución de cuarteles del Fundo El Rosario de Llope-----	45
Figura 21 :	Muestreo de almendras en forma de "W" o "Z" en el cuartel N°2-----	45
Figura 22 :	Sacos cosechados de almendras con cáscara-----	46
Figura 23 :	Sacos de almendra con cáscara almacenada por 3 meses-----	46
Figura 24 :	Control diario de calidad-----	54
Figura 25 :	Curva de Calibración de Aflatoxina G1 en extracto de Nueces-----	56
Figura 26 :	Curva de Calibración de Aflatoxina B1 en extracto de Nueces-----	57
Figura 27 :	Curva de Calibración de Aflatoxina G2 en extracto de Nueces-----	58
Figura 28 :	Curva de Calibración de Aflatoxina B2 en extracto de Nueces-----	59
Figura 29 :	Curva de Calibración de Aflatoxina G1 en extracto de almendras-----	61
Figura 30 :	Curva de Calibración de Aflatoxina B1 en extracto de almendras-----	62
Figura 31 :	Curva de Calibración de Aflatoxina G2 en extracto de almendras-----	63
Figura 32 :	Curva de Calibración de Aflatoxina B2 en extracto de almendras-----	64

Figura 33 :	Curvas de Calibración de mix de AFLAs en extracto de nueces-----	65
Figura 34 :	Curvas de Calibración de mix de AFLAs en extracto de almendras-----	65
Figura 35 :	Cromatograma representativo de nueces fortificadas con una mezcla de AFLAs (2,5 ng/g).-----	70
Figura 36 :	Cromatograma representativo de la muestra de semilla de nueces en el segmento árbol (H6 A7)-----	71
Figura 37 :	Cromatograma representativo de la muestra de cáscara de nueces en el segmento árbol (H18 A5)-----	71
Figura 38 :	Cromatograma representativo de la muestra de pelón de nueces en el segmento árbol (H1 A1)-----	72
Figura 39 :	Cromatograma representativo de la muestra de semilla de nueces en el segmento almacén del fundo-----	72
Figura 40 :	Cromatograma representativo de la muestra de semilla de nueces en almacén del laboratorio -----	73
Figura 41 :	Cromatograma representativo de almendras fortificadas con una mezcla de AFLAs (2,5 ng/g)-----	76
Figura 42 :	Cromatograma representativo de la muestra de semilla de almendras en el segmento árbol H19 A8-----	76
Figura 43 :	Cromatograma representativo de la muestra de semilla de almendras en el segmento cosecha-----	77
Figura 44 :	Cromatograma representativo de la muestra de pelón de almendras en el segmento árbol H1 A11-----	77
Figura 45 :	Cromatograma representativo de la muestra de semilla de almendras en el segmento almacén del fundo-----	78
Figura 46 :	Cromatograma representativo de la muestra de semilla de almendras en el almacén del laboratorio-----	78

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1	:	Acondicionamiento de las muestras de nueces y almendras en LABTOX-----	94
Anexo 2	:	Protocolo de Identificación y Cuantificación de Aflatoxinas en muestras de nueces y almendras-----	100
Anexo 3	:	Protocolo de Aseguramiento de la Calidad de los Resultados-----	111