

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



***IDENTIFICACIÓN DE OCRATOXINA A EN MUESTRAS DE
ALMENDRAS Y NUECES EN CENTROS DE PRODUCCIÓN
NACIONAL: TRAZABILIDAD DE LA CONTAMINACIÓN***

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al
grado de Magíster en Alimentos mención Gestión, Calidad e
Inocuidad de los Alimentos por:

CELIA ROCIO YAURIS SILVERA

Director de Tesis : Dr. Américo López Rivera
CO- Director de Tesis: Dr. Remigio López Solís

Santiago-Chile

Diciembre 2015

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Hongos.....	4
2.2. Micotoxinas.....	5
2.3. Ocratoxina A.....	6
2.3.1. Factores implicados en la producción de ocratoxina A.....	10
2.3.2. Toxicología.....	11
2.3.3. Control y prevención de la contaminación en productos agrícolas por ocratoxina A.....	13
2.4. Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento con detección por fluorescencia HPLC-FL.....	14
2.4.1. Columnas de extracción en fase sólida (SPE).....	15
2.5. Producción de almendras y nueces en Chile.....	16
2.5.1. Nuez.....	16
2.5.2. Almendra.....	19
3. HIPOTESIS.....	22
4. OBJETIVOS.....	22
4.1. Objetivo General.....	22
4.2. Objetivos Específicos.....	22
5. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	23

5.1. Lugar e infraestructura.....	23
5.2. Materiales.....	23
5.3. Equipos.....	23
5.4. Reactivos.....	24
6. METODOLOGIA.....	25
6.1. Localización geográfica:.....	25
6.1.1. Trabajo en campo.....	25
6.1.2. Trabajo en laboratorio.....	25
6.2. Particularidades del cultivo de la nuez.....	27
6.3. Descripción muestreo de nuez.....	28
6.3.1. Muestreo en árbol.....	29
6.3.2. Muestreo en cosecha.....	30
6.3.3. Muestreo en almacén.....	30
6.3.4. Muestras de laboratorio.....	31
6.4. Particularidades del cultivo de almendra.....	33
6.5. Descripción de muestreo en almendras.....	34
6.5.1. Muestreo en árbol.....	36
6.5.2. Muestreo en cosecha.....	36
6.5.3. Muestreo en almacén.....	37
6.5.4. Muestras de laboratorio.....	37
6.6. Acondicionamiento de muestras.....	39
6.7. Análisis de las muestras.....	42

7. RESULTADOS.....	43
7.1. Linealidad del método.....	43
7.1.1. Linealidad del método en la matriz de nuez.....	43
7.1.2. Linealidad del método en la matriz de almendra.....	45
7.2. Recuperación.....	46
7.3. Resultados de la determinación de ocratoxina A en nuez.....	47
7.3.1. Resultados de los análisis en semilla, cáscara y pelón de nuez del muestreo en árbol.....	48
7.3.2. Resultados de los análisis en semilla y cáscara de nuez del muestreo en cosecha.....	50
7.3.3. Resultados de los análisis en semilla y cáscara de nuez del muestreo en almacén.....	51
7.3.4. Resultados de los análisis en semilla y cáscara de nuez de las muestras de laboratorio bajo temperatura controlada.....	52
7.4. Resultados de la determinación de ocratoxina A en almendra.....	53
7.4.1. Resultados de los análisis en semilla, cáscara y pelón de almendra del muestreo en árbol.....	54
7.4.2. Resultados de los análisis en semilla y cáscara de almendra del muestreo en cosecha.....	56
7.4.3. Resultados de los análisis en semilla y cáscara de almendra del muestreo en almacén.....	56
7.4.4. Resultados de los análisis en semilla y cáscara de almendra de las muestras de laboratorio bajo temperatura controlada.....	57

8. DISCUSIÓN.....	59
9. CONCLUSIÓN.....	61
10. BIBLIOGRAFIA.....	63
11. ANEXOS.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Principales hongos y micotoxinas encontradas en diversos alimentos	6
Tabla 2: Nivel regulatorio permitido de ocratoxina A.....	8
Tabla 3: Número de muestras analizadas en cada alimento	9
Tabla 4: Límites de crecimiento de <i>A. ochraceus</i>	10
Tabla 5: Límites de producción de toxina por <i>A. ochraceus</i>	10
Tabla 6: Condiciones de crecimiento para <i>P. verrucosum</i>	11
Tabla 7: Valores de dosis letal (DL ₅₀) de OTA.....	12
Tabla 8: Requerimiento de fertilizante.	27
Tabla 9: Productos utilizados en el control de plagas y enfermedades	27
Tabla 10: Cantidad de análisis según segmento (árbol).....	30
Tabla 11: Cantidad de análisis según segmento (cosecha).....	31
Tabla 12: Cantidad de análisis según segmento (almacén).	31
Tabla 13: Análisis realizados en muestras de laboratorio.....	32
Tabla 14: Resumen de análisis en muestras de nueces.....	32
Tabla 15: Requerimiento de fertilizante.	33
Tabla 16: Productos utilizados en el control de plagas y enfermedades	34
Tabla 17: Cantidad de muestra analizada según segmento (árbol).....	36

Tabla 18: Cantidad de muestra analizada según segmento (cosecha).	37
Tabla 19: Cantidad de muestra analizada según segmento (almacén).	37
Tabla 20: Análisis realizados en muestras de laboratorio.....	38
Tabla 21: Resumen de análisis en muestras de almendras.	38
Tabla 22: Respuesta cromatográfica de nuez fortificada con OTA.....	43
Tabla 23: Componentes de linealidad del método.....	44
Tabla 24: Respuesta cromatográfica de almendra fortificada con OTA.....	45
Tabla 25: Componentes de linealidad del método.....	46
Tabla 26: Cálculo de la recuperación de OTA en nuez fortificada.	47
Tabla 27: Cálculo de la recuperación de OTA en almendra fortificada.	47
Tabla 28: Resultados de la determinación de OTA en semilla.	48
Tabla 29: Resultados de la determinación de OTA en cáscara de nuez. ...	49
Tabla 30: Resultados de la determinación de OTA en pelón de nuez.	50
Tabla 31: Resultados de la determinación de OTA en semilla de nuez.....	51
Tabla 32: Resultados de la determinación de OTA en cáscara de nuez. ...	51
Tabla 33: Resultados de la determinación de OTA en semilla de nuez.....	52
Tabla 34: Resultados de la determinación de OTA en cáscara de nuez. ...	52
Tabla 35: Resultados de la determinación de OTA en laboratorio.....	53
Tabla 36: Resultados de la determinación de OTA en nuez.	53

Tabla 37: Resultados de la determinación de OTA en semilla.	54
Tabla 38: Resultados de la determinación de OTA en cáscara.	55
Tabla 39: Resultados de la determinación de OTA en pelón.	55
Tabla 40: Resultados de la determinación de OTA en semilla.	56
Tabla 41: Resultados de la determinación de OTA en cáscara.	56
Tabla 42: Resultados de la determinación de OTA en semilla.	57
Tabla 43: Resultados de la determinación de OTA en cáscara.	57
Tabla 44: Resultados de la determinación de OTA en laboratorio.	58
Tabla 45: Resultados de la determinación de OTA en almendra.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Hongos productores de micotoxinas.....	4
Figura 2: Estructura química de ocratoxina A.....	8
Figura 3: Etapas de la extracción en fase sólida.....	15
Figura 4: Nuez para ser cosechada.....	17
Figura 5: Fruto de nuez.....	17
Figura 6: Exportación de nuez.....	19
Figura 7: Almendra para ser cosechada.....	20
Figura 8: Fruto de almendra.....	20
Figura 9: Exportación de almendra.....	21
Figura 10: Secuencia de actividades.....	26
Figura 11: Distribución esquemática del nocedal "Santa Amalia de lo Vicuña"	29
Figura 12: Distribución esquemática del fundo "El Rosario de Llope".....	35
Figura 13: Información contenida en la etiqueta de las muestras.....	41
Figura 14: Curva de calibración de nuez fortificada con OTA.....	44
Figura 15: Curva de calibración de almendra fortificada con OTA.....	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Parámetros de control del método HPLC	68
Anexo 2: Resultados de los parámetros de validación	71
Anexo 3 Reglamento (CE) N° 401/2006	72
Anexo 4: Protocolo de determinación de OTA.....	75
Anexo 5: Protocolo de aseguramiento de la calidad.....	84
Anexo 6: Cromatogramas.....	91