

# Detección de micotoxinas en nueces

Las micotoxinas son compuestos naturales producidos por diversos hongos como resultado de su metabolismo, y tienen un efecto tóxico en personas y animales. Al igual que los microorganismos que producen antibióticos, las especies de moho que producen micotoxinas se encuentran extendidas por todo el mundo. Las micotoxinas más venenosas son las aflatoxinas. Los alimentos que muestran un riesgo mayor de producción de aflatoxinas debido al moho son, además de las frutas secas y las especias, las nueces (cacahuetes, avellanas, pistachos) y los cereales (trigo, maíz).

© www.entius.de



■ Avellanas antes de ser trituradas



■ Resultado de la trituración preliminar

Las micotoxinas se producen sólo bajo determinadas condiciones de temperatura y humedad, y en presencia de gran cantidad de nutrientes (como en el caso de los alimentos), principalmente debido al almacenamiento incorrecto o muy largo del producto. Muchas veces no sólo se produce una sustancia, sino una familia de compuestos químicos parecidos. Las micotoxinas muestran una elevada resistencia al calor, por lo que normalmente no son destruidas durante el procesamiento de los alimentos.

## Trituración preliminar y molienda fina

Para poder extraer suficientes micotoxinas del material a analizar, la muestra debe triturarse y homogeneizarse previamente.

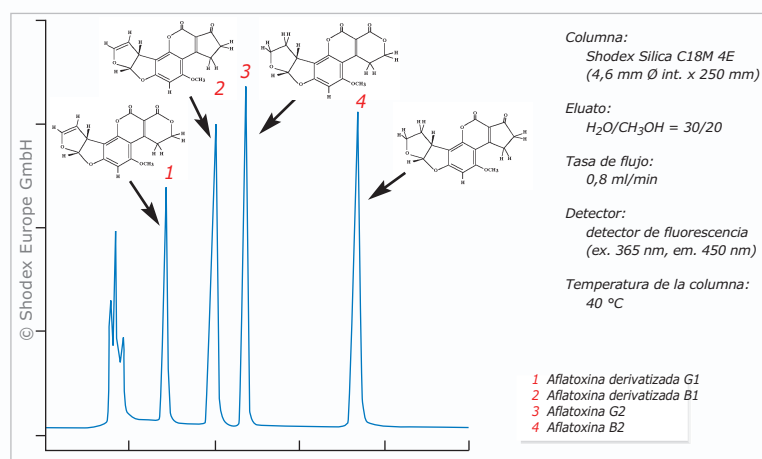
Como los valores límite para las micotoxinas oscilan entre 0,025 y 15 µg/kg y el ataque por hongos normalmente es de tipo local o puntual, las muestras tomadas al azar deben ser lo suficientemente grandes para poder detectar este tipo de contaminación. El primer paso es realizar una trituración preliminar de una cantidad representativa de nueces, que puede ser de 1 a 2 kg por tonelada, con el **molino de corte SM 100** reduciéndola a una granulometría de 1-3 mm. Este molino es muy apropiado para la trituración rápida y suave de materiales secos, y alcanza granulometrías finales de hasta 0,25 mm. Seguidamente se realiza una división de la muestra en fracciones representati-

vas con el **divisor de muestras PT 100**, un aparato altamente exacto. Se toma una de las fracciones y se somete a **molienda fina**. Para ello puede emplearse el **molino ultracentrífugo ZM 200**. Este potente molino de rotor es muy fácil y seguro de usar, y ofrece una gran flexibilidad gracias a su amplia gama de accesorios. Entre éstos pueden mencionarse los **tamices anulares de separación**, especialmente diseñados para la trituración de muestras frágiles y termosensibles, ideales para la preparación de avellanas. Como las micotoxinas son altamente liposolubles, la molienda debería realizarse de forma cuidadosa para evitar la separación de grasas de la muestra. Para la extracción subsiguiente de las micotoxinas, basta que la muestra tenga una granulometría aproximada de 300 µm.

## Extracción

Para la extracción, se mezclan 25 g de la muestra homogeneizada con 200 ml de agua/acetonitrilo (16+84 v/v) agitándose por 60 minutos, y después se filtran. 100 ml del filtrado se extraen con 100 ml de éter de petróleo. La fase de éter de petróleo es eliminada. Se agita una alícuota con carbón activado/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ /celita (7:5:3 - w/w/w) por 10 minutos, luego se centrifuga; el sobrenadante se evapora y al residuo se le agrega agua. La solución se introduce en una columna de inmunoafinidad, se lava con agua y se eluye con metanol. El eluato es luego separado por HPLC.

## Cromatografía de líquidos de alta eficacia



La figura muestra el cromatograma típico de una muestra contaminada con aflatoxinas. Éste no sólo permite clasificar el tipo de micotoxina, sino que también da una información cuantitativa exacta del contenido.

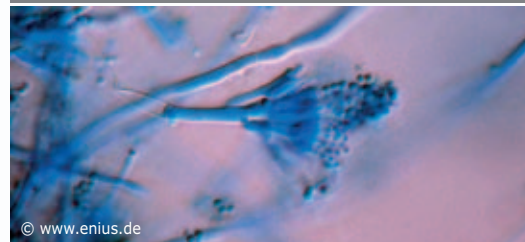
La cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) es un método analítico que se caracteriza por una serie de ventajas tales como una **alta selectividad y reproducibilidad**, así como **límites de detección muy bajos**. Para la preparación de muestras existen en el mercado columnas de inmunoafinidad (IA) y columnas especiales para extracción en fase sólida (SPE) en las cuales las aflatoxinas son aisladas por anticuerpos de enlace selectivo y luego eluidas de la matriz con disolventes orgánicos. Los extractos obtenidos de la muestra son separados en una columna para HPLC RP18, las micotoxinas son sometidas a una derivatización postcolumna con soluciones de bromo o yodo y detectadas por fluorescencia.

En muchos casos, no se autoriza la descarga de los barcos en el puerto hasta que no se haya determinado de forma rápida y exacta el contenido de aflatoxinas en la mercancía. El método aquí descrito suministra resultados representativos en tiempo corto, garantizando de esta manera óptima seguridad, tanto para el proveedor como para el consumidor.

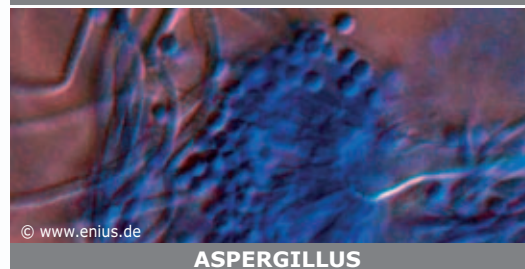
## PRINCIPALES HONGOS PRODUCTORES DE MICOTOXINAS



ALTERNARIA



PENICILLIUM



ASPERGILLUS



### MOLINO DE CORTE SM 100

- Material de entrada: blando, semiduro, elástico, fibroso
- Granulometría de entrada: < 60 x 80 mm
- Granulometría final: 0,25-20 mm
- Granulometría final según el tamiz de fondo usado
- 3 tipos de tolva para diferentes materiales
- Poco calentamiento del material triturado

SM 100