

Aflatoxinas en nuez de pecan cultivada en la provincia de Entre Ríos. Efecto de la actividad de agua

Sacchi, Cecilia; Lound, Liliana; Machin, Vanesa; Vera, Celina; Acosta, Carolina; Broggi, Leticia

AUTORAS: Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos. Pte. Perón 64, (2820) Gualeguaychú - Entre Ríos - Argentina

CONTACTO: csacchi@fb.uner.edu.ar - lbroggi@fb.uner.edu.ar

Resumen

La nuez pecán es de origen americano y en nuestro país se cultiva principalmente en Buenos Aires, Santa Fé, La Pampa, Delta del Paraná y Entre Ríos. Produce un fruto con muchos beneficios para la salud. Es una excelente fuente de ácidos omega 6 y omega 3.

En Entre Ríos, dada las características climatológicas de alta humedad, la nuez es susceptible de ser atacada por hongos productores de micotoxinas, sustancias tóxicas producidas principalmente por los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Entre ellas las más estudiadas han sido las aflatoxinas que producen distintas afecciones en los animales y el hombre. En este trabajo se estudió la ocurrencia de estas aflatoxinas en nueces de pecán cosechadas en la provincia de Entre Ríos, del total de las 40 muestras analizadas entre los años 2016 y 2017, el 62,5% resultaron positivas para AFB1 y el 5% superó el nivel permitido por la UE para AFB1 con un promedio de 12,91 µg/kg. Los valores de actividad de agua (aw) indican que no es en el almacenamiento de las nueces donde se producen las micotoxinas, sino en etapas anteriores. Resulta necesario que se establezcan medidas de prevención para evitar la presencia de estos metabolitos que tienen efectos cancerígenos comprobados.

Palabras clave: nuez pecán, aflatoxinas, Entre Ríos, actividad de agua, hongos

1. Introducción

Si bien las frutas secas se han incluido en las dietas humanas durante siglos, en los últimos años se ha observado un incremento en el consumo de las mismas, por las ventajas de la incorporación de estos alimentos, entre las que se pueden mencionar alto contenido energético sin aumento de la tendencia a elevar el nivel de colesterol sérico y aporte de minerales como calcio, potasio, fósforo y hierro, y vitaminas entre las que se pueden mencionar A, B1, B2, B3 y C. Contienen además ácidos grasos no saturados y fibras entre otros.

Durante las últimas décadas, el interés científico en estos alimentos ha aumentado enormemente, ya que muchos estudios epidemiológicos muestran efectos protectores del consumo de frutos secos en la enfermedad coronaria en diferentes grupos de población (Luna-Guevara y Guerrero-Beltrán, 2010).

Dentro de los frutos secos, las nueces de Pecán (*Carya illinoensis*) contienen principalmente aceites, pero también son una fuente de polifenoles, se postula que los efectos en la disminución de la hiperlipemia, como del estrés oxidativo, se debería a ambas fracciones (Blomhoff, R. 2008; Dominguez, J. 2015). El efecto antioxidante del gamma tocoferol está documentado ampliamente, y estas nueces tienen un nivel elevado. (Vázquez Martínez, C. 2005).

Algunos autores recomiendan la inclusión de porciones pequeñas pero constantes de frutos secos, por ejemplo la inclusión de 25 g / día de nueces o nueces de pecan (Nus, M. 2004). A las nueces de pecan, por sus niveles elevados de ácido elálgico y fitatos, se les atribuye propiedades protectoras contra ciertos mecanismos de degeneración celular, por esta razón se incluyen en buena proporción en ciertas dietas vegetarianas. (Sabaté, J. 2005)

Para el consumo se prefieren, nueces grandes, con un tamaño mayor a 32 mm, sabrosas, bien secas (con una humedad del 10%), sanas y de color claro. Las nueces de menor tamaño se descascaran y se utilizan principalmente en la industria pastelera, panaderías, confiterías. etc. (Figuerola Morales, 2012; Justo y Parra, 2005)

1.1. Producción mundial

La producción mundial está concentrada principalmente en Estados Unidos (67%) y México (30%). (CA-Pecan, 2013; Luna- Guevara y Guerrero-Beltrán, 2010).

Las nueces que más se comercializan corresponden a las que se presentan con cáscara. En el año 2010, este tipo de presentación correspondió al 76% y solo el 24% al tipo sin cáscara (Doreste, 2015).

Como se indicó anteriormente, Estados Unidos es el principal productor, y además el primer exportador y consumidor de esta nuez. Otros países donde existen plantaciones de este tipo de nuez son: Australia, Sudáfrica, Israel, Brasil, Argentina, Perú y Egipto.

La evolución de los precios durante los últimos años está condicionada no solo por los niveles de producción, sino también por la calidad de las nueces (Doreste, 2015).

1.2. Producción en Argentina

A mediados del siglo XX se comenzó a experimentar con este cultivo principalmente en la zona de las islas del Delta del Paraná, apoyado por el INTA (Cluster de la Nuez Pecán y su necesidad de desarrollo de maquinaria, 2013).

En la figura 1 se muestra la distribución (en porcentajes) de la totalidad de hectáreas implantadas en Argentina. En la figura 2 se presentan las zonas de cultivo en nuestro país.

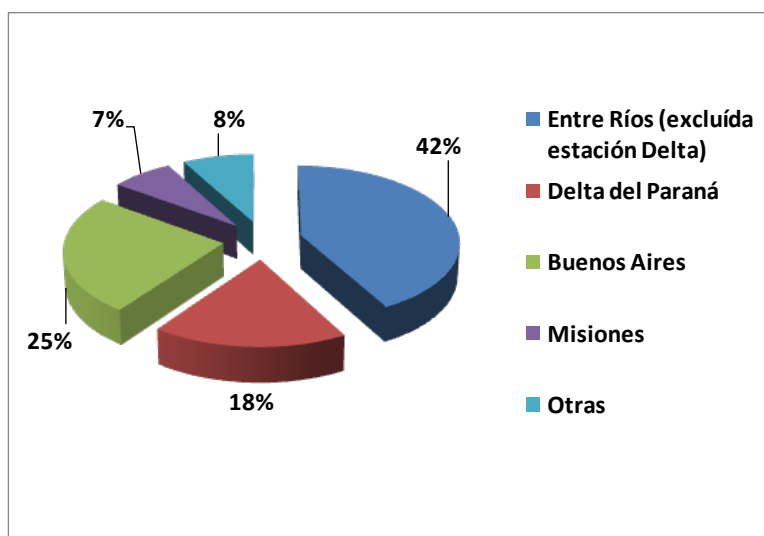


FIGURA 1. Porcentaje de hectáreas implantadas

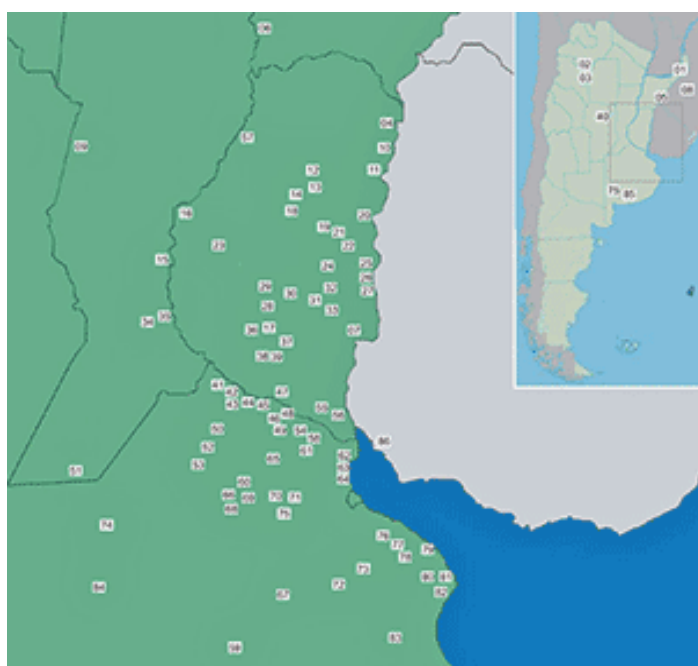


FIGURA 2. Zonas de cultivo en Argentina

En Argentina existen 12 cultivares inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares, correspondientes a las siguientes variedades: Stuart, Desirable, Shoshoni, Success, Kernodle, Starking, Mahan, Harris Super, Mahan – Stuart, INTA Delta I e INTA Delta II. Las cinco primeras variedades son las que mejor se comportan en los suelos y climas de este país. (Doreste, P. 2015).

La nuez producida es de alta calidad y puede exportarse a mercados externos como EE.UU, China y México, entre otros. Cabe destacar que esta actividad comercial se hace contra estación, con lo cual se pueden alcanzar buenos precios. Durante el primer cuatrimestre de 2009, se exportaron 137 toneladas

de nuez por un valor de 459.423 US\$. El 100% de las mismas correspondieron a nueces con cáscara fraccionadas. Además, en el año 2010 se realizó una exportación a Estados Unidos de 13,5 toneladas y un monto de 40.905 US\$ FOB. (Fuente: INDEC). Se estima que para la próxima década se contará con cosechas de 15.000 toneladas, con lo cual se estaría en condiciones de abastecer la demanda externa (Doreste, P. 2011).

1.3. Micotoxinas

Debido a que los frutos secos en general son alimentos que no cuentan con una actividad acuosa elevada, la contaminación microbiológica a la que son susceptibles es limitada. No obstante, una gran variedad de hongos puede proliferar en los frutos secos, y por lo tanto, las nueces de pecán, no están exentas, especialmente en temporadas húmedas.

La contaminación fúngica, puede tener dos consecuencias principales:

- La primera, es traer aparejado un peligro para la salud humana. En ese sentido, es esencial la evaluación del riesgo de ocurrencia de los diferentes peligros asociados a la contaminación microbiológica (FAO. 2000), como son las infecciones y toxiinfecciones.
- La segunda es ocasionar una considerable disminución de la calidad del producto alimenticio, al alterar sus características organolépticas.

En ambos casos, para de asegurar la calidad e inocuidad de este tipo de alimentos, es de vital importancia el estudio interdisciplinario para aportar esfuerzos a tales efectos. (FAO, 1999)

Si bien en numerosos productos alimenticios naturales o elaborados, se recuperan cepas fúngicas con diverso grado de resistencia al calentamiento (Tournas, V. 1984; Vincenzini, A. 1998), debe tenerse en cuenta que el calentamiento disminuye la actividad enzimática, altera el sabor y favorece en algunos alimentos el incremento de la concentración de compuestos que pueden alterar el sabor, por lo cual éste no podrá ser indiscriminado.

Un problema frecuentemente asociado a la contaminación fúngica es la presencia de micotoxinas, metabolitos secundarios que producen algunas especies fúngicas, y que pueden causar numerosos problemas a la salud humana y animal si se encuentran en los alimentos o piensos destinados a la alimentación. En frutos secos está documentada la presencia cuando las condiciones son favorables (López, C. 2000). El correcto manejo de los productos alimenticios ya sea en la cosecha como en el procesamiento y almacenamiento es fundamental para disminuir el riesgo de contaminación fúngica y por lo tanto de producción de micotoxinas (López-García, R. 1999). La disminución del riesgo es esencial, especialmente si se tiene en cuenta la gran variedad de efectos nocivos de las micotoxinas, que abarcan desde alteraciones hematológicas a desarrollo de carcinomas (Pitt, J. 2000; López C.2000).

La mayoría de las toxinas fúngicas se agrupan en familias de metabolitos químicamente relacionados. En la actualidad existen unos 300 a 400 compuestos reconocidos como micotoxinas (Bennet y Klich, 2003). Las principales micotoxinas son: las aflatoxinas, tricotecenos, fumonisinas, zearalenona, ocratoxina A y los alcaloides del ergot. Los efectos diversos producidos por estos compuestos se consideran bajo el término de micotoxicosis. Se ha informado además que estas sustancias pueden provocar grandes pérdidas económicas. (Micotoxinas de importancia mundial - FAO)

Las aflatoxinas (AF) comenzaron a ser estudiadas luego de la muerte de 100.000 pavos y otras aves de corral en el Reino Unido en el año 1960. Los estudios realizados informaron la presencia de una sustancia tóxica presente en la harina de maní contaminada con *Aspergillus flavus*. Esta harina era parte de la dieta de los animales. Esta micotoxina, producida por dicha especie fúngica, fue denominada luego aflatoxina. Este incidente demostró la amenaza que representan las micotoxinas e introdujo en la era moderna el estudio e investigación de estas sustancias (EMAN, 2003). Se pueden encontrar como con-

taminantes naturales en el maíz, trigo, sorgo, arroz y otros cereales, así como en oleaginosas y diversos frutos secos. La enfermedad producida por el consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas se denomina aflatoxicosis (Gimeno y Martins, 2011).

Estructuralmente las aflatoxinas son derivados difuranocumarínicos. Son fluorescentes bajo la luz ultravioleta (Rawal y col., 2010). Las más importantes son: AFB1 y AFB2 y AFG1 y AFG2. Las cepas toxigénicas producen principalmente AFB1. También es la más estudiada y la mayoría de la información publicada se refiere a esta toxina. Sin embargo, existen otras aflatoxinas (por ejemplo, P1, Q1, B2a, y G2a), que se generan especialmente como productos de biotransformación en los mamíferos (Bennet y Klich, 2003).

Las enzimas del citocromo P450 convierten las aflatoxinas en una forma reactiva, el 8,9-epóxido, que es capaz de unirse tanto al ADN como a las proteínas. Se sabe que el epóxido de aflatoxina se une en la posición N7 de la guanina y forma aductos aflatoxina B1-ADN que pueden dar lugar a transversiones GC a TA (Bennet y Klich, 2003).

Las aflatoxinas M1 y M2 son metabolitos oxidativos de las aflatoxinas B1 y B2 producidos por los animales tras la ingestión de éstas, aparecen en la leche materna (tanto animal como humana), la orina y las heces. La relación entre el contenido de AFB1 en las raciones para animales y la AFM1 excretada en la leche puede estar influenciada por la raza, la cantidad de alimento consumido, el tiempo de exposición a la toxina y el estado de salud del animal. (Landeros, P y col., 2012). En Argentina se han detectado AFB1 y AFB2 en diferentes alimentos tanto para consumo humano como animal, lo que indica que estas micotoxinas pueden entrar en la dieta de los animales y ser excretadas en la leche (López, C y col., 2003)

La aflatoxina B1 es la toxina más peligrosa por sus efectos agudos y crónicos, consecuentemente, es la más estudiada. La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) la ubicó en clase 1. Las aflatoxinas son potentes hepatotóxicos y su carcinogénesis ha obligado a los gobiernos y agencias regulatorias a establecer niveles muy bajos de tolerancia en alimentos. (Van Egmond, 2002). Se conoce además que el efecto conjunto de la actividad de agua (a_w) y la temperatura son importantes en la producción de esta toxina. En un estudio realizado por Fernández Pinto y col. (1991) sobre la acumulación de aflatoxina B1 en soja, se determinó que a valores bajos de a_w (0,801 y 0,750) y distintas temperaturas (15, 20, 25 o 37 °C) no se detectó la presencia de AFB1.

1.4. Legislación

Muchos países tienen regulaciones respecto a los niveles máximos permitidos de aflatoxinas en distintos alimentos. La Unión Europea (EU) incorporó a los frutos secos en la Regulación denominada European Commission, EC, Regulation N°1881/2006 que se presentan en la tabla 1.

TABLA 1. Niveles máximos de aflatoxinas en frutos secos establecidos por la EU

	Aflatoxina B ₁ (µg/kg)	Suma de B ₁ , B ₂ , G ₁ y G ₂ (µg/kg)
Frutos de cáscara y frutos secos destinados a ser sometidos a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su uso como ingredientes de productos alimenticios.	5	10
Maní, frutos de cáscara, frutos secos y productos derivados destinados al consumo humano directo o usados como ingredientes en los productos alimenticios.	2	4

En el Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del CODEX sobre contaminantes en los alimentos, realizado en La Haya desde el 31 de marzo al 4 de abril de 2008, se presentó

el trabajo denominado “Anteproyecto de plan de muestreo para la contaminación por aflatoxinas en almendras, nueces del Brasil, avellanas y pistachos”

En este documento se propone para:

Nueces de árbol destinadas a ulterior elaboración.

Límite máximo: 15 ng/g total de aflatoxinas.

Nueces de árbol listas para el consumo.

Límite máximo: 8 ng/g total de aflatoxinas.

La legislación MERCOSUR estableció en el año 2006 los niveles máximos permitidos, común a todos los integrantes, mediante el Decreto N° 155/006 – MERCOSUR que se denomina: “Reglamento Técnico sobre límites máximos de Aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz”. Respecto al maní indica un valor máximo de 20 µg/kg para la suma de Aflatoxinas B1 + B2 + G1 + G2.

En la Legislación Argentina también se fijan los niveles máximos permitidos en distintos alimentos. En el caso de cacahuates y subproductos, este valor es de 5 µg/kg para AFB1 y 20 µg/kg para la suma de B1 + B2 + G1 + G2 (www.micotoxinas.com.br, 2006).

1.5. Antecedentes de contaminación por aflatoxinas en frutos secos

Freire y col. (2000) estudiaron la micoflora contaminante y los niveles de micotoxinas en pimienta negra, pimienta blanca y en nueces de Brasil. Se aislaron 17 especies fúngicas en este tipo de nuez predominando *A. flavus*. En las muestras consideradas de mala calidad, se determinó una concentración de 27,1 µg/kg de AFB1 y 2,1 µg/kg AFB2, (AFT de 29,2 µg/kg).

En un estudio realizado por De Mello y Scussel (2007) se evaluaron las características externas de las nueces del Brasil con cáscara (longitud y ancho) el peso, cromaticidad y grosor de la cáscara. También se midieron las características internas como el contenido de humedad (mc), la contaminación por aflatoxinas, analizadas por Cromatografía líquida con detector de espectrometría de masa (LC-MS / MS) y la proporción cáscara / nuez. A estos frutos se los clasifica de acuerdo al tamaño, en grupos: I, II, y III (grande, mediana y pequeña, respectivamente). En el grupo III se determinó una contaminación con aflatoxina B1 en niveles de 5,62 µg/kg. Estos autores concluyeron que la información obtenida podría servir para distinguir las nueces sanas y seguras de las deterioradas.

En el trabajo realizado por Juan y col. en Marruecos (2008) se analizaron 100 muestras de frutos secos y nueces (20 de maní, 20 de pasas secas, 20 de higos secos, 20 de nueces y 20 de pistacho). Tanto las nueces como el pistacho fueron las muestras que presentaron los mayores valores. Varios frutos de los estudiados superan los valores límites establecidos por la EU.

Pacheco y Scussel (2009) evaluaron los niveles de aflatoxinas en nueces secas con cáscara y sin cáscara. Las determinaciones se realizaron por LC-MS. Se tomaron 171 muestras destinadas a la exportación (108 con cáscara y 63 descascaradas) de una fábrica situada en la ciudad de Manaus, Brasil. El muestreo se realizó de abril a mayo durante los años 2006 y 2007. De todas las muestras analizadas de estas dos cosechas el 8,7% (14) presentaban una contaminación con aflatoxinas mayor a 4 µg/kg (Máximo nivel permitido en la Unión Europea). Once correspondían a nueces con cáscara y tres a muestras descascaradas.

En el estudio realizado por Leong y col. (2010) se estudió la ocurrencia de AFT en frutos secos, nueces y productos comerciales elaborados con ellos. Se tomaron 196 muestras de comercios de Penang, Malasia. El 16,3% presentó una contaminación con AFT en un rango de 16,6 µg /kg a 711 µg/kg (promedio 17,2–350 µg/kg). El 33,3% de las muestras de nueces analizadas presentaron una contaminación mayor a los valores establecidos como límite para AFT y AFB1.

La nuez de Brasil es un producto comercial muy importante para algunos países de América Latina. Con el fin de evaluar su seguridad, Pacheco y col. (2010) estudiaron la asociación entre los niveles de aflatoxinas y la presencia de hongos aflatoxigénicos en dicha nuez (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). Tomaron 120 muestras de diferentes etapas de la cadena de producción de este fruto. Evaluaron el porcentaje de humedad, las cepas aflatoxigénicas y el nivel de AFTs por TLC (Límite de cuantificación, LOQ = 1,95 µg/kg). Las muestras que dieron resultado positivo de AFTs excedieron el límite máximo permitido por la EU (4 µg/kg) y Brasil (30 µg/kg). Además, todas las cepas de *A. flavus* determinadas resultaron aflatoxigénicas. Los autores concluyen que es necesario un control efectivo en términos de lograr la seguridad alimentaria en la cadena de producción de este tipo de nueces.

En nuestro país se han realizado numerosos estudios sobre la ocurrencia de aflatoxinas y otras micotoxinas en distintos sustratos como maíz, trigo, maní, alimentos balanceados, avena y forrajes, entre otros (Dalcerio y col., 1998; Gonzalez y col., 1999; Fernández Pinto y col., 2001; Pacin y col., 2001; Amigot y col., 2006; Broggi y col., 2007; González y col. 2008; Sacchi y col., 2009). Cabe mencionar que en la búsqueda bibliográfica realizada no se presentan trabajos sobre la ocurrencia de aflatoxinas en nueces de pecán producidas en Argentina.

2. Objetivos

- Determinar la posible ocurrencia de aflatoxinas en nueces de pecán cosechadas en la provincia de Entre Ríos.
- Establecer posibles relaciones entre los niveles de aflatoxina detectados y los valores de aw en las distintas muestras.
- Asesorar a los productores sobre este tema y su implicancia para la salud humana.
- Recomendar la realización de análisis periódicos de estos frutos que les permita definir su comercialización tanto en nuestro país como al exterior.

3. Materiales y métodos

3.1. Determinación de aflatoxinas

Para la determinación de aflatoxinas, se tomaron 40 muestras de nuez de pecán (20 por cada año) de distintos productores de la provincia de Entre Ríos.

Las nueces desprovistas de sus cáscaras se molieron con molino Decalab 18000 rpm y se pasaron a través de un tamiz de 20 mesh. Se obtuvieron submuestras de 200 g que fueron guardadas a - 18°C hasta su análisis.

Se pesaron 25 g de las submuestras y se agregaron 100 ml de acetonitrilo: agua (84:16) mezclando en una licuadora a alta velocidad durante 3 minutos. El extracto se pasó a través de un papel de filtro Whatman N° 4. Aproximadamente 5 ml del filtrado se transfirieron a un tubo de ensayo de 15 x 85 mm y luego se agregaron 10 µl de ácido acético. Este volumen de solución se hizo pasar por una columna de extracción en fase sólida (SPE) adecuada. Se tomó una alícuota de 1 ml y se transfirió a otro tubo de ensayo. Se evaporó hasta sequedad en un baño de agua a 60°C bajo vacío. Luego se disolvió en 200 µl de hexano y se cuantificó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se utilizó un equipo con muestreador automático, desgasificador, detector de fluorescencia, bomba cuaternaria y control de temperatura.

Se derivatizó una alícuota antes de la inyección, con 50 µl de una solución de ácido trifluoroacético anhidro (TFA) durante 1 minuto y luego se inyectó al sistema HPLC. Se utilizó una columna de fase reversa C18 con guardacolumna. La fase móvil consistió en una mezcla de agua:acetonitrilo:metanol (70:15:15v/v/v). La velocidad de flujo fue de 1ml/minuto. Se utilizó un detector de fluorescencia ade-

cuando las longitudes de onda de excitación y emisión a 360 nm y 440 nm, respectivamente. Se obtuvo un cromatograma con los tiempos de retención de las aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2 que corresponden a 4.9, 9.6, 3.9 y 7 minutos, respectivamente. El límite de detección (LD) del método fue de 0,19 µg/kg y el límite de cuantificación 0,3 µg/kg.

Estas determinaciones fueron realizadas en la Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedita de la Cruz.

3.2. Determinación de actividad de agua

La actividad de agua de cada muestra se determinó mediante un higrómetro previamente calibrado marca Rotronic (Estados Unidos), modelo Hygrolab 3, con sonda de humedad y sensor de temperatura (figura 3). Las mediciones se realizaron a 25 °C.

Se usaron soluciones saturadas de cloruro de sodio ($a_w = 0,752$) y cloruro de magnesio ($a_w = 0,330$) para la calibración del equipo.



FIGURA 3. Equipo para la determinación de actividad de agua

Para la determinación se siguió las indicaciones del manual del equipo, se introdujo la muestra en la cámara y se seleccionó el método rápido Q1.

3.3. Determinación de humedad

Para la determinación se utilizó el equipo marca Radwag modelo mac 50/wh la muestra molida se introdujo en la balanza y se siguieron las instrucciones del manual del equipo, el resultado se observa en el display de la balanza. En la figura 4 se puede observar una fotografía de la balanza infrarroja utilizada.



FIGURA 4. Equipo para la determinación de actividad de agua

3.4. Recuento e identificación de mohos

Se realizó el recuento de mohos en las muestras correspondientes al año 2017, siguiendo la metodología descrita por Tournas, Niazi, y Kohn (2015). Las nueces fueron peladas y molidas en condiciones de esterilidad y se transfirieron 50 g de en bolsas estériles. Posteriormente, se agregaron 450 ml de agua peptonada estéril y se agitó durante 1 minuto. Se prepararon diluciones y se sembró 1 ml en placas con agar DG18. Éstas se incubaron durante 5 días a 25 °C. Se contaron las colonias, y los recuentos se registraron como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC g-1). El recuento también fue realizado el medio comercial Hongos y Levaduras (H y L) y en agar papa glucosa (PDA) con el agregado de rosa de bengala y cloranfenicol (RB). El límite de detección de la técnica fue de 10 UFC g-1 (Pitt, J. 1997).

Las cepas obtenidas en las placas fueron repicadas en tubos con agar PDA para obtener cultivos puros, éstos fueron incubados en estufa a 25°C por 7 días. Al cabo del mencionado tiempo de incubación, se observaron las colonias fúngicas desde el punto de vista microscópico realizando un examen directo de la colonia con colorante Azul de Lactofenol. Para mejor observación de las características microscópicas, se realizaron microcultivos de las colonias. Para esta técnica se utilizaron placas de Petri estériles, en las que se dispuso un portaobjetos en el que se le colocó una porción cuadrada de medio de cultivo APD solidificado de 0,5 a 1 cm de lado. Se sembró en cada trozo de medio, una porción del hongo a cultivar. Se cubrió con un cubreobjetos flameado, agregando una pequeña alícuota de agua estéril a los efectos de suministrar humedad. Se incubó a 25°C en estufa durante siete días (Pitt, J. 1997). Luego se realizó la observación microscópica para el reconocimiento de los géneros.

En la figura 5 se observa el montaje de un microcultivo para la observación microscópica

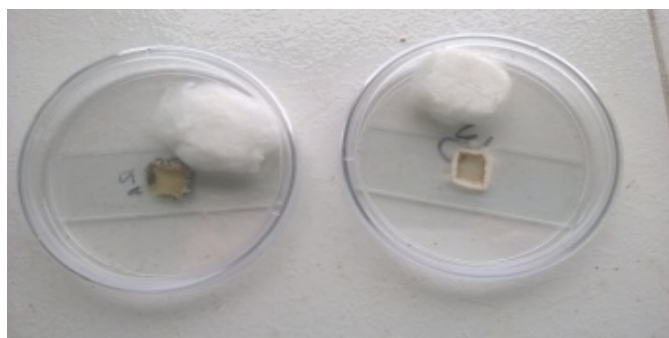


FIGURA 5. microcultivo

3.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado utilizando el paquete estadístico InfoStat versión estudiantil y Mini-tab 16. Las comparaciones de medios se realizaron con el Test de Tukey.

4. Resultados y discusión

Las muestras fueron recolectadas de diferentes productores y comercios de la provincia de Entre Ríos, las mismas fueron rotuladas y guardadas en freezer hasta el momento de su análisis.

En la siguiente tabla se pueden observar los resultados obtenidos para actividad acuosa y micotoxinas de las muestras correspondiente a los años 2016 y 2017

TABLA 2. Actividad acuosa y niveles de micotoxinas

Numero	Año	Aw	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AF totales
1	2016	0,505	0,83	0,4	<LD	<LD	1,23
2		0,462	0,46	<LD	<LD	<LD	0,46
3		0,496	0,63	<LD	<LD	<LD	0,63
4		0,478	0,19	<LD	<LD	<LD	0,19
5		0,452	0,35	<LD	<LD	<LD	0,35
6		0,439	0,42	<LD	<LD	<LD	0,42
7		0,464	0,45	<LD	<LD	<LD	0,45
8		0,449	0,76	<LD	<LD	<LD	0,76
9		0,445	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
10		0,457	1,32	0,36	<LD	<LD	1,68
11		0,451	0,21	<LD	<LD	<LD	0,21
12		0,463	8,97	2,3	<LD	<LD	11,27
13		0,421	0,58	<LD	<LD	<LD	0,58
14		0,398	16,85	2,96	<LD	<LD	19,81
15		0,373	0,29	<LD	<LD	<LD	0,29
16		0,405	0,16	<LD	<LD	<LD	0,16
17		0,395	0,25	<LD	<LD	<LD	0,25
18		0,477	0,32	<LD	<LD	<LD	0,32
19		0,476	0,49	<LD	<LD	<LD	0,49
20		0,473	0,21	<LD	<LD	<LD	0,21
21	2017	0,582	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
22		0,592	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
23		0,587	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
24		0,566	0,73	<LD	<LD	<LD	0,73
25		0,566	0,74	<LD	<LD	<LD	0,74
26		0,576	0,69	<LD	<LD	<LD	0,69
27		0,526	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
28		0,530	—	<LD	<LD	<LD	<LD
29		0,533	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
30		0,528	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
31		0,521	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
32		0,485	0,65	<LD	<LD	<LD	0,65
33		0,423	0,52	<LD	<LD	<LD	0,52
34		0,480	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
35		0,503	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
36		0,518	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
37		0,532	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
38		0,578	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
39		0,523	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
40		0,566	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD

LD: límite de detección

Se obtuvo un valor promedio a_w de 0,492 y un máximo de 0,592. La humedad promedio resultó 3,74 %.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que del total de las 40 muestras analizadas el 62,5% resultaron positivas para AFB1 y el 5% superó el nivel permitido por la UE para AFB1 con un promedio de 12,91 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

En cuanto a la presencia de aflatoxinas, en la búsqueda bibliográfica realizada no se encontraron estudios publicados en muestras de la provincia de Entre Ríos, pero en relación a este tema en el estudio realizado por Leong Y.H. y col. (2010) informaron la ocurrencia de aflatoxinas totales en frutos secos, nueces y productos comerciales elaborados con estos alimentos en la región de Penang, Malasia. De las 196 muestras analizadas, el 16,3% presentó una contaminación con aflatoxinas totales en un rango de 16,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 711 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (promedio 17,2–350 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

La aflatoxina B1 (AFB1) es la toxina más peligrosa por sus efectos agudos y crónicos, consecuentemente, es la más estudiada. La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) la ubicó en clase 1 (Van Egmond, 2002). Los niveles máximos de establecidos por la Unión Europea para frutos secos destinados a consumo humano son de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB1 y 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas totales (European Commission, EC, Regulation N°1881/2006).

Según la FAO, la actividad de agua óptima para la proliferación de algunas aflatoxinas es alrededor de 0,99; siendo el valor máximo de al menos 0,998 y el mínimo, aún sin determinar con precisión, pero según Pitt y Miscamble (1995) es aproximadamente 0,82.

Los efectos de la actividad de agua y de la temperatura, se han notificado valores óptimos para el crecimiento y para la producción de toxinas de aproximadamente 30°C y 28°C, respectivamente.

Los valores de a_w que los diversos grupos de hongos necesitan para crecimiento y producción de aflatoxina, varía de acuerdo con el sustrato y la temperatura (Gimeno, 2002).

En base a otros datos publicados, la mayor parte de los hongos se desarrollan a partir de valores de a_w de 0,70, siendo raro que haya hongos que germinen con valores de a_w entre 0,60 y 0,70. Por otro lado, la producción de micotoxinas es nula o muy baja con a_w inferior a 0,85 y no obstante el crecimiento de mohos toxicogénicos ya se puede producir en un intervalo de a_w de 0,70-0,85 (www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-t26065.htm). Analizando los resultados obtenidos de a_w de las muestras analizadas, se observa que la a_w promedio es inferior a los valores mínimos publicados para el desarrollo de aflatoxinas.

En la figura 6 se presenta el cromatograma obtenido para los estándares de aflatoxinas y las muestras 24 y 25.

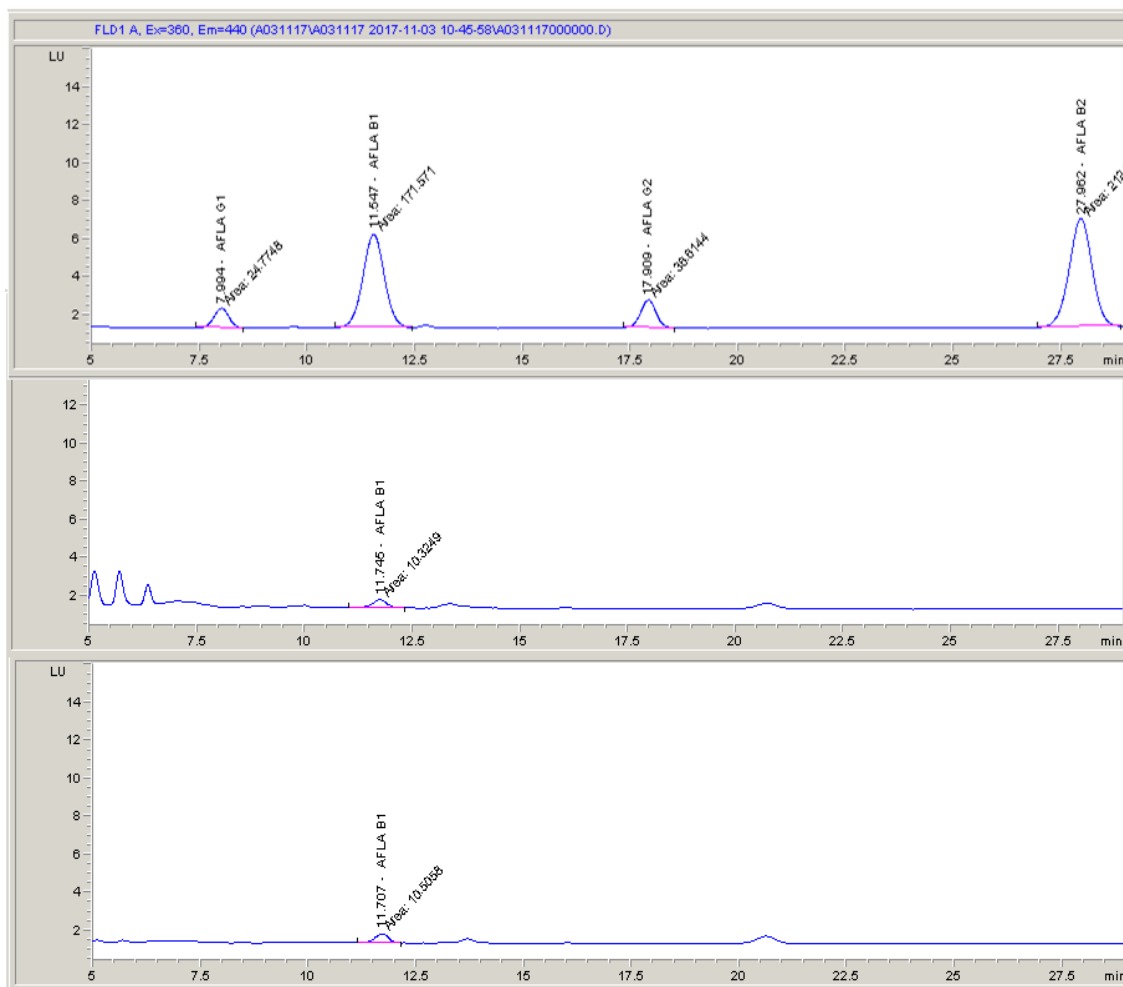


FIGURA 6. cromatograma obtenido para los estándares de aflatoxinas, muestra 24 y muestra 25

A continuación, se muestran gráficos de mínimos y máximos para los niveles de aflatoxinas en las muestras correspondientes a los años 2016 y 2017. (Figuras 7 y 8)

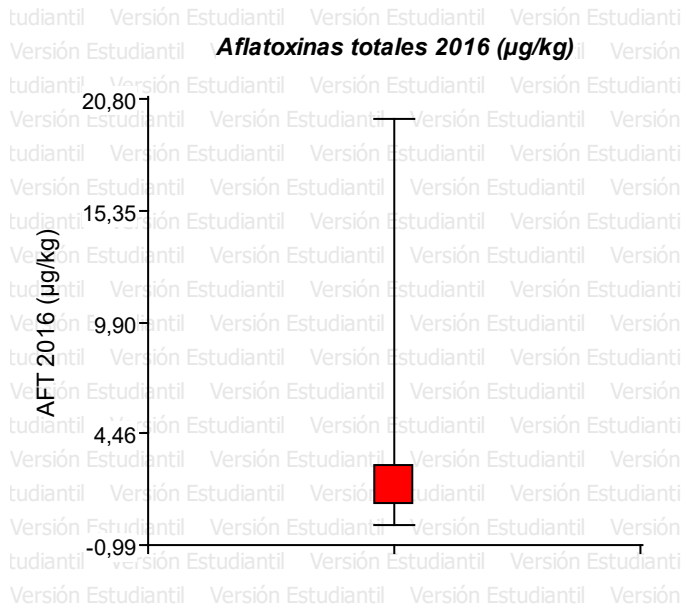


FIGURA 7. Niveles de micotoxinas totales en muestras de nuez pecán correspondientes al año 2016

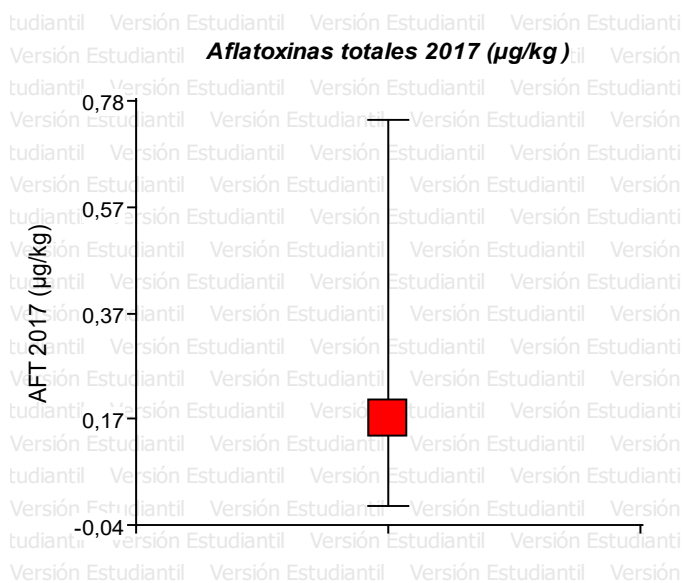


FIGURA 8. Niveles de micotoxinas totales en muestras de nuez pecán correspondientes al año 2017

En el gráfico se muestra un valor máximo de 19,81 µg/kg para aflatoxinas totales en las muestras del año 2016 y 0,74 µg/kg para el año 2017. Si bien no se han realizado estudios, según la bibliografía consultada, las diferencias climáticas durante la formación de la nuez podrían ser la causa de un aumento de la aw y el desarrollo del hongo con producción de las micotoxinas.

El desarrollo de la nuez ocurre desde la etapa de cuajado y transcurre durante los meses de verano. Primero se da un crecimiento rápido de la nuez, sin producirse el llenado de la parte comestible (embrión), y luego hacia fines del mes de enero comienza el llenado que se prolonga hasta mediados a fines de marzo, aproximadamente 19 semanas después de la polinización. Luego de la etapa de llenado de la nuez, comienza lo que se denomina “rajado de cascara” o ruezno. Esta etapa, que es parte del proceso

de maduración, se da hacia fines de abril principios de mayo y es la etapa de inicio de la cosecha. Las lluvias persistentes en estos meses podrían ser la causa de la producción de las micotoxinas en los frutos comestibles (AINIA, 2014).

En cuanto a las precipitaciones en el semestre anterior al de la cosecha 2016 se registró un valor de 1257,6 mm, y en el anterior al de la cosecha 2017, 889,3 mm (Ramos y col., 2018). Esto podría ser debido a que en el año 2016 se produjo el fenómeno del niño, que se caracteriza principalmente por la alta cantidad de precipitaciones y alta humedad ambiental, en éstas condiciones puede haber mayor crecimiento de hongos y habría mayor probabilidad de producción de micotoxinas.

Considerando la variabilidad climática en nuestro país es importante, una vez alcanzado el estado de madurez, concretar la cosecha cuanto antes y proceder al proceso de secado. Este proceso fue estudiado por Varela y Takata (2013), quienes tomaron muestras de 20 frutos de la cosecha de cada árbol en una plantación en la República Oriental del Uruguay y controlaron la variación en el peso a lo largo del tiempo. Esto permitió corroborar que en condiciones de alta humedad ambiente los frutos absorben humedad del aire. Los pesos obtenidos en días de humedad elevada fueron mayores que los obtenidos en días secos.

La humedad relativa del aire en el lugar de almacenamiento de las nueces debe mantenerse en 65% para alcanzar y mantener el contenido ideal de humedad en las mismas (aproximadamente 4%). Si es más alta, la nuez puede absorber cantidades excesivas de humedad de aire, pierde textura y se hace susceptible al ataque de mohos y la producción de micotoxinas (AINIA, 2014).

Para estudiar el efecto de la aw se realizó la prueba de correlación de Spearman.

Para las muestras del año 2017 el coeficiente de correlación de Spearman, fue de -0,02 y para las del año 2016 0,17, lo que indica que no existe correlación en ninguno de los dos casos.

Correlación de Spearman

Variable (1)	Variable (2)	n	Spearman	p-valor
Aw	AFT	20	-0,02	0,9472

Variable (1)	Variable (2)	n	Spearman	p-valor
aw 2016	AFT 2016	20	0,17	0,4817

En cuanto a la evaluación de la calidad micológica se estudiaron las muestras del segundo período, los resultados de los recuentos se presentan en la siguiente tabla.

TABLA 3. Recuento de mohos en diferentes medios de muestras de nueces pecán del año 2017

n° Muestra	Medio de cultivo	Log UFC/g	Resultado ANOVA	% de contaminación	n° Muestra	Medio de cultivo	Log UFC/g	Resultado ANOVA	% de contaminación
21	HyL	1	B		31	HyL	1.48	B	
	RB	1.6	B	100		RB	2.57	A	100
	DG18	2.97	A			DG18	1.48	B	
22	HyL	2.23	B		32	HyL	1.95	A	
	RB	2.56	B	100		RB	1.78	A	100
	DG18	3.33	A			DG18	1.85	A	
23	HyL	1.48	A		33	HyL	3.03	A	
	RB	1.48	A	100		RB	2.76	A	100
	DG18	2.04	A			DG18	3.03	A	
24	HyL	2.68	A		34	HyL	2.63	A	
	RB	2.67	A	100		RB	3	A	100
	DG18	2.86	A			DG18	2.99	A	
25	HyL	3.11	A		35	HyL	1.7	A	
	RB	3.47	A	100		RB	2	A	50
	DG18	3.45	A			DG18	1.60	A	
26	HyL	2.72	A		36	HyL	2.51	A	
	RB	2.71	A	100		RB	2.60	A	90
	DG18	2.69	A			DG18	2.62	A	
27	HyL	1.30	A		37	HyL	1.30	B	
	RB	1	A	100		RB	1.60	AB	100
	DG18	1.60	A			DG18	1.85	A	
28	HyL	<1	A		38	HyL	<1	A	
	RB	1	B	100		RB	1	A	100
	DG18	1.48	C			DG18	3.16	A	
29	HyL	2.08	A		39	HyL	1.48	A	
	RB	1.95	A	100		RB	1.30	A	100
	DG18	2.15	A			DG18	1.60	A	
30	HyL	1.90	A		40	HyL	<1	B	
	RB	1.78	A	100		RB	1	A	100
	DG18	1	A			DG18	1.30	A	

LD: límite de detección

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los medios de cultivo ($p < 0,05$)

El 90% de las muestras analizadas resultó con una contaminación del 100%, si bien los recuentos de mohos no fueron elevados.

En la mayoría de las muestras no existe diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los diferentes medios ensayados por lo que el recuento puede ser realizado en cualquiera de los tres medios utilizados en este estudio.

Los recuentos más altos en el medio DG18 indican que la mayoría de los mohos presentes son capaces de crecer en condiciones de baja actividad de agua. Estos valores son similares a los encontrados por Tournas y col. (2015) en nuez pecán estudiadas en los Estados Unidos.

En la figura 9 se pueden observar los promedios de los recuentos en los distintos medios de cultivos, expresados en log UFC g-1.

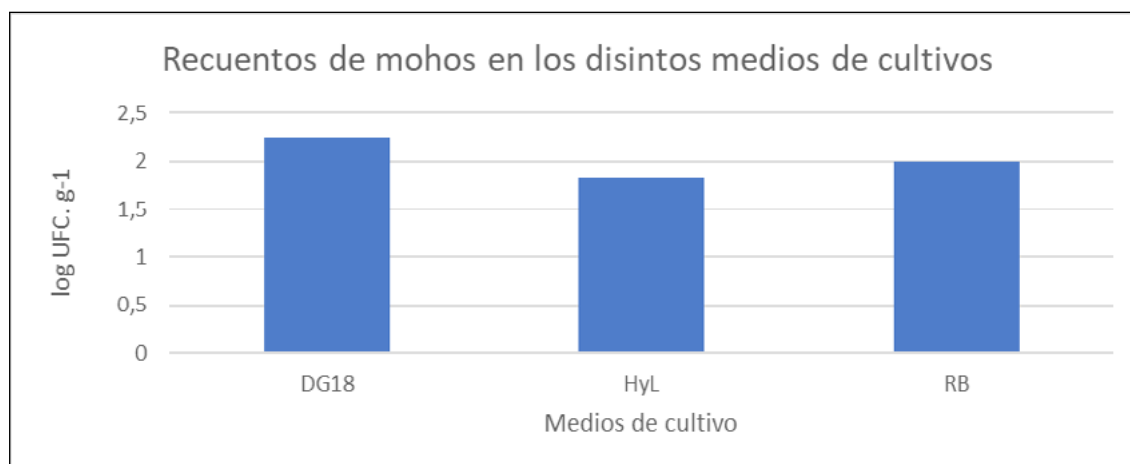


FIGURA 9. log UFC g-1 en diferentes medios de cultivos

El test de Tukey utilizando los datos de la figura 9 indica que existen diferencias significativas ($p > 0.05$) en los medios RB y H y L con respecto al DG18, lo que indica que este medio es el que permite el mayor crecimiento de los mohos.

En cuanto a la identificación de los géneros, se observaron las características descritas de los siguientes mohos, las mismas se observaron en microscopio óptico Nikon Eclipse E 200 con cámara TV LENS 0.55X DS NIKON (JAPAN) y se obtuvieron las fotografías, algunas de las cuales se presentan en las figuras 10, 11 y 12. Estas características coinciden con las descritas por Comerio en <http://uniciencia.ambientalex.info/infoCT/Honprenuepecar.pdf>

Aspergillus

Se observaron conidióforos con el ápice ensanchado (vesícula), con uno o dos niveles de ramificación. Las colonias presentaron crecimiento rápido, de color blanco, amarillo, castaño, negras, o verdosas.



FIGURA 10. fotografía de Aspergillus spp. Ampliado 400x

Penicillium

Se observan conidióforos con forma de pincel, presentando uno dos o tres niveles de ramificación. Las colonias muestran color en tonos de verde. En la figura 9 se puede observar una fotografía tomada desde el microscopio

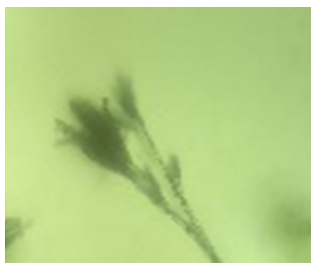


FIGURA 11. fotografía de *Penicillium* spp. Ampliado 400x

Alternaria

Las colonias se desarrollan rápidamente y pueden ser negras o grisáceas. Presenta conidios pigmentados, con septos transversales y longitudinales que se ubican en cadenas a menudo ramificadas.

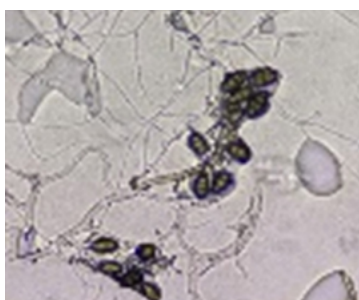


FIGURA 12. fotografía de *Alternaria* spp. Ampliado 400x

Mucor

Presenta colonias de rápido desarrollo, algodonosas. La altura de las mismas puede variar desde unos pocos milímetros a algunos centímetros.

Costa Baquião y col. (2012), quienes analizaron muestras de nueces de Brasil y de suelo, observaron un aumento en el número de UFC / g de *Aspergillus flavus* al aumentar el tiempo de contacto de las nueces con el suelo. En esta investigación, el contacto con el suelo fue probablemente la fuente más importante de infección de nueces del Brasil. Se encontraron cepas aflatoxigénicas del moho. La recolección de las nueces del suelo, podría ser la causa de contaminación de las mismas cuando se recolectan del suelo.

Conclusiones

Los resultados obtenidos del estudio de aflatoxinas en nuez pecan, donde se encontró que de las 40 muestras analizadas el 62,5% resultaron positivas para AFB1, el 5% superó el nivel permitido por la UE para AFB1 con un promedio de 12,91 µg/kg y la presencia de AFB2 en dos muestras analizadas con un valor máximo de 2,96 µg/kg, indican que estos productos alimenticios no son seguros para la salud de la población. Los

valores de actividad de agua en el producto comercial (menores a los necesarios para la producción de micotoxinas) indican que no es en el almacenamiento de las nueces donde se producen, sino en etapas anteriores donde la contaminación fúngica dispone de agua necesaria para su producción. Resulta necesario que se establezcan medidas de prevención para evitar la presencia de estos metabolitos que tienen efectos cancerígenos comprobados. Es necesario continuar con estas investigaciones así como plantear trabajos conjuntos con otras instituciones como agrupaciones de productores y el INTA, con la finalidad de prevenir la contaminación con mohos toxicogénicos y la producción de micotoxinas.

Bibliografía

- Amigot S. L., Fulgueira C. L., Bottai H., Basílico J. C. 2006. New parameters to evaluate forage quality. *Postharvest Biology and Technology*. Volumen 41, (2): 215–224.
- Battilani P. Mycotoxins in nuts. In: Zakyntinos G. (ed.). XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds. Zaragoza: CIHEAM / FAO / AUA / TEI Kalamatas / NAGREF, 2010. p. 167-173 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 94) <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a94/00801301.pdf>
- Bennett J. W. and Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. Volumen 16, (3):497–516.
- Blomhoff, R., Carlsen, M. H., Andersen L. F., Jacobs, D. R. Jr. 2008. Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*; 99(2):447-448.
- Broggi L. E., Pacin A. M., Gasparovic A, Sacchi C., Rothermel A, Gally A., Resnik S. 2007. Natural occurrence of aflatoxins, deoxynivalenol, fumonisins and zearalenone in maize from Entre Ríos Province, Argentina. *Mycotoxin Research*. Volumen 23, (2): 59-64.
- Consortio Argentino de Productores de Pecán, CAPPECAN, www.cappecan.com.ar/index.php?id=8. 2013. Alimentos Argentinos, 45, Cadenas alimentarias. Fecha de acceso: 25 de febrero de 2015
- Costa Baquião, A., Patricia Zorzete, P., Alves Reis, T., Assunção, E., Vergueiro, S., Corea, B. 2012. Mycoflora and mycotoxins in field samples of Brazil nuts. *Food Control* 28 (2012) 224-229.
- Dalcerio A., Magnoli C., Luna M., Ancasi G., Reynoso M.M., Chiacchiera S., Miazzi R., Palacio G. 1998. Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia*. Volumen 141, (1): 37-43.
- De Mello Fernanda Robert y Scussel Vildes Maria. 2007. Characteristics of In-Shell Brazil Nuts and Their Relationship to Aflatoxin Contamination: Criteria for Sorting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volumen 55 (22): 9305–9310.
- Doreste P. 2011. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Nuez de pecán. *Alimentos Argentinos* N° 51 pp 44-48.
- Doreste P. 2015. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, Nuez de pecán. *Alimentos Argentinos*: 44 - 48. www.alimentosargentinos.gob.ar. Fecha de acceso: 25 de febrero de 2015.
- European Commission. 2006. Regulation N° 1881/2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. En: *Mycotoxins in nuts*. P. Battilani Options Méditerranéennes, No. 94, 2010 – XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds. - European Mycotoxin Awareness Network, EMAN. 2003.
- FAO. 1999: Informe sobre Comercio Internacional de Alimentos a partir del Año 2000: Decisiones basadas en criterios científicos, armonización, equivalencia y reconocimiento mutuo. Melbourne, Australia. Octubre, 1999.
- FAO. Micotoxinas de importancia mundial En: <http://www.fao.org/3/Y1390S/y1390s04.htm#TopOfPage>
- FAO. 2000: Risk assessment of microbiological hazards in foods. Report of a joint FAP/WHO Expert Consultation. Geneve, Roma. julio, 2000.
- Fernández Pinto V. E, Vaamonde G. y Montani M. L. 1991. Influence of water activity, temperature and incubation time on the accumulation of aflatoxin B1 in soybeans. *Food Microbiology*. Volumen 8, (3): 195 – 201.

- Fernández Pinto V. E, Vaamonde G. y Montani M. L. 1991. Influence of water activity, temperatura and incubation time on the accumulation of aflatoxin B1 in soybeans. *Food Microbiology*. Volumen 8, (3): 195 – 201.
- Figueroa Morales Fernando. 2012. Tesis Doctoral: “Composición fenólica, lipídica, actividad antioxidante y biodisponibilidad in vitro de 10 genotipos de nueces cultivados en la Región de Murcia”. Facultad de Ciencias de la Salud. Departamento de Tecnología de la Alimentación y Nutrición. Universidad Católica San Antonio.
- Freire F. C., Kozakiewicz Z., Paterson R. R. 2000. “Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts”. *Mycopathologia* Volumen 149, (1): 13-19. Resumen del trabajo.
- Gimeno, Alberto Los Hongos y las Micotoxinas en la Alimentación Animal; Conceptos, Problemas, Control y Recomendaciones” (2002) En: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/los-hongos-micotoxinas-alimentacion-t26085.htm>
- Gimeno, A. y Martins M.L. 2011. Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos.
- González H. H. L., Moltó G. A., Pacin A., Resnik S. L., Zelaya M. J., Masana M., Martínez E. J. 2008. Trichothecenes and Mycoflora in Wheat Harvested in Nine Locations in Buenos Aires Province, Argentina. *Mycopathologia*. Volumen 165, (2): 105-114.
- Gonzalez. H. H. L, Martinez E. J., Pacin A. M., Resnik S. L. & Sydenham E. W. 1999. Natural cooccurrence of fumonisins, deoxynivalenol, zearalenone and aflatoxins in field trial corn in Argentina. *Food Additives & Contaminants*. Volumen 16, (12): 565-569.
- Fasiolo, Carolina; Zoppolo, Roberto Programa Nacional de Producción Frutícola En <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/3552/1/Rev.INIA-2014-No38-p.37-42.pdf> setiembre 2014, N°37
- Juan C., Zinedine A., Molto´ J.C., Idrissi L., Mañes J. 2008. “Aflatoxins levels in dried fruits from Rabat-Salé area, Morocco”. *Food Control*. Volumen 19: 849–853.
- Justo A. M. y Parra P. A. PERFIL Y BREVE ANÁLISIS DEL MERCADO DE FRUTAS SECAS. PRODUCCIÓN TRADICIONAL Y ORGÁNICA. Documento de Trabajo N° 32. Mayo, 2005, https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-dt_32.pdf
- Landeros, P., Noa, M., López, Y., González, D., Noa, E., Real, M., Juárez, C., Medina, M. 2012. Niveles de aflatoxina M1 en leche cruda y pasteurizada comercializada en la zona metropolitana de Guadalajara, México. *Rev. Salud Anim*. Vol. 34 No. 1: 40-45
- Leong Y.H., Ismail N., Latif A.A. y Ahmad R. 2010. “Aflatoxin occurrence in nuts and commercial nutty products in Malaysia”. *Food Control*. Volumen 21: 334–338.
- López C, Ramos L, Bulacio L, Yujnovsky F. 2000. Determination of aflatoxins in nuts, peanuts, almonds and hazelnuts. Identification of producing fungi. *Revista Brasileira de Toxicologia*; 13:51-4.
- López C, Ramos L, Ramadán S, Bulacio L. 2003. Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control*; 14:31-34
- Lopez-Garcia, R; Park, D.L. and Phillips, T.D. 1999. Integrated mycotoxin management systems. *FNA/ANA (FAO)*; 23: 38-48
- Luna-Guevara y Guerrero- Beltrán. 2010. Algunas características de compuestos presentes en los frutos secos y su relación con la salud. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. Volumen 4, (1): 37-48.
- Nus M. y Sánchez Miniz F. 2004. Frutos secos de riesgo cardío y cerebrovascular: una perspectiva española. *Archivo Latinoamericano de Nutrición*. Volumen 54, (2): 137-148.
- Pacheco A. M. y Scussel V. M. 2009. Aflatoxins evaluation on in-shell and shelled dry Brazil nuts for export analysed by LC-MS/MS - 2006 and 2007 harvests. *World Mycotoxin Journal*, 2 (3): 295 304.
- Pacheco A. M., Lucas A., Parente R. y Pacheco N. 2010. “Association between aflatoxin and aflatoxigenic fungi in Brazil nut (*Bertolletia e celsa* H.B.K.)”. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. ISSN 0101-2061. Campinas. Volumen 30, (2): 330-334.
- Pacin A. M., Broggi L. E., Resnik S.L., González H. H. L. 2001. Mycoflora and mycotoxins natural occurrence in corn from Entre Rios province, Argentina. *Mycotoxin Research*. Volumen 17, (1):31-38

- [Pitt JI, Basílico JC, Abarca ML, López C.](#) 2000. Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology*; 38 Suppl 1:41-6.
- Ramos, Sergio; De Ruyver, Roberto; Gattinoni, Natalia; Garin, Rubén; Garran, Sergio. 2018. Estación agrometeorológica del INTA Concordia. INTA Ediciones. ISSN 1851-314.
- Rawal S., Kim J. E. y Coulombe Jr, R. 2010. Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. *Research in Veterinary Science*. Volumen 89:325-331.
- Sabaté J. 2005. *Nutrición vegetariana*. Editorial Safeliz. p 356. ISBN 9788472081192.
- Sacchi C., González H.H.L., Broggi L.E., Pacin A., Resnik S.L., Cano G. y Taglieri D. 2009. Fungal contamination and mycotoxin natural occurrence in oats for race horses feeding in Argentina. *Animal Feed Science and Technology*. Volumen 152, (3-4): 330-335.
- Tournas VH, Niazi N S y Kohn J S. *Fungal Presence in Selected Tree Nuts and Dried Fruits*. 2015. *Microbiology Insights* 8 1–6.
- Tournas, V., Traxler R.W. 1984: Heat resistance of a *Neosartorya fischeri* strain isolated from pineapple frozen concentrate. *J. Food. Prot.* 57: 814-816.
- Hans P. van Egmond & Marco A. Jonker (2004) Worldwide Regulations on Aflatoxins—The Situation in 2002, *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 23:2-3, 273-293, DOI: 10.1081/TXR-200027844
- Vázquez Martínez, C; De Cos Blanco, A; López Nomdedeu, C. 2005. *Alimentación y nutrición*. Cap 10. Ediciones Díaz de Santos. ISBN 9788479787158.
- Vincenzini, A.Z., Luque, A., Zapata, M.L. y Basílico J.C. 1998: Aislamiento e identificación de hongos Resistentes al calor en frutillas. *Revista FABICIB*. 2:91-97

PID 9078

Denominación del Proyecto

Aflatoxinas en nuez de pecan cultivada en la provincia de Entre Ríos. Efecto de la actividad de agua

Directora del proyecto

SACHI, Cecilia A.

Directora

BROGGI, Leticia E.

Unidad Ejecutora

Facultad de Bromatología

Dependencia

Universidad Nacional de Entre Ríos

Contacto

csacchi@fb.uner.edu.ar - lbroggi@fb.uner.edu.ar

Área

Ciencia y tecnología de los alimentos; microbiología alimentaria; biología; micología

Integrantes del Proyecto

Lound, Liliana; Machin, Vanesa; Vera, Celina; Acosta, Carolina

Fechas de iniciación y de finalización efectivas

10/09/2015 y 09/03/2018

Aprobación del Informe Final por Resolución CS N° 364/18 (13/12/2018)

[<< VOLVER AL INICIO](#)