

DETERMINACIÓN DE LAS AFLATOXINAS B1, B2, G1 Y G2 EN EL ACEITE DE MANÍ, ACEITE DE OLIVA Y ACEITE DE SÉSAMO, ADOPTADO COMO MÉTODO OFICIAL AOAC 2013.05

Marisel Corelli¹, Gonzalo Fernandez¹, Román Bassani¹
Lei Bao² and Chengzhu Liang²

- 1) JLA:ARGENTINA S.A., Bv. Italia 1150, Genral Cabrera, Córdoba, Argentina (mail: mcorelli@jla.com.ar)
- 2) Shandong Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau of China, No.70 Qutang Xia Road Qing Dao City, 266002 Peoples Republic of China (mail:leibaoqd@yahoo.com o baol@aoacchina.org)

Introducción

Los aceites comestibles, consumidos en todo el mundo, pueden estar contaminados con aflatoxinas y representan un peligro para la salud pública. Límites reglamentarios para las aflatoxinas en los aceites comestibles ya se han establecido en muchos países. Se necesitan métodos completamente validados para determinar la contaminación de aflatoxinas en aceite comestible, para obtener resultados analíticos fiables, para garantizar la protección del consumidor y la seguridad alimentaria.

Recientemente se aprobó, luego de un extenso estudio colaborativo, el método de determinación de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en aceite de oliva, aceite de maní y aceite de sésamo, usando una columna de inmunoafinidad como limpieza, derivatización post-columna y análisis por cromatografía líquida con detector de fluorescencia. El 29 de marzo de 2013 fue adoptado por la AOAC Internacional (*Association of Official Analytical Chemists*) como primera acción de método oficial. El método fue asignado como Método Oficial número **2013.05**.

Este estudio estuvo a cargo de la Dra. Lei Bao, del Laboratorio de Referencia en análisis de Micotoxinas, de la Administración General de Supervisión de Calidad, Inspección y Cuarentena de China (AQSIQ) y presidenta de la sección de AOAC China. Desarrolló el método con la Dra. Mary Trucksess, de la US-FDA/CFSSAN, e hizo el estudio de validación de laboratorio individual (SLV) durante el período 2009-2010. Los resultados del estudio SLV cumplen con los criterios de aceptación y desempeño de la AOAC, e indican que el método es preciso y repetible.

En enero de 2011, el protocolo del estudio de colaboración internacional, fue aprobado por el comité de métodos de la AOAC. Continuando con los pasos necesarios para la aprobación oficial, la Dra. Lei Bao organizó entonces el estudio colaborativo internacional que involucra a 17 laboratorios de 5 países (China, Estados Unidos, Argentina, Brasil, Bélgica).

JLA:ARGENTINA S.A. fue invitado, debido a su trayectoria y desempeño destacado en numerosos estudios de competencia interlaboratorios, que se desarrollan a nivel internacional y de los cuales JLA:ARGENTINA participa ininterrumpidamente desde el año 1997. JLA fue el único laboratorio de Argentina y el segundo de Sudamérica, en formar parte del estudio para la generación de resultados experimentales, necesarios para obtener el reconocimiento por parte de la AOAC.

El espíritu de este trabajo es presentar los resultados obtenidos por JLA:ARGENTINA S.A., y un resumen de nuestra experiencia en esta participación, además de presentar este nuevo método analítico.

Materiales y Método

Cada laboratorio participante recibe las distintas muestras de aceites refrigeradas en recipientes cerrados, correspondientes a 5 gramos cada una, de muestras blancas, muestras adicionadas y muestras naturalmente contaminadas. Cada muestra era rotulada de manera aleatoria. Un total de 4 pares (duplicados) de las muestras de aceite de oliva, 5 pares de muestras de aceite de maní y 3 pares de muestras de aceites de sésamo. Se provee además a cada laboratorio del material descartable, material volumétrico y columnas de inmunoafinidad. Cada laboratorio replica el protocolo de ensayo propuesto utilizando equipos propios para la extracción y identificación y cuantificación: centrifugas, vortex, manifold de columnas, HPLC con detector de fluorescencia y sistema de derivatización post columna (electroquímico o fotoquímico).

Resumen del método: una porción de muestra se extrae con metanol-agua (55 + 45, v / v). Después de la agitación y la centrifugación, el extracto se filtró, se diluyó con agua, y se aplica a un CAI que contiene anticuerpos monoclonales específicos para las aflatoxinas. Después de lavar con metanol-agua (10 + 90, v / v), la aflatoxina se eluye de la columna con metanol. El extracto final es analizado por HPLC-FLD con derivatización electroquímica por KobraCell. La cuantificación se realiza por el método de estándar externo. El método es lineal en los rangos de trabajo propuesto.

Resultados

Del estudio de colaboración internacional surge el siguiente resumen de resultados experimentales: Los promedios de recuperaciones de Aflatoxinas Totales de aceite de oliva, aceite de maní y aceite de sésamo están entre el 84

al 92% (en niveles que van desde 2,0 hasta 20,0 µg/kg), y de AFB1, 86 a 93% (en niveles que van desde 1,0 a 10,0 µg/kg), y de AFB2, 89 a 95% (en niveles que van desde 0,25 hasta 2,5 µg/kg), y de AFG1, 85 a 97% (en niveles que van desde 0,5 a 5.0µg/kg), y de AFG2, 76 a 85% (en niveles que van desde 0,25 a 2.5µg/kg). Las desviaciones estándar relativas para la repetibilidad dentro del laboratorio (RSDr) varían entre 3,4 y 10,2% para las Aflatoxinas Totales, del 3,5 al 10,9% de AFB1, 3,2-9,5% para AFB2, 6,5-14,9% para AFG1 y 4,8 a 14,2% para AFG2. Las desviaciones estándar relativas para la reproducibilidad entre laboratorios (RSDR) variaron desde 6,1 hasta 14,5% para las Aflatoxinas Totales, 7,5-15,4% para AFB1, 7,1-14,6% para AFB2, 10,8-18,1% para AFG1 y 7,6 a 23,7% para AFG2. Los valores HORRAT son ≤ 2 para los todas las aflatoxinas en las tres matrices.

JLA:ARGENTINA S.A. recibió el código de identificación de **laboratorio N° 5**. En las siguientes tablas se resumen los resultados enviados por JLA y su correlación con el resto de los laboratorios:

Tabla N° 1, Muestra de aceite de maní ciegas, adicionadas, por duplicado.

	AFB1 2 µg/kg		AFB2 0.5 µg/kg		AFG1 1 µg/kg		AFG2 0.5 µg/kg		AFTot 4 µg/kg	
Valor Medio del Estudio	1.80	1.74	0.47	0.46	0.92	0.93	0.42	0.41	3.59	3.53
Valor encontrado por JLA	1.73	1.77	0.45	0.47	0.90	0.94	0.44	0.44	3.52	3.62

*Origen:*Bao et al.: Journal of AOAC International Vol. 95, No. 6, 2012.

Tabla N° 2, Valores de Repetibilidad

Parámetro	RepetibilidadRSD _r (%)				
Toxina	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AFTot
Valor Medio del Estudio	10.5	8.3	9.7	7.6	8.9
Valor encontrado por JLA	1.6	3.0	3.0	-	2.0

*Origen:*Bao et al.: Journal of AOAC International Vol. 95, No. 6, 2012.

Tabla N° 3, Valores de Recuperación de la toxina

Parámetro	Recuperación (%)				
Toxina	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AFTot
Valor Medio del Estudio	89.0	94.0	93.0	84.0	89.0
Valor encontrado por JLA	87.5	92.0	92.0	88.0	89.3

*Origen:*Bao et al.: Journal of AOAC International Vol. 95, No. 6, 2012.

Discusión y Conclusiones

Los resultados encontrados en el estudio demuestran que el método presentado cumple con los requisitos de calidad que impone la AOAC y es reproducible. Presenta modificaciones que simplifican su aplicación, si se lo compara con los métodos vigentes. Es aplicable para el análisis de aflatoxinas totales en aceites de maní, sésamo y oliva en el rango de concentraciones comprendidos entre 2-20 µg/kg. Es aplicable para el análisis de aflatoxina B1 en aceites de maní, sésamo y oliva en el rango de concentraciones comprendidos entre 1-10 µg/kg.

Los resultados obtenidos por JLA:ARGENTINA S.A. son satisfactorios en todos los casos, con valores muy cercanos a los valores promedios del estudio y en algunos casos superando los parámetros de calidad propuestos.

Ser invitados y poder participar en este estudio fue una experiencia muy enriquecedora, que nos permite afianzar nuestras capacidades profesionales, para poder satisfacer a nuestros clientes con los estándares más altos de calidad en los servicios.