



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**IDENTIFICACION DE LA MICROFLORA Y ANALISIS
DE LAS MICOTOXINAS EN SOPAS DE PASTA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
CONSUELO RODRIGUEZ GONZALEZ

México, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

	Página
Lista de tablas	i
Lista de figuras	ii
RESUMEN	iii
INTRODUCCIÓN	
Importancia de las pastas para sopa	1
Clasificación de las pastas para sopa	3
Fabricación de las pastas para sopa	4
Tipos de micotoxinas	
1) Aflatoxinas	6
2) Zearalenona	8
3) Tricotecenos	10
Objetivos	12
MATERIALES Y MÉTODOS	
I.- Determinación de la micoflora	14
II.- Análisis de las micotoxinas	16
a) Métodos de extracción de micotoxinas	
1.- Método de Thomas <i>et al.</i> (1975)	20
2.- Método de Romer (1986)	23
b) Cromatografía de capa fina	26
c) Preparación de estándares	26
d) Aplicación de estándares	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
I.- Determinación de la micoflora	29
II.- Análisis de las micotoxinas	
a) Aflatoxinas y zearalenona	34
b) Tricotecenos	41
CONCLUSIONES	48
LITERATURA CITADA	49

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1 : Valor nutritivo de 100 gramos de pasta para sopa.	2
Tabla 2 : Muestras analizadas para la determinación de la micoflora en pastas para sopa.	15
Tabla 3 : Muestras de pastas para sopa analizadas para la detección de micotoxinas.	17
Tabla 4 : Hongos encontrados en las pastas para sopa.	30
Tabla 5 : Aflatoxinas y metabolitos fluorescentes encontrados en las pastas para sopa.	35
Tabla 6 : Tricotecenos encontrados en veinte grupos muestrales de pastas para sopa.	30
Tabla 7 : Tricotecenos Tipo A encontrados en pastas para sopa.	43
Tabla 8 : Micotoxinas encontradas en pastas para sopa.	46

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Estructura química de las aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ y G ₂ .	7
Figura 2: Estructura química de la zearalenona.	9
Figura 3: Estructura química de los tricotecenos.	11
Figura 4: Método de Thomas <u>et al.</u> (1975).	21
Figura 5: Método de Romer (1986).	24

RESUMEN

Las pastas para sopa, como derivado del trigo, forman parte de la dieta diaria en nuestro país, ya que tienen diversas cualidades que propician su consumo en gran cantidad.

En el presente trabajo se hizo la determinación de la micoflora en pastas para sopa: en veinticuatro muestras, el género Aspergillus fue el más predominante, siendo A. flavus y A. clavatus los más frecuentes.

También se hizo el análisis de micotoxinas en cien muestras: 1% estuvo contaminada por aflatoxina B1 (espagueti, Cora Suprema), 1% por toxina T-2 (fideo, La Moderna) y 5% por diacetoxiscirpenol (1 anillo, Mayran; 1 fideo, Cora Suprema y 3 caracol, Cora Suprema); no se detectó zearalenona.

I N T R O D U C C I O N

IMPORTANCIA DE LAS PASTAS PARA SOPA.

Se piensa que la pasta fue introducida en Europa por el mercader veneciano Marco Polo tras uno de sus viajes a China sin embargo, en la antigua Roma se consumían pastas de harina conocidas en formas de tiras. Algunos historiadores sostienen que este alimento se conocía en Sicilia antes de la invasión árabe en el año 878 (Bermejo, 1987).

Las pastas para sopa se obtienen de una mezcla no fermentada compuesta por harina de trigo (sémola) y agua, con un contenido de humedad de 12%.

El trigo puede ser duro, semiduro y blando. La sémola de trigo duro es la mejor para elaborar una buena pasta, conteniendo importantes cantidades de fósforo, magnesio, calcio, hierro y potasio.

La pasta para sopa, como derivado del cereal, es un alimento básico en la nutrición humana, pues por su composición, un alto contenido en carbohidratos (70% almidón) y un reducido contenido de fibra, contienen una gran digestibilidad. El contenido de grasas es muy bajo, lo que facilita su uso en enfermedades biliares y pancreáticas. Contienen un 12% de proteínas, que se puede incrementar al añadir huevo, queso, leche, jitomate, etc. (Bermejo, 1987) (Tabla 1).

Sin embargo, considerando a la pasta sola, su contenido de vitaminas es muy bajo, por lo que es conveniente combinarlas con otro tipo de alimentos.

Por lo anteriormente mencionado, se puede considerar a la pasta para sopa, como derivado del cereal, un alimento básico en la nutrición humana por su valor energético.

Tabla 1: Valor nutritivo de 100 gramos de pasta para
sopa. Tomado de Bermejo, 1987.

Composición	Peso
Carbohidratos	74.0 g
Proteínas	12.0 g
Grasas	0.75 g
Minerales	0.80 g
Celulosa	0.45 g
Agua	12.0 g
Calorías	350.0 cal/g

CLASIFICACION DE LAS PASTAS PARA SOPA.

Se pueden hacer dos clasificaciones: la primera con base en la forma impresa a la pasta durante su fabricación (Estrada, 1986) y la segunda de acuerdo con los ingredientes que intervienen en su formación (García y Ortiz, 1985). Dentro de el primer criterio pueden ser:

- a) Menudas: En este grupo están todas las pastas de figuras como son estrella, letras, munición, pipirín, etc.
- b) Fantasía: Son pastas hechas con la ayuda de una laminadora o troqueladora, que da a la masa una forma más compleja como son las corbatas, almejas, etc.
- c) Fideos: Son pastas en forma de cintas o tiras, las cuales forman una madeja. Ejemplo: fideo cambray, fideo mediano...
- d) Huecas: Son de forma tubular y hueca: codo, canelones, etc.
- e) Pastas largas: A este tipo pertenecen el espagueti, tallarín, lasagna, macarrón, etc.

Para la segunda clasificación:

- a) Pasta normal: Desecación de las figuras obtenidas del amasado de semolina y/o harina de trigo, agua potable y colorante.
- b) Pasta enriquecida: Además de los productos señalados anteriormente, se incluyen alimentos que aumentan su valor nutritivo tales como: huevo, gluten, vitaminas y minerales, harina de soya, etc.
- c) Pastas con vegetales: A la pasta normal se le agregan vegetales deshidratados como son zanahorias, betabel, azafrán, etc.

FABRICACIÓN DE LAS PASTAS PARA SOPA.

De acuerdo a García y Ortiz (1985), los pasos más importantes del proceso de manufactura son:

Se limpia la sémola de partículas extrañas por medio de máquinas tamizadoras, pasándola posteriormente a un mezclador donde se le agrega agua a una temperatura de 19-50°C, para poder amasarse (100 partes de sémola por 18 a 30 partes de agua).

En un segundo amasado, la masa se somete a un intenso trabajo mecánico debido al aplastamiento y estiramiento de la misma. Posteriormente, se continúa con un prensado, moldeado y laminado de la masa de harina, con la finalidad de dar a la pasta la forma deseada, ya sea haciéndola pasar a través de un molde o cortándola de una lámina de masa previamente hecha.

Al salir del molde la pasta se encuentra caliente y suave, se recurre entonces a la ventilación para enfriarla evitando que se deforme antes de llegar a las cámaras de secado. En este proceso, el secado, hay un principio de fermentación causada por hongos provenientes del medio ambiente de la sala de fabricación y de las cámaras de secado, debido al prolongado tiempo en que se efectúa.

El objetivo principal del secado, es reducir el contenido de humedad del producto del 31 al 12 %, para lograr que la pasta sea dura, conserve su forma y pueda ser almacenada sin esporas, dura de 24 a 36 horas aproximadamente.

Las pastas menudas pueden ser guardadas a granel en silos, cajas o recipientes adecuados, sin embargo, los otros tipos de pastas son almacenadas en su empaque final, para mantener al producto libre de contaminación, protegerlo de daños durante el transporte y almacenaje, así como exhibir el producto favorablemente. Los principales materiales son, la bolsa de polietileno y la caja de cartón.

En la actualidad, las pastas para sopa se encuentran difundidas en diversos países del mundo. Algunas características que han contribuido a esto son:

- 1.- La gran variedad de formas que pueden producirse.
- 2.- Se pueden cocinar en gran cantidad de estilos y con diversos condimentos.
- 3.- Se conservan durante mucho tiempo, pues su consumo se puede efectuar hasta tres años después, a partir de su fecha de fabricación.
- 4.- El tiempo de preparación es corto, entre 5 y 20 minutos.
- 5.- Alto contenido calórico.
- 6.- El trigo es el cereal más difundido y de mayor producción en el mundo.

Según estudios preliminares, en México, la producción anual de pasta para sopa fue de 155,219 toneladas durante 1987 (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, 1987).

TIPOS DE MICOTOXINAS.

Las micotoxinas son compuestos tóxicos producidos por hongos, que desempeñan un papel importante en las enfermedades de humanos y animales domésticos (Mirocha y Christensen, 1983).

Aunque no todos los hongos producen micotoxinas, hay algunas especies capaces de producir más de una. Por otra parte algunas micotoxinas son producidas por más de una especie.

Mucha de la literatura sobre la toxicidad de las micotoxinas está enfocada a problemas veterinarios, porque su frecuencia y diagnóstico es más fácil de reconocer que el hombre. Asimismo, los trabajos hechos en laboratorio propician un mejor conocimiento sobre la etiología de las micotoxinas, cuando se experimenta con animales bajo condiciones conocidas (Wyllie y Morehouse, 1978).

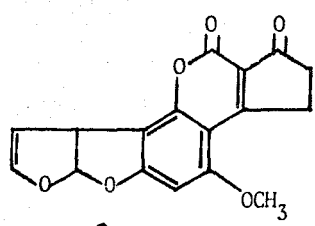
1) AFLATOXINAS.

Son metabolitos altamente tóxicos, producidos por ciertas cepas de hongos de Aspergillus flavus y A. parasiticus (Chipley y Vraitl, 1980).

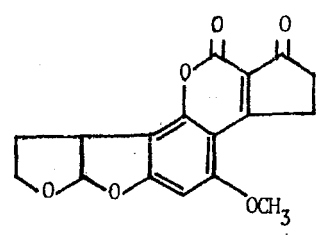
Pertenecen al grupo de las difuranocumarinas. Tienen varios derivados, el más importante es la aflatoxina B1, seguida por M1, B2, G1, G2, aflatoxicol y B2a (Fig. 1). Fluorescen cuando son irradiadas con luz ultravioleta de onda larga. La B1 y B2 aparecen de un color azul intenso y la G1 y G2 de un verde azul. Estas últimas son también carcinogénicas pero menos tóxicas que las primeras (Mirocha y Christensen, 1983).

Campos-Nieto y Robledo (1979), hicieron una recopilación bibliográfica sobre las aflatoxicosis animales en México durante los años de 1932 a 1979. Los caballos presentaron síntomas de congestión, hemorragia y coloración café amarillenta en el hígado, hemorragias en diversos órganos internos, congestión e ictericia de las mucosas, inmovilidad, etc. En cerdos, fueron inapetencia, fiebre, edemas y síndrome hemorrágico. En aves, hubo reducción de peso, erizamiento de plumas, incoordinación de movimiento, nodulaciones hepáticas, contaminación de huevo con aflatoxinas y diarreas. También se presentaron casos de abortos en vacas.

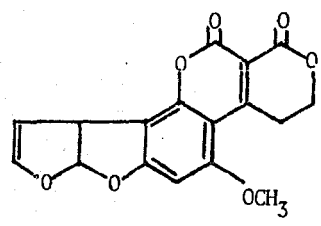
Se ha sugerido que las aflatoxinas causan cáncer de hígado en los humanos (Dutton y Westlake, 1985). Estudios hechos en Uganda, Swazilandia, Tailandia y Kenia, en los años de 1964 a 1970 (Wyllie y Morehouse, 1978) relacionaron la incidencia de cáncer de hígado con la cantidad de aflatoxinas detectadas en alimentos que se consumían en la dieta diaria de algunas regiones de esos países.



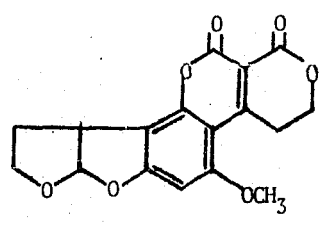
AFLATOXINA B₁



AFLATOXINA B₂



AFLATOXINA G₁



AFLATOXINA G₂

Figura 1: Estructura química de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ (Mirocha y Christensen, 1983).

Otras enfermedades humanas que podrían estar relacionadas con aflatoxinas y se presentan como casos aislados son: cirrosis infantil en la India, intoxicación de personas que comieron arroz y cazabe contaminados en Taiwan y Uganda, y el síndrome de Reye en Tailandia, Nueva Zelanda y Checoslovaquia. Los síntomas generales son infiltración gruesa de células de hígado con degeneración y fibrosis; en casos avanzados ictericia, ascitis y coma hepático en cirrosis infantil, edema en las extremidades inferiores, dolor abdominal, vómito e hígado palpable en las personas intoxicadas, vómito, hipoglucemia, convulsiones, coma y muerte para el síndrome de Reye (Wyllie y Morehouse, 1978).

2) ZEARALENONA.

Conocida como F-2 es una micotoxina estrogénica producida por especies del género Fusarium que induce hiperestrogenismo en animales de granja (Lee et al., 1985).

Es una lactona del ácido resorcílico (Fig. 2). Presenta su máxima fluorescencia, en azul verde, cuando se ilumina con luz ultravioleta de onda corta (Mirocha y Christensen, 1983).

Fusarium sp. produce grandes cantidades de zearalenona a bajas temperaturas (10-14 °C), en 6 a 10 semanas (Pathre y Mirocha, 1979).

El efecto más grave de la zearalenona se presenta en cerdos, causando el síndrome estrogénico, que se caracteriza por el hinchamiento del aparato genital. En hembras jóvenes la vulva se hincha, puede haber prolapso vaginal o anal el útero se alarga, convirtiéndose en edematoso, con atrofia de los ovarios. Los machos jóvenes pueden experimentar atrofia de los testículos y alargamiento de las glándulas mamarias. No hay aborto, pero puede causar infertilidad (Mirocha y Christensen, 1983; Mirocha y Pathre, 1979).

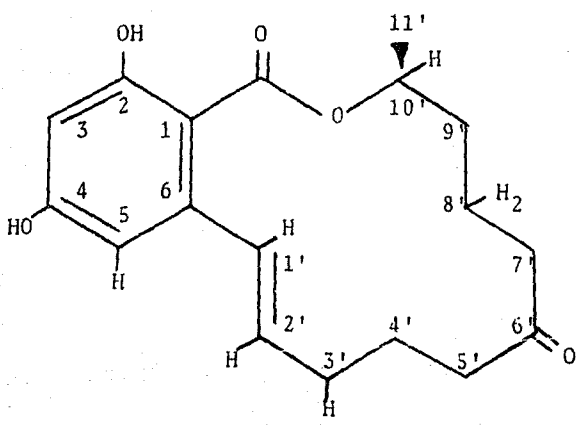


Figura 2: Estructura química de la zearalenona.
(Mirocha y Christensen, 1983)

3) TRICOTECENOS.

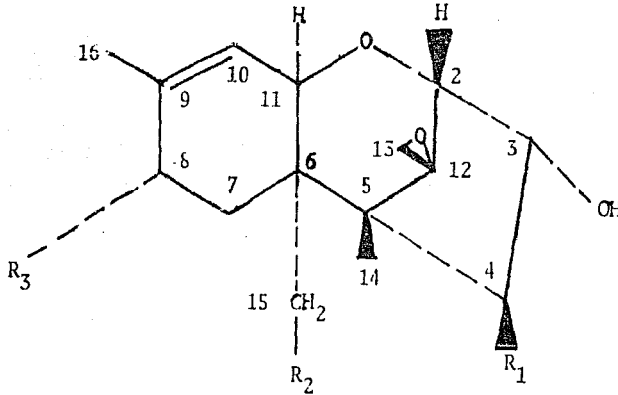
Son producidos por hongos de los géneros Fusarium, Myrothecium, Trichoderma, Cephalosporium, Verticimonosporium y Stachybotrys (Pathre y Mirocha, 1979).

Se conocen más de 50 derivados, que se caracterizan por una estructura tetracíclica 12,13-epoxitricotec-9-eno, la cual puede incluir un anillo macrocíclico (Fig.3). Los radicales de los carbonos 4,7,8 y 15 pueden representar un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo o un grupo éster. Dependiendo de sus grupos radicales se dividen en tricotecenos tipo A y tricotecenos tipo B. Son compuestos incoloros, cristalinos, sólidos y ópticamente activos, soluble en solventes polares (Mirocha y Christensen, 1983).

Para visualizar los tricotecenos, en cromatografía de placa fina, se les rocía comúnmente con ácido sulfúrico. Los tricotecenos tipo A, se presentan como manchas no fluorescentes de color café y los de tipo B, de un color fluorescente azul, bajo luz ultravioleta de onda larga (Eppley, 1979).

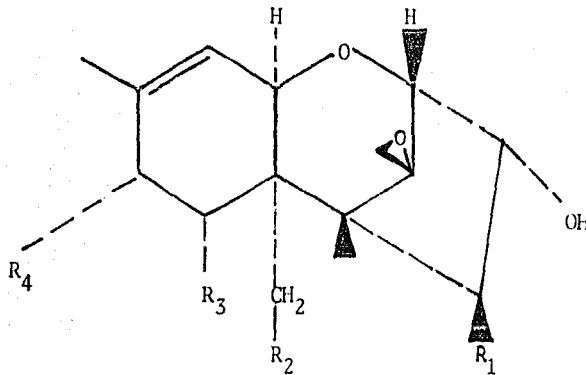
Una característica de los tricotecenos es su respuesta dérmica (edema, hemorragia y necrosis), cuando se aplican en la piel de algún animal. Varios autores han trabajado con gatos, vacas, ratas, conejos, aves de corral, caballos, cerdos y larvas de camarón (Yoshizawa et al., 1980; Marasas et al., 1984; Müller y Lepon, 1985; Müller, 1987). Las pruebas de piel son usadas en algunas ocasiones para detectar la presencia de tricotecenos, pero carecen de especificidad.

Los tricotecenos inhiben la síntesis de proteínas y DNA, presentan una alta letalidad en animales, daño celular y son supresores de inmunorrespuestas (Tanaka et al., 1985).



Toxina T-2 $R_1=R_2=CH_3COO^-$, $R_3=(CH_3)_2CHCH_2COO^-$;
 Toxina HT-2 $R_1=OH$, $R_2=CH_3COO^-$, $R_3=(CH_3)_2CHCH_2COO^-$;
 Neosolaniol $R_1=CH_3COO^-$, $R_3=OH$, $R_2=CH_3COO^-$;
 Diacetoxiscirpenol $R_1=R_2=CH_3COO^-$, $R_3=H$;
 Monoacetoxiscirpenol $R_1=OH$, $R_2=CH_3COO^-$, $R_3=H$;

Estructura de los tricotecenos Tipo A.



Tetraol T-2 $R_1=R_2=R_4=OH$, $R_3=H$;
 Scirpentriol $R_1=R_2=OH$, $R_3=R_4=H$;
 Deoxinivalenol $R_1=H$, $R_2=R_3=OH$, $R_4=O$;
 Fusarenona-X $R_1=CH_3COO^-$, $R_2=R_3=OH$, $R_4=O$;
 Nivalenol $R_1=R_2=R_3=OH$, $R_4=O$;

Estructura de los tricotecenos Tipo B

Figura 3: Estructura química de los tricotecenos (Mirocha y Christensen, 1983).

Los tricotecenos que se han encontrado más frecuentemente en alimentos para animales, son el deoxinivalenol (DON), la toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS) y nivalenol (NIV). El DON se ha asociado con el rechazo de maíz por cerdos y vómito en perros. La toxina T-2, DAS y NIV, están implicados en síntomas de síndrome hemorrágico en vacas y cerdos, vómito en cerdos y perros, decremento en la producción de huevo y peso corporal en aves, inapetencia e infertilidad en cerdos; caballos, patos y gansos también han resultado afectados. La enfermedad humana llamada Aleukia Tóxica Alimentaria (ATA) en la URSS, así como el cáncer esofágico en Transkei, se han atribuido a los tricotecenos (Pathre y Mirocha, 1979).

Los síntomas típicos de ATA incluyen lesiones en la piel, leucopenia, agranulocitosis, sangrado de nariz, garganta, encefalopatía y tracto genital, angina necrótica y agotamiento de la médula del hueso (Wyllie y Morehouse, 1978).

En Tokio, 1954, personas que consumieron arroz contaminado por Fusarium sp., sufrieron de náusea, vómito y somnolencia. Otros síntomas son jaqueca, vértigo, escalofrío y disturbio visual, como sucedió en la gente de Siberia (Committee on Protection Against Mycotox., 1983).

En Corea, 1963, hubo una epidemia de Fusarium graminearum en granos de cereal que provocaron diversas manifestaciones en cerdos y perros, como vómito, mareo y decremento en peso. Reportes médicos indicaron náusea, vómito, diarrea, mareo, irritación de la garganta, escalofrío, salivación, erupción y pruritus (Lee et al., 1985).

O B J E T I V O S

Las pastas para sopa forman parte del menú diario de una gran mayoría de la población mexicana, debido a su delicado sabor, la gran variedad de formas en que pueden ser preparadas, su valor nutritivo y su bajo costo. Por eso es importante conocer la

calidad de este producto como parte de nuestra dieta alimenticia.

Los objetivos del presente trabajo son:

- 1) Conocer la micoflora de pasta para sopa.
- 2) Determinación química de aflatoxinas, zearalenona y tricotecenos en pastas para sopa.

MATERIALES Y METODOS.

La determinación de la micoflora en pasta para sopa fue realizada en el Laboratorio de Micología y Fitopatología, Instituto de Biología de la UNAM. El análisis para la detección de micotoxinas en pastas se hizo en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

I.- DETERMINACIÓN DE LA MICOFLORA.

Muestras analizadas.

Todos los paquetes de pasta pesaron 200 gramos y la muestra que se analizó fue de 10 figuras ó 10 centímetros de pasta para sopa (Tabla 2).

Medio de cultivo.

El medio de cultivo que se utilizó para sembrar las pastas fue el de papa-dextrosa-agar (PDA) el cual fue esterilizado en una autoclave marca A.H.T.Co. Philada a una presión de 15 libras durante 20 minutos.

Este es un medio de cultivo sintético que se utiliza en el aislamiento, desarrollo y reproducción de gran número de especies de hongos (López, 1984).

Después de que se enfrió el medio de cultivo contenido en un matraz y antes de que se solidificara, se vació en cajas de Petri que previamente se habían esterilizado en una estufa marca Despatch Oven. Co. a una temperatura de 130°C durante una hora. Esta operación se realizó bajo condiciones estériles.

Estas cajas de Petri se incubaron a una temperatura de 25°C, durante un mínimo de 24 horas, para verificar que el medio de cultivo estuviera sólido y se encontrara libre de microorganismos.

Tabla 2: Muestras analizadas para la determinación de la micoflora en pastas para sopa.

Muestreo	Marca	Figura	Cantidad de figuras analizadas
I	Cora	Arroz	10
I	Cora	Estrella	10
I	La Moderna	Moño	10
I	La Moderna	Espagueti	10 cm
I	Mayran	Codo	10
I	Mayran	Letra	10
I	Mayran	Munición	10
I	Mayran	Espagueti	10 cm
I	Pastilara	Almeja	10
I	Pastilara	Fideo	10 cm
I	Triggonni	Macarrón	10 cm
II	Cora	Pipirín	10
II	Cora Suprema	Pluma	10
II	Cora Suprema	Espagueti	10 cm
II	La Moderna	Moño	10
II	La Moderna	Tallarín	10
II	Marca Libre	Estrella	10
II	Pastilara	Almeja	10
II	Rex	Engrane	10
II	Rex	Ojo	10
II	Rex	Fideo	10 cm
II	Tres Estrellas	Caracol	10
II	Tres Estrellas	Lengua	10
II	Tres Estrellas	Letra	10

I =Tienda UNAM, 26 de mayo 1987.

II=Aurrera Taxqueña, 7 de octubre 1987.

Siembra de pastas.

De las pastas de tamaño pequeño se tomaron diez figuras de cada muestra y de las pastas de tamaño más grande se midió un centímetro, colocándose diez centímetros por muestra en cada caja de Petri. La pasta se introdujo durante un minuto en hipoclorito de sodio al 2%, antes de ser sembrada, para desinfectarla.

Las muestras de pasta se incubaron a 25°C, durante cinco días, contándose el número de colonias de hongos y observando su desarrollo. Cada colonia de hongo presente en una caja de Petri se resembró continuamente hasta obtenerse una cepa pura de hongo.

Determinación de los hongos.

Se hicieron observaciones de las colonias de hongos por medio de un microscopio estereoscópico marca Zeiss, así como preparaciones temporales hechas con lactofenol a través de un microscopio óptico marca Zeiss.

La determinación a nivel de géneros se hizo con base en la clasificación de Barnett y Hunter (1972) y a nivel de especies de Aspergillus siguiendo a Raper y Fennell (1965).

II.- ANALISIS DE LAS MICOTOXINAS.

Se hicieron cinco muestreos durante los meses de mayo de 1987 a febrero de 1988, con un total de 100 muestras (Tabla 3).

Los paquetes de pasta para sopa se escogieron al azar en los supermercados y a excepción de seis paquetes (canelones/Magma; lasagna/Magma; lasagna con espinacas/Magma ;

Tabla 3: Muestras de pasta para sopa analizadas para la detección de micotoxinas.

Marca	Figura	Número de repeticiones	Muestreo
4 Aber	Espiral	1	III
4 Aber	Manguera	1	III
Cora	Arroz	2	I,IV
Cora	Caracol	2	IV,IV
Cora	Corona	1	IV
Cora	Codo	2	IV,V
Cora	Engrane	2	IV,V
Cora	Estrella	1	III
Cora	Lengua	1	IV
Cora	Pipirín	2	II,III
Cora	Pluma	2	III,IV
Cora	Espagueti	2	IV,V
Cora Suprema	Caracol	5	III,III,IV,V,V
Cora Suprema	Codo	2	III,V
Cora Suprema	Fideo	2	IV,V
Cora Suprema	Pluma	1	II
Cora Suprema	Espagueti	1	IV
Gamesa	Caracol	2	II,V
Gamesa	Codo	2	IV,V
Gamesa	Corbata	1	IV
Gamesa	Fideo	1	V
Gamesa	Pluma	2	III,IV
Gamesa	Espagueti	2	I,V
La Moderna	Anillo	1	IV
La Moderna	Estrella	1	V
La Moderna	Fideo	1	IV
La Moderna	Moño	2	I,II
La Moderna	Pluma	1	V
La Moderna	Sol	1	IV
La Moderna	Espagueti	1	I

Tabla 3: Continuación.

Marca	Figura	Número de repetición	Muestreo
Magma	Canelones	1	V
Magma	Lasagna	1	IV
Magma	Lasagna/espina.	1	V
Magma	Espagueti	1	III
Marca Libre	Codo	1	V
Marca Libre	Estrella	1	II
Marca Libre	Espagueti	1	V
Mayran	Codo	1	I
Mayran	Letra	1	I
Mayran	Munición	1	I
Mayran	Rueda	2	III, III
Mayran	Espagueti	1	I
Pastabela	Caracol	1	V
Pastabela	Codo	1	IV
Pastabela	Corbata	1	IV
Pastabela	Fideo	1	V
Pastabela	Pluma	1	V
Pastabela	Espagueti	1	V
Pastilandia	Ravioles	1	III
Pastilara	Almeja	4	I, II, III, III
Pastilara	Fideo	2	I, III
Rex	Caracol	1	III
Rex	Codo	3	III, IV, V
Rex	Engrane	2	II, III
Rex	Fideo	2	II, V
Rex	Ojito	1	II
Rex	Pipirín	1	III
Rex	Espagueti	4	III, III, IV, V

Tabla 3: Continuación.

Marca	Figura	Número de repetición	Muestreo
Rex Gourmet	Lasagna/espinacas	1	V
Rex Gourmet	Macarroni	1	V
Rex Gourmet	Tallarín	1	V
Tres Estrellas	Caracol	1	II
Tres Estrellas	Lengua	1	II
Tres Estrellas	Letra	1	II
Trigoni	Macarrón	1	I

- I = Tienda UNAM, 26 de mayo 1987.
 II = Aurrerá Taxqueña, 7 de octubre 1987.
 III = Tienda UNAM, 5 de enero 1988.
 IV = Aurrerá Periférico, 29 de enero 1988.
 V = Aurrerá Periférico, 16 de febrero 1988.

ravioles/Pastilandia;macarrones/Rex Gourmet:espagueti / Magma) todos pesaron 200 gramos.Para el análisis de las micotoxinas se pesaron 50 gramos por muestra.

En este trabajo,la detección de aflatoxinas y zearalenona se hizo por el método de Thomas et al.(1975), pues se ha considerado que es una técnica rápida la cual utiliza menos solventes tóxicos que el método de Stoloff et al. (1971) y su costo no es muy alto en comparación a éste último (Campos,1987 y Pereda,1987).

Para el análisis de los tricotecenos,se siguió el método de Romer (1986) ,con algunas modificaciones hechas por Bárcenas(1988).

Las cien muestras de pasta para sopa se molieron y se tomaron diez gramos de cada una.Se hicieron grupos de cinco muestras,las cuales se etiquetaron como una sola,para obtener al final veinte grupos muestrales de 50 gramos . Cuando se detectaron tricotecenos en algún grupo muestral se procedió a hacer el análisis individual,con 50 gramos por muestra.

a) Métodos de extracción de micotoxinas.

La extracción es la separación de un componente de una mezcla o de una solución por medio de un disolvente.El proceso consiste en agitar una solución o suspensión acuosa con disolvente orgánico inmiscible y en dejar que los líquidos se separen

1.- Método de Thomas et al.(1975).

Sirve para la detección de aflatoxinas y zearalenona. Es un sistema de extracción metanol-agua que utiliza hexano para desengrasar y carbonato cúprico para precipitar pigmentos.Las toxinas son extraídas en cloroformo y detectadas por medio de cromatografía de capa fina.La sensibilidad de este método es aproximadamente de 2 μ g/kg de aflatoxina B1 y 100 μ g/kg de zearalenona (Fig. 4)

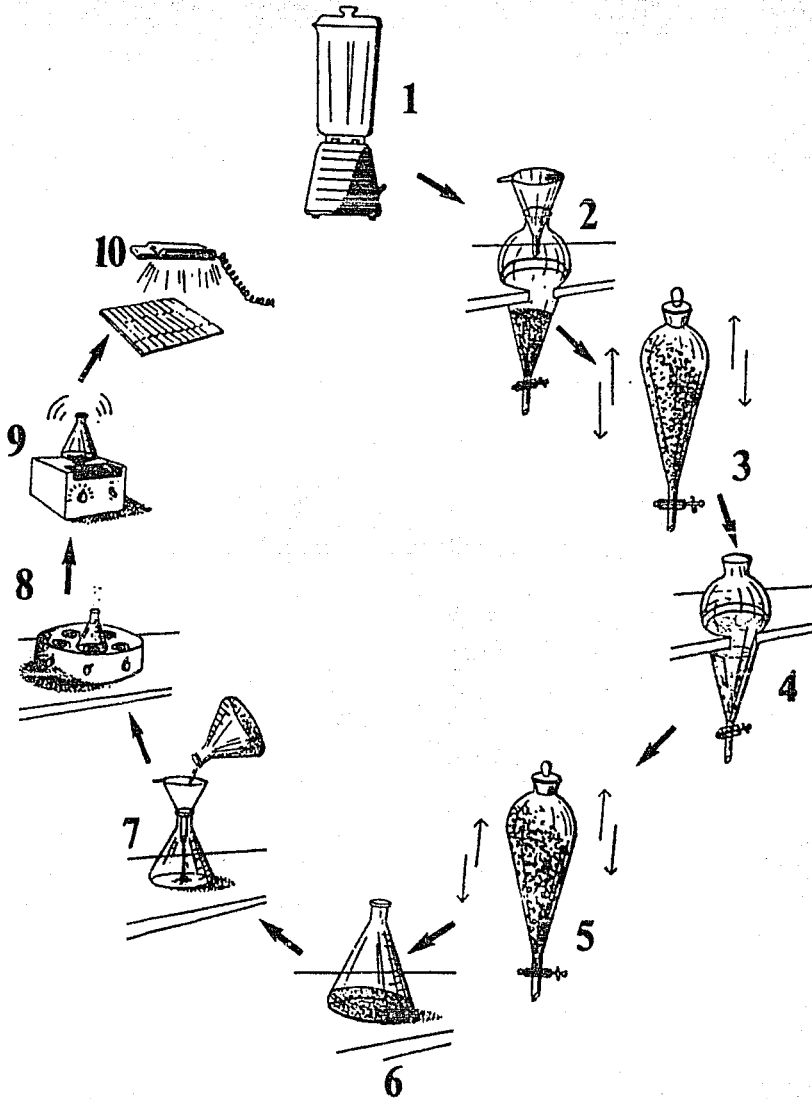


Figura 4: Método de Thomas, et al. (1975)
 (Tomado de Pereda, et al. 1988).

- 1.- Se licuaron 50 gramos de pasta con 250 ml de una solución metanol-agua (60-40 v/v) durante dos minutos a alta velocidad.
- 2.- La mezcla obtenida se pasó a través de papel filtro de poro mediano a un embudo de separación de 250 ml.
- 3.- Se añadieron 30 ml de una solución saturada de cloruro de sodio y 50 ml de hexano en el embudo de separación que contenía el filtrado. Se agitó durante un mi nuto, permitiendo que salieran los gases.
- 4.- Cuando se separaron las fases, se transfirió la inferior a un segundo embudo de separación, desechándose la fase superior.
- 5.- Se añadieron 50 ml de cloroformo, agitando por un minuto y sacando los gases formados.
- 6.- Cuando se separaron las fases, se transfirió la inferior a un matraz de 200 ml que contenía 5 gramos de carbonato cúprico para precipitar los pigmentos, agitán dose por un minuto.
- 7.- El carbonato cúprico se dejó reposar, para poste riormente decantarlo junto con el extracto final a otro matraz a través de papel filtro de poro mediano , el cual contenía 5 gramos de sulfato de sodio para des hidratar la muestra.
- 8.- Se evaporó el extracto hasta quedar aproximadamente un mililitro y se transfirió a un vial, el cual se colo có en una estufa a una temperatura de 40°C para que se evaporara a sequedad.
- 9.- Se resuspendió el extracto del vial con un mililitro de metanol, agitando por un minuto en un vórtex.
- 10.- Se desarrolló la cromatografía de capa fina colocando 100 μ l de una muestra en cada carril, así como 50 μ l del estándar. Se observó con luz ultravioleta y se anotaron los factores de retardación (RF).

11.- Por último, para corroborar la presencia de aflatoxinas, se roció la placa de cromatografía con ácido sulfúrico al 20 %, se secó en un horno a 40°C y se observó nuevamente con luz ultravioleta (Stack y Poshland, 1975).

2.- Método de Romer (1986).

Es un método que separa y purifica tricotecenos de otros compuestos presentes en alimentos por medio de una solución acuosa de acetato de etilo, metanol y acetonitrilo. Utiliza pequeñas columnas limpiadoras hechas de carbón activado, alúmina y celite para absorber los compuestos coloreados o fluorescentes presentes en el extracto de la muestra (Fig. 5)

Los pasos fueron los siguientes:

- 1.- Se licuaron 50 gramos de pasta por cada muestra con 50 ml de acetato de etilo, 100 ml de solución metanol-agua (50-50 v/v) y 25 ml de solución acetonitrilo-agua (21-4 v/v) a alta velocidad por dos minutos.
- 2.- Se filtró el extracto en papel filtro de poro mediano y se colectó en un matraz de 250 ml.
- 3.- Se hizo una columna limpiadora con los siguientes materiales, colocándose en el orden mencionado: una capa delgada de fibra de vidrio, dos papeles filtro y una mezcla de carbón activado (0.75 g), alúmina (0.70 g) y celite (0.30 g).
- 4.- Se agregó a la columna limpiadora 3 ml de acetonitrilo-agua (21-4 v/v) para humedecer los componentes.
- 5.- El extracto se pasó por la columna limpiadora, empujándose con un émbolo y colectándose en un matraz de 125 ml.
- 6.- Se evaporó el extracto hasta que quedaron 3 ml, transfiriéndose después a un vial.
- 7.- Posteriormente se evaporó el extracto del vial a sequedad en una estufa a una temperatura de 40°C.

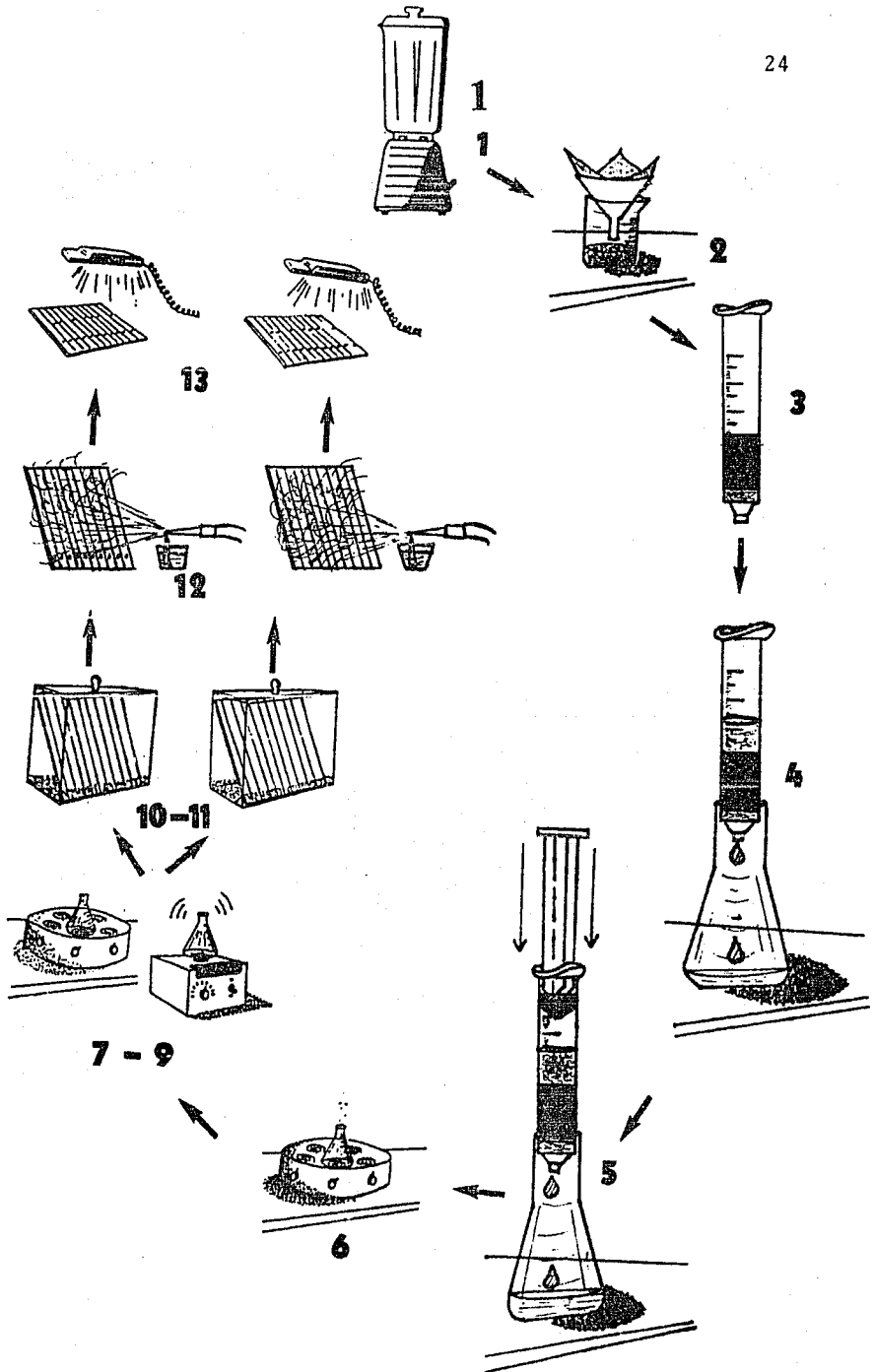


Figura 5: Método de Romer, 1986 (Tomado de Bárcenas, 1988).

- 8.- Se resuspendió el extracto del vial con $500\ \mu\text{l}$ de una solución acetona-metanol (2-1 v/v) ,evaporándose a sequedad nuevamente.
- 9.- Se resuspendió el extracto del vial con un ml de una solución tolueno-acetonitrilo (97-3 v/v),agitándose en un vórtex por un minuto.
- 10.- Se desarrolló la cromatografía de capa fina,colocándose se $100\ \mu\text{l}$ del extracto del vial en cada carril,así como $100\ \mu\text{l}$ del estándar.Una placa de cromatografía para tricotecenos tipo A y otra para tipo B.
- 11.- A cada uno de los estándares de tricotecenos tipo A se le agregaron encima 25 ml de la solución tolueno-acetonitrilo (2-1 v/v).
- 12.- Como prueba confirmatoria,la placa de cromatografía de tricotecenos tipo A se roció con una solución metanol-ácido sulfúrico (10-1 v/v) ,secándose en un horno a 130°C durante diez minutos.La placa de cromatografía tipo B se roció con una solución de metanol-cloruro de aluminio (5-1 v/v) secándose en un horno a 130°C durante diez minutos.
- 13.- Se observaron las placas de cromatografía bajo la luz ultravioleta y se anotaron las distancias recorridas por el solvente y el soluto (Rf).

Los solventes y equipo de cromatografía usados fueron de Merck-México, S.A.,el acetonitrilo de J.J. Baker,S.A. de C.V., al igual que el carbonato cúprico.La vidriería fue marca Kimex y la licuadora Osterizer.La estufa fue de American Instruments,Co., la lámpara de luz ultravioleta de Listed Insp. & Means,eq..El vórtex fue de Lab-Line Instruments,Inc. y el horno marca Felisa,modelo FE 291.

b) Cromatografía de capa fina.

En la cromatografía de capa fina la muestra problema se divide en dos fases, una estacionaria y otra móvil, la cual se filtra a través de una fase fija. Es una técnica rápida y sencilla, que requiere cantidades de muestra muy pequeñas. Se emplea para identificar diferentes compuestos orgánicos.

La preparación de las placas para cromatografía se hizo de la siguiente manera:

Se colocaron cinco vidrios limpios de 20 X 20 cm y 3 mm de grosor sobre un soporte de placas .

Se preparó una mezcla de 30 gramos de gel de sílice con 70 ml de agua destilada, moliéndose en un mortero durante diez minutos, se dejó reposar el mismo tiempo.

La mezcla se vació en un aplicador, deslizándose sobre los vidrios para formar una capa de gel de sílice.

Cuando las placas para cromatografía estuvieron secas se colocaron en un portaplacas y se metieron en un horno Felisa modelo 291 durante una hora a una temperatura de 100°C para activarlas.

El soporte de placas, el aplicador y el portaplacas fueron de la marca Desaga Heidelberg.

c) Preparación de los estándares.

Se aplicaron estándares de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 así como zearalenona puras marca Sigma Chemical Company. Se pusieron 5 mg de cada toxina en 5 ml de metanol dando una concentración de 1000 ppm. Posteriormente se tomó un mililitro y se disolvió en 100 ml de metanol, obteniéndose una solución final de 10 ppm.

Para los tricotecnos se utilizaron estándares de deoxinivalenol (DON), diacetoxiscirpenol (DAS) y la toxina T-2 puras marca Sigma Chemical Company. Se puso un mi

ligramo de cada toxina en un mililitro de acetonitrilo para obtenerse una concentración de 1000 ppm. Posteriormente se tomó medio mililitro de esta solución y se resolvió con 3 ml de acetonitrilo, obteniéndose una concentración final de 166.6 ppm.

La concentración de los estándares de tricotecenos fue más alta que las de aflatoxinas y zearalenona porque cuando se revelaban las placas de cromatografía bajo la luz ultravioleta se distinguían muy tenuemente con las concentraciones de 10 ppm.

d) Aplicación de estándares.

Se marcaron líneas paralelas de un centímetro en las placas de cromatografía activadas, anotándose un punto de referencia de dos centímetros en la base de cada carril. También se marcó en la parte superior de la placa el número de muestra correspondiente, así como la abreviatura del nombre de los estándares.

a) Aflatoxinas y zearalenona.

La cantidad que se aplicó fue de 50 μ l de la solución de 10 ppm para los estándares de aflatoxinas (B1, B2, G1, G2) y zearalenona, para las muestras problema fue de 100 μ l.

Posteriormente, se colocó la placa en una cámara de vidrio, la cual contenía un desarrollador de micotoxinas. En este caso fue de 20 ml de acetona, 40 ml de acetato de etilo y 60 ml de tolueno.

Se dejó correr el desarrollador de micotoxinas y cuando faltaban aproximadamente dos centímetros se sacó la placa de cromatografía, marcando con un lápiz a donde llegó el disolvente.

También se marcaron con lápiz las manchas fluorescentes de los estándares y de las muestras cuando éstas se revelaron por medio de la luz ultravioleta.

Se midió la distancia recorrida por el solvente y por el soluto para calcular su Rf (Factor de retención).

ii) Tricotecenos.

La cantidad aplicada de estándares y muestras fue $100\mu\text{l}$. Se siguieron las mismas indicaciones hechas para aflatoxinas y zearalenona con respecto a la aplicación de los estándares y el desarrollo de la cromatografía pero con diferentes desarrolladores de micotoxinas.

El desarrollador que se usó para tricotecenos tipo A fue tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico al 90% (6-2-1 v/V). Para tricotecenos tipo B se usó una solución de acetato de etilo-metanol (20-1 v/v).

RESULTADOS Y DISCUSION

I.-Determinación de la micoflora.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4 . De las veinticuatro muestras de pasta para sopa sembradas en medio de PDA, se observaron un total de 218 colonias de hongos, 195 (96%) pertenecían al género Aspergillus Link , 6(3%) al género Mucor Ehrenb. ex Fr. y 2(1%) al género Penicillium Link . También se encontraron colonias de bacterias.

Las especies más abundantes de Aspergillus fueron: A. flavus Link (59%) y A. clavatus Desm. (32%); en cantidades menores , A. terreus Thom (7%) y A. niger V. Tiegh (1.4%).

Las figuras y marcas de pasta para sopa que tuvieron mayor número de colonias de hongos fueron: codito, Mayran; estrella, Cora; pipirín, Cora; letra, Mayran; arroz, Cora y muniación, Mayran.

Los datos anteriores nos indican que las pastas para sopa, o macarrones, contienen un gran porcentaje de hongos de Aspergillus , siendo A. flavus y A. clavatus los más abundantes. Asimismo, las pastas llamadas menudas de las marcas Mayran y Cora , son las que presentaron mayor número de colonias de hongos.

Como se ha mencionado, las pastas para sopa se obtienen del secamiento de una masa de harina de trigo y agua; podría señalarse entonces que si este tipo de pasta se siembra en un medio de cultivo o se hace un análisis de la misma, lo que realmente se está trabajando es harina de trigo.

El trigo pertenece al género Triticum , de la familia de las gramíneas; de sus granos se puede obtener sémola, semolina, salvado, fibras, hojuelas, pan, etc.

Tabla 4 :Hongos encontrados en las pastas para sopa.

Muestreo	Marcas de pasta	Figura	Hongo	Número de colonias
I	Cora	Estrellita	<u>Aspergillus flavus</u>	13
			<u>A. clavatus</u>	8
			<u>A. niger</u>	1
			<u>A. terreus</u>	2
I	Cora	Arroz	<u>A. flavus</u>	13
			<u>A. clavatus</u>	2
I	La Moderna	Moño	<u>A. flavus</u>	1
			<u>A. clavatus</u>	2
			<u>Mucor sp.</u>	1
I	La Moderna	Espaguetti	<u>A. flavus</u>	1
			<u>A. niger</u>	2
			Bacterias	
I	Mayran	Espaguetti	<u>A. clavatus</u>	7
			<u>A. flavus</u>	1
			Bacterias	
I	Mayran	Codito	<u>A. flavus</u>	15
			<u>A. clavatus</u>	6
			<u>A. terreus</u>	4
			<u>Penicillium s p.</u>	1
I	Mayran	Letra	<u>A. flavus</u>	12
			<u>A. clavatus</u>	2
			<u>A. terreus</u>	3
			<u>Mucor sp.</u>	1

Tabla 4 : Continuación.

Muestreo	Marcas de pasta	Figura	Hongo	Número de colonias
I	Mayran	Munición	<u>A. flavus</u>	12
			<u>A. clavatus</u>	2
			<u>Mucor sp.</u>	1
I	Pastilara	Almeja	<u>A. flavus</u>	2
			<u>A. clavatus</u>	4
			<u>A. terreus</u>	2
			<u>Mucor sp.</u>	1
I	Pastilara	Fideo	<u>A. flavus</u>	2
			<u>A. clavatus</u>	1
			<u>A. terreus</u>	1
			<u>Penicillium sp.</u>	1
			Bacterias	
I	Triggonni	Macarrón	<u>A. flavus</u>	2
			<u>A. clavatus</u>	4
			<u>Mucor sp.</u>	2
II	Cora	Pipirín	<u>A. flavus</u>	13
			<u>A. clavatus</u>	5
			Bacterias	
II	Cora Suprema	Espagueti	<u>A. flavus</u>	1
			<u>A. terreus</u>	1
			Bacterias	
II	Cora Suprema	Pluma	<u>A. flavus</u>	1
			<u>A. clavatus</u>	5
II	La Moderna	Moño	<u>A. flavus</u>	5
			<u>A. clavatus</u>	6
II	La Moderna	Tallarín	<u>A. clavatus</u>	1
			<u>A. flavus</u>	1

Tabla 4:Continuación.

Muestreo	Marcas de pasta	Figura	Hongo	Número de colonias
II	Marca Libre	Estrella	Bacterias	
II	Pastilara	Almeja	Bacterias	
II	Rex	Engrane	<u>A. flavus</u>	9
			<u>A. clavatus</u>	3
			<u>A. terreus</u>	1
II	Rex	Ojito	<u>A. clavatus</u>	1
			<u>A. terreus</u>	1
II	Rex	Fideo	<u>A. flavus</u>	7
			<u>A. clavatus</u>	1
II	Tres Estrellas	Caracol	<u>A. flavus</u>	6
			<u>A. clavatus</u>	4
II	Tres Estrellas	Letra	<u>A. flavus</u>	6
			<u>A. clavatus</u>	3
II	Tres Estrellas	Lengua	<u>A. flavus</u>	1
			<u>A. clavatus</u>	1

Muestreo I :26 de mayo 1987.

Muestreo II:7 de octubre 1987.

García y Ortiz (1985) y Pineda (1980), comentan que el control de calidad durante la fabricación de pastas para sopa es muy importante, principalmente en el paso de secado, el cual es difícil de controlar debido a factores que implican la temperatura y la humedad relativa del aire. El grado de desecación debe ser el adecuado, porque si éste es demasiado lento se desarrollan hongos y bacterias en el producto; en caso contrario las pastas se agrietan.

Cuando se hizo una visita a la fábrica de "Pastas Cora" (Naucalpan, Estado de México), se observó que en la misma sala donde se le da forma a las pastas, también se hace el secado, no hay una cámara donde regular la temperatura y humedad relativa del medio ambiente. Esto puede ser una de las causas que inicien el crecimiento de hongos sobre los productos alimenticios.

El hecho de que las pastas llamadas menudas (munición, pipirín, letra, etc.) presenten un mayor número de colonias de hongos, a diferencia de otros tipos, puede ser porque tienen la posibilidad de guardarse a granel, sin empaquetarse. La mala conservación del producto también se ha señalado como un factor que propicia el crecimiento de microorganismos.

Wiese (1977) , menciona que Aspergillus y Penicillium spp. son hongos que afectan la semilla de trigo antes y después de la cosecha, pero son más importantes a nivel de almacenamiento. Invaden el embrión disminuyendo su germinación y pueden producir toxinas. Las especies de Aspergillus más comunes durante el almacenamiento de este cereal son ; A. restrictus, A. glaucus, A. candidus, A. ochraceus y A. flavus.

Trucksess et al. (1987) aislaron noventa y cinco especies de Aspergillus y Penicillium a partir de 150 productos

alimenticios secos (empaquetados). Treinta de estos, eran pastas para sopa, de donde aislaron Penicillium islandicum, P. urticae, Aspergillus flavus, A. tamarisii y A. terreus.

Frazier y Westhoff (1978), señalan que los granos cosechados retienen parte de su flora que los contamina durante su crecimiento y ésta se presentan en los macarrones. Por otra parte, las harinas con las que se preparan contienen gran cantidad de bacterias, una de ellas, semejante a Enterobacter cloacae, produce un gas que aumenta la humedad del macarrón.

Por lo expuesto en párrafos anteriores, se puede decir que las pastas para sopa están contaminadas por hongos de almacen. Un deficiente control de calidad durante su fabricación (especialmente en el proceso de secado), la inadecuada conservación y la mala calidad de los ingredientes con las que se preparan podrían contribuir a ello.

II.- Análisis de las micotoxinas.

a) Aflatoxinas y zearalenona.

En la Tabla 5 se concentra la información del resultado del análisis de aflatoxinas y zearalenona, realizado por el método de Thomas et al. (1975). De cien muestras solamente una (1%) estuvo contaminada por aflatoxina B1 (espagueti de Cora Suprema) y en ninguna se detectó zearalenona. Se señalan además, veintiséis manchas fluorescentes cuyos Rf corresponden a metabolitos fluorescentes desconocidos.

En once de estas muestras se observaron factores de retardación de 0.34 a 0.47 en manchas fluorescentes azul y azul-verde, las cuales coinciden con estándares de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. Sin embargo, cuando se roció la placa de cromatografía con ácido sulfúrico para corroborar si eran

Tabla 5 :Aflatoxinas y metabolitos fluorescentes encontrados en pastas para sopa.

Muestreo	Marca	Figura	Número de repeticiones	Aflatoxinas y Zearalenona	Metabolitos fluorescentes	Rf
III	4 Aber	Espiral	1	-	mfd	0.37 y 0.59
III	4 Aber	Manguera	1	-	mfd	0.37
I, IV	Cora	Arroz	2	-	-	
IV, IV	Cora	Caracol	2	-	mfd	0.56 y 0.67
IV	Cora	Corona	1	-	-	
IV, V	Cora	Codo	2	-	-	
IV, V	Cora	Engrane	2	-	-	
III	Cora	Estrella	1	-	mfd	0.52
IV	Cora	Lengua	1	-	-	
II, III	Cora	Pipirín	2	-	mfd	0.58 y 0.67
III, IV	Cora	Pluma	2	-	mfd	0.54 y 0.47
IV, V	Cora	Espagueti	2	-	-	
III, III, IV, V, V	Cora Suprema	Caracol	5	-	mfd	0.50 y 0.41
III, V	Cora Suprema	Codo	2	-	mfd	0.51
IV, V	Cora Suprema	Fideo	2	-	-	
II	Cora Suprema	Pluma	1	-	-	
IV	Cora Suprema	Espagueti	1	AFB1	mfd	0.58
II, V	Gamesa	Caracol	2	-	-	
IV, V	Gamesa	Codo	2	-	-	
IV	Gamesa	Corbata	1	-	-	
V	Gamesa	Fideo	1	-	-	

Tabla 5 :Continuación.

Muestreo	Marca	Figura	Número de repeticiones	Aflatoxinas y Zearalenona	Metabolitos fluorescentes	Rf
III,IV	Gamesa	Pluma	2	-	-	
I,V	Gamsa	Espagueti	2	-	-	
IV	La Moderna	Anillo	1	-	mfd	0.40
V	La Moderna	Estrella	1	-	-	
IV	La Moderna	Fideo	1	-	-	
I,II	La Moderna	Moño	2	-	mfd	0.34
V	La Moderna	Pluma	1	-	-	
IV	La Moderna	Sol	1	-	mfd	0.42
I	La Moderna	Espagueti	1	-	-	
V	Magma	Canelones	1	-	-	
IV	Magma	Lasagna	1	-	-	
V	Magma	Lasagna/espina.	1	-	-	
III	Magma	Espagueti	1	-	-	
V	Marca Libre	Codo	1	-	mfd	0.34
II	Marca Libre	Estrella	1	-	mfd	0.36
V	Marca Libre	Espagueti	1	-	-	
I	Mayran	Codo	1	-	-	
I	Mayran	Letra	1	-	-	
I	Mayran	Munición	1	-	-	
III,III	Mayran	Rueda	2	-	-	
I	Mayran	Espagueti	1	-	-	

Tabla 5:Continuación.

Muestreo	Marca	Figura	Número de repeticiones	Aflatoxinas y Zearalenona	Metabolitos fluorescentes	Rf
V	Pastabela	Caracol	1	-	-	
IV	Pastabela	Codo	1	-	-	
IV	Pastabela	Corbata	1	-	-	
V	Pastabela	Fideo	1	-	-	
V	Pastabela	Pluma	1	-	-	
V	Pastabela	Espagueti	1	-	-	
III	Pastilandia	Ravioles	1	-	-	
I,II,III,III,III	Pastilara	Almeja	4	-	mfd	0.53
I,III	Pastilara	Fideo	2	-	mfd	0.38 y 0.52
III	Rex	Caracol	1	-	-	
III,IV,V	Rex	Codo	3	-	mfd	0.57
II,III	Rex	Engrane	2	-	mfd	0.57
II,V	Rex	Fideo	2	-	-	
II	Rex	Ojito	1	-	-	
III	Rex	Pipirín	1	-	mfd	0.58
III,III,IV,V	Rex	Espagueti	4	-	-	
V	Rex Gourmet	Lasagna/espinacas	1	-	-	
V	Rex Gourmet	Macarroni	1	-	-	
V	Rex Gourmet	Tallarín	1	-	mfd	0.36

Tabla 5 :Continuación.

Muestreo	Marca	Figura	Número de repeticiones	Aflatoxinas y zearalenona	Metabolitos fluorescentes	Rf
II	Tres Estrellas	Caracol	1	-	-	
II	Tres Estrellas	Lengua	1	-	-	
II	Tres Estrellas	Letra	1	-	-	
I	Trigoni	Macarrón	1	-	-	

I = Tienda UNAM, 26 de mayo 1987.

II = Aurrerá Taxqueña, 7 de octubre 1987

III = Aurrerá Periférico, 29 de enero 1988.

IV = Aurrerá Periférico, 29 de enero 1988.

V = Aurrerá Periférico, 16 de febrero 1988.

AFB1 = Aflatoxina B1.

mfd = Metabolito fluorescente desconocido.

Rf = Factor de retardación.

aflatoxina, el color de la mancha fluorescente no cambió a amarillo, como debería ocurrir, sino que desapareció.

Otras quince muestras irradiaron una fluorescencia azul bajo la luz ultravioleta, con factores de retardación de 0.50 a 0.67. Estos son mayores a los que se observan en estándares de aflatoxinas, pero menores al estándar de zearalenona (arriba de 0.75). Las manchas también desaparecieron cuando se les aplicó ácido sulfúrico. Según Stoloff et al. (1971), por las características de estas manchas fluorescentes, podrían corresponder a algún tipo de ocratoxina.

De estos resultados se puede concluir que las pastas para sopa no están contaminadas por zearalenona, pero sí un 1 % tienen aflatoxina B1. También puede ser, que su cantidad es demasiado pequeña para ser detectada por el método de extracción empleado en este trabajo.

Shotwell et al. (1976 y 1977), analizaron 950 muestras de diferentes tipos de trigo, 19 contenían zearalenona y 11 ocratoxina A: no hubo muestras positivas con aflatoxinas, indicando que aparentemente el trigo no es afectado por estas toxinas durante la cosecha. Sin embargo, nuestra investigación muestra que posiblemente el trigo y las pastas subsecuentes sí fueron afectadas por Aspergillus flavus en almacén.

Mirocha y Christensen (1983), indican que la contaminación de aflatoxinas en granos de cereal, se presenta principalmente en el campo, antes de la cosecha. Como se ha sugerido, posiblemente la micoflora presente en macarrones es de almacén. En experimentos de laboratorio, una cepa de hongo no puede producir toxinas (aún si las condiciones de humedad, temperatura y tiempo son favorables) cuando están presentes otros tipos de hongos, además de que no todas las cepas en condiciones óptimas pueden producir aflatoxinas. Lo expuesto anteriormente puede ayudarnos a comprender por qué el porcentaje de aflatoxinas encontrado fue muy bajo.

Cuando Trucksess et al. (1987), analizaron las muestras de macarrones no detectaron ninguna clase de aflatoxinas. Nuestros datos coinciden con este trabajo, ya que solamente un 1% estuvo contaminada.

Chelkowski et al. (1983), en un trabajo hecho en Polonia, señalan que 0.5 % de 584 muestras de cereales estaba contaminadas por zearalenona; sin embargo, Lee et al. (1985) encontraron un porcentaje muy alto de zearalenona en cereales coreanos. Nuestros resultados en México coinciden con Chelkowski et al. (1983), ya que no se detectó zearalenona no obstante que la técnica que se usó es específica para zearalenona.

Tanaka et al. (1985), analizaron productos alimenticios, uno de ellos fue harina de trigo: tres de veintisiete muestras presentaron zearalenona. Ellos sugieren que la zearalenona en los granos de cereal, puede ser descontaminada durante el procesamiento del alimento, debido a que su contenido en harinas y otros productos es relativamente bajo.

Podemos decir entonces, que aún cuando en las pastas para sopa hubo una gran cantidad de colonias de Aspergillus flavus, esto no implicó que se produjeran aflatoxinas, como el presente trabajo lo demostró, ya que su cantidad fue mínima. Además, como ya se ha mencionado, el trigo no es afectado frecuentemente por aflatoxinas y esto repercute finalmente en productos ya elaborados. Sin embargo, la zearalenona sí se ha reportado en trigo, pero al ser detectada, su cantidad disminuye considerablemente al procesarse los alimentos, esto puede indicarnos por qué no se detectó en ninguna muestra de pasta para sopa.

b) Tricotecenos.

Respecto al análisis de los tricotecenos hecho por el método de Romer (1986), de veinte grupos muestrales que se hicieron de las cien muestras de pasta para sopa, tres resultaron positivos con tricotecenos tipo A y ninguno con tricotecenos tipo B (Tabla 6).

Los grupos de muestra número siete y dieciseis presentaron una mancha fluorescente café rosácea, el primero con un Rf de 0.27 y el segundo con 0.25. El estándar de DAS también presentó la misma coloración, con un Rf de 0.26, por esta razón los grupos mencionados se reportaron como positivos.

El grupo de muestra número trece, fue el único que coincidió con las características de la toxina T-2. En ambos se observó una fluorescencia rosa-grisácea, con un Rf de 0.31 para el grupo y 0.30 para el estándar.

Sin embargo, el DON no se detectó en ninguna de las muestras, cuando se examinaron en la placa de cromatografía. El estándar de DON fluoresció en color azul luminoso, con un Rf de 0.65.

Cuando se hicieron los análisis individuales de cada una de los tres grupos muestrales positivos, se observó (Tabla 7) que cinco muestras estaban contaminadas con diacetoxiscirpenol (una de anillo, Mayran; una de fideo, Cora Suprema; tres de caracol, Cora Suprema) y una con toxina T-2 (fideo, La Moderna). Nuevamente, las manchas fluorescentes de las muestras se compararon con la de los estándares, para poder considerarlas como positivas.

El procedimiento seguido en esta parte experimental, respecto a analizar las muestras en grupo y después individualmente, ahorró tiempo y cantidad de reactivos. Esto es importan

Tabla 6: Tricotecenos encontrados en veinte grupos muestrales de pastas para sopa.

Grupos de muestras*	Tipo A			Tipo B
	DAS	T-2	Rf	DON
1	-	-		-
2	-	-		-
3	-	-		-
4	-	-		-
5	-	-		-
6	-	-		-
7	+	-	0.27	-
8	-	-		-
9	-	-		-
10	-	-		-
11	-	-		-
12	-	-		-
13	-	+	0.31	-
14	-	-		-
15	-	-		-
16	+	-	0.25	-
17	-	-		-
18	-	-		-
19	-	-		-
20	-	-		-

DAS Diacetoxiscirpenol con Rf del estándar de 0.26

T-2 Toxina-2 con Rf del estándar de 0.30

DON Deoxinivalenol con Rf del estándar de 0.65

* Cada grupo de muestra representa 5 muestras diferentes de 10 gramos cada una, se extrajeron las 5 muestras simultáneamente (50 g).

Tabla 7: Tricotecenos Tipo A encontrados en pastas para sopa.

Grupo de muestras	Número de muestra	Marca de pasta	Figura	DAS	T-2
7	31	Magma	Espagueti	-	-
	32	Mayran	Anillo	+	-
	33	Pastilara	Fideo	-	-
	34	Pastilara	Almeja	-	-
	35	Cora Suprema	Caracol	+	-
13	61	La Moderna	Rueda	-	-
	62	La Moderna	Fideo	-	+
	63	La Moderna	Sol	-	-
	64	La Moderna	Tallarín	-	-
	65	Magma	Lasagna	-	-
16	76	Marca Libre	Codo	-	-
	77	Cora Suprema	Caracol	+	-
	78	Cora Suprema	Espagueti	-	-
	79	Cora Suprema	Fideo	+	-
	80	Cora Suprema	Caracol	+	-

- Negativo

+ Positivo

te, porque en trabajos posteriores se podría incrementar el número de muestras a realizar, haciendo más significativo un estudio.

Las toxinas de DAS y T-2 son producidas por Fusarium sp . Éste causa la enfermedad de la roña en granos de trigo , se reconoce por la aparición de una o más espiguillas afectadas prematuramente por tizón después de la floración, en donde las masas de conidios se acumulan en la base de las espiguillas (Zillinsky, 1984). De acuerdo con Prescott et al. (1986), el grano cosechado que tenga más del 5% de granos infectados puede tener toxina suficiente para ser nocivo para el hombre y animales.

Algunas especies de Fusarium que se han reportado en granos de trigo (Wiese, 1977; Chelkowski et al. 1984 ; Manka et al. 1985) y además como productores de DAS y T-2 (Marasas et al. 1984) son Fusarium culmorum, F. graminearum, F. sporotrichioides y F. acuminatum .

De acuerdo con Young et al. (1984), Lee et al. (1985), Tanaka et al. (1985), Abbas et al. (1985), Seitz et al. (1986), el trigo presenta una contaminación muy alta de nivalenol y deoxinivalenol, los cuales pueden ser distribuidos durante la fabricación de productos finales tales como las harinas de trigo, salvado, pan y otros, aunque sus concentraciones son menores, y en algunos casos pueden desaparecer por completo, cuando los granos son refinados. Sin embargo, en el presente trabajo, no hubo muestras positivas con deoxinivalenol y tampoco hubo indicios de otros tipos de tricotecenos tipo B.

Tenemos entonces que especies de Fusarium productores de tricotecenos atacan la semilla de trigo antes de la cosecha, y aún cuando éste es procesado en diversos productos alimenticios, pueden presentarse en cantidades menores. En las pastas para sopa, los tricotecenos que se detectaron con más frecuencia fueron el diacetoxiscirpenol (5%) y la toxina T-2 (1%).

En la Tabla 8 ,se presenta un cuadro final donde se resumen las micotoxinas detectadas en cien muestras de pastas para sopa,7% estuvo contaminada por aflatoxina B1,toxina T-2 y diacetoxiscirpenol.La marca que tuvo mayor número de muestras contaminadas fue Cora Suprema.

Esto nos indica que las pastas para sopa,aún cuando presentan hongos productores de aflatoxinas,están contaminadas en un porcentaje importante por tricotecenos,especialmente por diacetoxiscirpenol,que es producido por Fusarium , un hongo de campo.

Si en México la producción anual de pastas para sopa fue de 155,219 toneladas durante 1987,podemos decir,si extrapolamos los datos a partir de cien muestras que 1552.19 toneladas estuvieron contaminadas por aflatoxina B1,1552.19 toneladas por toxina T-2 y 7760.95 toneladas por diacetoxiscirpenol.

Esto es importante,porque los alimentos contaminados pueden alterar nuestra salud.El diacetoxiscirpenol,por ejemplo tiene efectos tóxicos en humanos,como vómito,naúsea , mielosupresión,hipotensión,diarrea,disturbios en sistema nervioso central, fiebre y escalofrío;síntomas menos frecuentes son,estomatitis,eritema y pérdida de pelo.La toxina T-2 también se ha reportado en humanos,como un severo irritante de la piel que requiere un prolongado tratamiento dermatológico (Committee on Protec. Against Mycotox.,1983).

Schoental (1977 a y b),señala que en ratas,la toxina T-2 induce ulceración del tracto digestivo y otras lesiones similares,así como adenocarcinomas gastrointestinales , lesiones cardiovasculares y tumores en el cerebro cuando se aplican dosis durante mucho tiempo.

Weaver et al. (1978) reportaron un caso de problemas de fertilidad en cerdas y Chi et al. (1977),señalan lesio -

Tabla 8 :Micotoxinas encontradas en pastas para sopa.

Marcas de pasta	Número de muestras	Aflatoxinas	Zearalenona	Tricotecenos
4 Aber	2	-	-	-
Cora	18	-	-	-
Cora Suprema	14	B1 (1)	-	T-2 (1) DAS (3)
Gamesa	10	-	-	-
La Moderna	10	-	-	DAS (1)
Magma	4	-	-	-
Marca Libre	3	-	-	-
Mayran	6	-	-	DAS (1)
Pastabela	6	-	-	-
Pastilandia	1	-	-	-
Pastilara	6	-	-	-
Rex	14	-	-	-
Rex Gourmet	3	-	-	-
Tres Estrellas	3	-	-	-
Trigonni	1	-	-	-
Total	100	Aflatoxinas 1	-	T-2 =1 DAS =5

- No detectado

Entre paréntesis número de muestras positivas.

nes orales en pollos, sin síntomas clínicos cuando se les aplicó toxina T- 2.

Por lo tanto, en este estudio se demostró que la micoflora presente en las pastas de sopa es de hongos de almacen, pero las micotoxinas son producidas principalmente por hongos de campo como Fusarium que aunque desapareció, sus toxinas que son termoestables continuaron en el producto derivado del trigo.

Dados los síntomas que se presentan con la aflatoxina B1 y con los tricotecenos, es de suma importancia detectar a las micotoxinas como posibles causantes de enfermedades en el mexicano. La cantidad de DAS encontrado es muy alto y hay que hacer un llamado a los órganos oficiales para que tengan presente el peligro y puedan establecer un control sanitario adecuado.

La cantidad de aflatoxina B1 , aunque baja debería ser cero ya que esta toxina es el cancerígeno de origen biológico más peligroso que se conoce. Sin embargo , el riesgo está en la ingestión de los tricotecenos ya que es lo que más se presentó en pastas para sopa .

Este trabajo se enfocó principalmente al análisis de micotoxinas en pastas para sopa: se sugiere en un trabajo posterior , que el número de marcas y figuras muestreadas sean iguales para poder hacer una comparación entre ellas.

Respecto a la micoflora presente en estos productos , un análisis de los ingredientes de los cuales están hechos y un mayor número de muestras sería muy útil para conocer más sobre este tema.

CONCLUSIONES

- 1.- Las pastas para sopa presentan una gran cantidad de colonias de Aspergillus flavus y A. clavatus, cuando se siembran en medio de cultivo papa-dextrosa-agar.
- 2.- El porcentaje de contaminación por aflatoxinas en pastas para sopa en supermercados del Distrito Federal fue de 1%.
- 3.- No se detectó zearalenona en pastas para sopa en supermercados del Distrito Federal.
- 4.- Las pastas para sopa están contaminadas por tricotece nos, principalmente por diacetoxiscirpenol (5%) y toxina T-2 (1%).
- 5.- Las micotoxinas detectadas en los macarrones son el resultado de la contaminación que presenta el trigo a nivel de campo, las cuales son transmitidas a sus derivados.

LITERATURA CITADA

- Abbas, H.L., Mirocha, C.J., Pawlosky, R.J. and D.J. Pusch. 1985. Effect of cleaning, milling and baking on deoxynivalenol in wheat. Appl. Environ. Microbiol. 50(2) : 482-486.
- Bárceñas, E. 1988. Relación del hongo Fusarium spp. con la leucoencefalomalacia y edemá cerebral de equinos. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México, D.F. 105 pp.
- Barnett, H.L. and B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Co., Minneapolis. 229 pp.
- Bermejo, A. 1987. Las pastas al dente. Mía. 25 : 32-37.
- Campos, L. 1987. Estudio comparativo de tres métodos de extracción de zearalenona, micotoxina producida por Fusarium spp. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México, D.F. 57 pp.
- Campos-Nieto, E. y E. Robledo. 1979. Los estudios sobre las aflatoxicosis animales en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 13 : 243-252.
- Chelkowski, J., Golinski, P., Manka, M., Trojanowska, K., Wiewiorska, M. and K. Szebiotko. 1983. Mycotoxins in cereal grain. Part IX. Zearalenone and Fusaria in wheat, barley, rye and corn kernels. Die Nahrung 27 (26) : 525-531.
- Chelkowski, J., Visconti, A. and M. Manka. 1984. Production of trichothecenes and zearalenone by Fusarium species isolated from wheat. Die Nahrung. 28 (5) : 493-496.
- Chi, M.S., Mirocha, C.J., Kurtz, H.J., Weaver, G., Bates, F. and W. Shimoda. 1977. Subacute toxicity of T-2 toxin in broiler chicks. Poultry Sci. 56 (1) : 306-312.

- Chipley, J.R., and N. Vraitt. 1980. Inhibition of Aspergillus growth and aflatoxin release by derivatives of benzoic acid. Appl. Environ. Microbiol. 40 : 352-357.
- Committee on Protection Against Mycotoxins, Board on toxicology and environmental health hazard, Commission on life sciences, National Research Council. 1983. Protection against trichothecene mycotoxins. Chap. 6: Responses of biological systems. National Academy Press. Washington. pp 95-99.
- Dutton, M.L. and K. Westlake. 1985. Mycotoxins found in supermarket foods. Journal of Dietetics and Home Economics 13 (3): 96-99.
- Eppley, R.M. 1979. Trichothecenes and their analysis. J. Am. Oil Chem. Soc. 56:824-829.
- Estrada, M.L. 1986. Utilización de la espirulina en la elaboración de pastas alimenticias. Tesis de Licenciatura de Químico-farmacobiólogo. Facultad de Química, U.N.A.M. México, D.F. 89 pp.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1978. Food Microbiology. McGraw-Hill. New Delhi. 540 pp.
- García, B.L. y P. Ortiz. 1985. Técnica para la elaboración de pastas alimenticias. Tesis de Licenciatura de Químico-farmacobiólogo. Facultad de Química, U.N.A.M. México, D. F. 135 pp.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1987. Encuesta Industrial Mensual de diciembre. Secretaría de Programación y Presupuesto. México. 66 pp.
- Lee, U., Jang, H., Tanaka, T., Hasegawa, A., Oh, Y. and Y. Ueno. 1985. The coexistence of the Fusarium mycotoxins cereals harvested in 1983. Food Additives and Contaminants 2(5) :185-192.
- López, G. 1984. Manejo de hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 135 pp.

- Manka, M., Visconti, A., Chelkowski, J. and A. Bottalico .1985. Pathogenicity of Fusarium isolated from wheat, rye and triticale towards seedlings and their ability to produce trichothecenes and zearalenone. Phytopath. Z. 113:24-29.
- Marasas, W.F., Nelson, P.E. and T.A. Toussoun. 1984. Toxigenic Fusarium species. Pennsylvania State University Press. U.S.A. 328 pp.
- Mirocha, C.J. and C.M. Christensen. 1983. Mycotoxins. Chap. 8: Storage of cereal grains and their products. Academic Press. U.S.A. 241-280.
- Mirocha, C.J. and S.V. Pathre. 1979. Mycotoxins. Their biosynthesis in fungi: Zearalenone biosynthesis. J. Food Proct. 42 (10) :821-824.
- Müller, T. 1987. Nachweis von T-2 Toxin und Diacetoxyscirpenol in Grobfutterstoffen durch einen Hauttest an Meerschweinchen. Mh. Vet.-Med. 42 :217-219.
- Müller, T. und P. Lepon. 1985. Nachweis von T-2 Toxin und Diacetoxyscirpenol in Grobfutterstoffen mit Salinenkrebslarven (Artemia salina L.). Mh. Vct.-Med. 40 :486-489.
- Pathre, S. V. and C.J. Mirocha. 1979. Trichothecenes: Natural occurrence and potential hazard. J. Am. Oil Chem. Soc. 56 : 820-825.
- Pereda, P. 1987. Estudio analítico de tres técnicas de recuperación de aflatoxina B1. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México, D.F. 91 pp.
- Pereda, P., Carvajal, M. y L. Campos. 1988. Estudio analítico de tres técnicas de purificación en aflatoxina B1. Rev. Lat.-amer. Microbiol. (En prensa).

- Pineda, L. 1980. Control de calidad de las pastas alimenticias. Tesis de Licenciatura de Químico farmacobiólogo. Facultad de Química, U.N.A.M. México, D.F. 51 pp.
- Prescott, J.M., Burtnett, P.A., Saari, E.E., Ramsom, J., Bowman, J., Milliano, M., Singh, R.P. and G. Bekele. 1986. Enfermedades y plagas del trigo: una guía para su identificación en el campo. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). México. 135 pp.
- Raper, K.B. and D.I. Fennell. 1965. The genus Aspergillus. Williams & Wilkins Co. Baltimore. 655 pp.
- Romer, T. 1986. Use of small charcoal/alumina cleanup columns in determination of trichothecene mycotoxins in food and feeds. J. Assoc. Oil Anal. Chem. 69 : 699-703.
- Schoental, R. 1977 a. The role of nicotinamide and of certain other modifying factors in diethylnitrosamine carcinogenesis. Cancer 40(4):1833-1840.
- Schoental, R. 1977 b. Health hazards due to T-2 toxins. Vet. Rec. 101 (23) : 659-664.
- Seitz, L.M., Eustace, W.D., Mohr, H.E., Shogren, M.D. and W. T. Yamazaki. 1986. Cleaning, milling and baking test with hard red winter wheat containing deoxynivalenol. Cereal Chem. 63 (2) : 146-150.
- Shotwell, O.L., Goulden, M.L., Bennett, G.A., Plattner, R.D. and C.W. Hesseltine. 1977. Survey of 1975 wheat and soybeans for aflatoxin, zearalenone and ochratoxin. J. Assoc. Oil Anal. Chem. 60 (4) : 778-783.
- Shotwell, O.L., Goulden, M. and C.W. Hesseltine. 1976. Survey of U.S. wheat for ochratoxin and aflatoxin. J. Assoc. Oil Anal. Chem. 59 (1) : 122-124.

- Stack, M.E. and A.E. Poshland .1975. Collaborative study of a method for chemical confirmation of the identity of aflatoxin. J. Assoc. Oil Anal Chem. 58(1) :110-113.
- Stoloff, L., Nesheim, S., Yin, L., Rodricks, J., Stack, M. and A. Campbell. 1971. A multimycotoxin detection method for aflatoxins, zearalenone, sterigmatocystin and patulin. J. Assoc. Oil Anal. Chem. 54 (1) :91-97.
- Tanaka, T., Hasegawa, A., Matsuki, Y. and Y. Ueno. 1985. A survey of the occurrence of nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone in foodstuffs and foods in Japan. Food Additives and Contaminants. 2(4) :259-265.
- Thomas, F., Eppley, R.M. and M. Trucksess. 1975. Rapid screening method for aflatoxins and zearalenone in corn. J. Assoc. Anal. Chem. 58 (1) :114-116.
- Trucksess, M., Mislivec, P., Young, U., Bruce, R. and S. Page. 1987. Cyclopiazonic acid production by cultures of Aspergillus and Penicillium species isolated from dried beans, corn meal, macarroni and pecans. J. Assoc. Oil Anal. Chem. 70(1): 123-126.
- Weaver, G. A., Kurtz, H.J., Mirocha, C.J., Bates, F.Y., Behrens, J.C. and T.S. Robison. 1978. Effect of T-2 toxin on porcine reproduction. Canad. Veter. J. 19 (11):310-314.
- Wiese, M. V. 1977. Compendium of wheat diseases. The American Phytopathological Society. U.S.A. 106 pp.
- Wyllie, T.D. and L. Morehouse. 1978. Mycotoxic fungi, mycotoxins: An encyclopedic handbook. Vol. 3. Marcel Dekker. New York. 202 pp.
- Yoshizawa, T., Swanson, S.P. and C.J. Mirocha. 1980. In vitro metabolism of T-2 toxin in rats. Appl. Environ. Microbiol. 40(5) :901-906.

- Young, J.C., Fulcher, R.G., Hayhoe, J.H., Scott, P.M. and J.C. Dexter. 1984. Effect of milling and baking on deoxynivalenol (vomitoxin) content of eastern canadian wheats. J. Agric. Food Chem. 32(3) :659-664.
- Zilinsky, F.J. 1984. Enfermedades comunes de los cereales de grano pequeño: Una guía para su identificación. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). México. 141 pp.