



2 y 205
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**MICOTOXINAS EN MASA DE MAIZ
EN EL DISTRITO FEDERAL:
DELEGACION DE TLALPAN**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

Laura del Carmen Sánchez Esquivel

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

I N D I C E

INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y MÉTODOS	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA CITADA	33

INTRODUCCIÓN

Las plantas alimenticias tienen gran importancia para la humanidad, pues casi todos los elementos importantes en la dieta del ser humano los obtiene de ellas, o bien de los derivados de los animales que a su vez son alimentados con las primeras; dentro del grupo de plantas alimenticias, encontramos a los cereales, los cuales son granos obtenidos de especies de gramíneas cultivadas (Cronquist, 1971).

En el mundo existen diversos tipos de cereales, pero uno de los más importantes, desde que fue descubierto en América, es el maíz ya que sus numerosas variedades se han adaptado a muy diversas condiciones climatológicas. Cabe señalar que el maíz es un cereal que ha existido desde los tiempos más remotos en México y por siglos ha sido el alimento básico de esta nación, por lo cual su cultivo es casi obligado (Hernández, 1971).

Una de las maneras más comunes en la que el maíz es consumido en la República Mexicana, es en forma de tortillas: este nombre es dado a una pequeña porción de masa de este cereal, extendida con la palma de las manos o con una pequeña prensa, en forma de disco suave y delgado que se cuece en un comal, que es una lámina metálica calentada a fuego directo. Cabe aclarar que para obtener dicha masa, el maíz es sometido a un --

proceso llamado nixtamalización, el cual consiste en mezclar el maíz con el doble de su peso en agua, agregando cal en una proporción entre 1.5 y 3.5% con relación al peso del maíz; esta mezcla es calentada a 80°C por un lapso de 25 a 45 minutos dependiendo de la fuente de calor.

Enseguida, el grano se deja reposar por un espacio de 12 a 15 horas, después se separa del líquido de cocción o nejayote y se lava con agua para eliminar el exceso de cal. El nixtamal así obtenido, es molido en molinos de piedra o metal transformándose en masa (Illescas, 1943).

Debido a la naturaleza de las regiones agrícolas en las cuales el maíz es cultivado, éste puede ser atacado por diversos microorganismos, entre éstos están los hongos. Con relación al grano en el campo, la mazorca sufre las llamadas pudriciones inducidas por diversos géneros de hongos - entre los más importantes, se destacan varias especies de Fusarium, las cuales han sido muy comúnmente encontradas en granos de maíz recién cosechados (Christensen, 1975). El grano de maíz también es susceptible de ser invadido por los hongos a partir de la cosecha, durante el transporte y en los lugares donde se almacena o donde se procesa, esto es en parte, debido a las deficiencias que pueden presentarse en cuanto al control de las condiciones de almacenamiento, principalmente de temperatura o humedad dentro del almacén y además a la fácil y rápida propagación de los hongos cuando éstos se encuentran presentes

y las condiciones favorecen su desarrollo.

Entre los hongos que se han encontrado como invasores del grano durante su almacenamiento podemos destacar a los géneros Aspergillus y Penicillium, los cuales son causantes de grandes pérdidas económicas en México al biodeteriorar los granos; además, una característica muy importante de estos géneros, es que algunos aislamientos de algunas de sus especies tienen la capacidad de producir, como parte de su metabolismo, sustancias químicas que han sido tóxicas para los animales que consumen estos granos, por lo que representan un riesgo sanitario potencial.

A las sustancias químicas tóxicas producidas por los hongos se les ha llamado micotoxinas, éstas al ser ingeridas por los animales e incluso el hombre pueden causar diversos trastornos a los que se ha dado el nombre de micotoxicosis (Christensen, 1975).

Ya antes del año 1900, algunos investigadores habían postulado una relación de causa y efecto entre el consumo de maíz enmohecido y el desarrollo de enfermedades en algunos animales (Christensen, 1975), pero no fue sino hasta el año de 1960 en que se dió un cambio en la actitud general hacia las micotoxinas, ya que el reporte de la muerte de 100,000 pavos en Inglaterra atribuida a una enfermedad llamada "X" (Blount, -

1961), y la severa pérdida de patos en Kenia (Sargent y Carnaghan, 1963), fueron los incidentes principales de una serie de - eventos que establecieron la relación de la toxicidad de ciertos alimentos con un grupo de compuestos fluorescentes que podían ser extraídos de aquellos y la capacidad del hongo Aspergillus flavus para producirlos, además de que estos compuestos provocaban cáncer en el hígado (Lancaster et al, 1961; Dickens y Jones, 1963), lo cual estimuló más el estudio de dichos compuestos a - los que se dió el nombre de aflatoxinas (Stoloff, 1976).

El problema de las micotoxinas no es esporádico o local, ni está restringido a ciertas comunidades o regiones, aunque es de tomarse en cuenta que los factores que influyen para que un hongo pueda producir micotoxinas, no actúan solos, sino en forma múltiple, es decir, la cantidad de inóculo presente, la temperatura, la humedad, el sustrato, las condiciones físicas del sustrato y el crecimiento de otros microorganismos deben ser adecuados y estar en un perfecto balance para que el hongo productor las sintetice (Nesseltine, 1976): entonces, - al detectar en una semilla la presencia de una cepa que sea capaz de producir toxinas no necesariamente implica la existencia de éstas ya que para ello se necesitan condiciones ambientales restringidas.

Por otra parte para poder determinar si un grano se encuentra contaminado con alguna micotoxina debe tomar

se en cuenta que dentro de una misma semilla la distribución de ésta puede variar, pudiendo ser diferente tanto en la superficie como en el interior (Lees et al., 1967; Shotwell et al., 1974). En una inspección realizada con semillas de un lote aparentemente sano, se detectaron diferentes cantidades de micotoxinas, a pesar de que la mayoría de las semillas en las muestras no estaban contaminadas (Cucullu et al., 1966); debido a lo anterior solamente por medio de un análisis químico de las semillas se puede determinar con exactitud la presencia de una toxina en un lote de granos que sea sospechoso.

Es importante destacar que entre las micotoxinas más estudiadas se encuentran las que han sido reportadas como contaminantes de alimentos en forma natural (Christensen, 1975).

Entre las micotoxinas que han sido encontradas como contaminantes naturales podemos citar:

AFLATOXINAS: De las micotoxinas conocidas, ésta es la más importante desde el punto de vista de que es un peligro directo para la salud humana (Scott, 1973 en Davis y Diener, 1978). Es importante señalar que de las aflatoxinas encontradas en semillas almacenadas, la que se ha detectado con mayor frecuencia en forma natural es la B_1 ; las especies productoras de éstas son Aspergillus flavus y A. parasiticus; A. flavus

generalmente solo produce aflatoxina B₁ y A. parasiticus produce generalmente aflatoxinas B y G (Davis y Diener, 1978).

Dentro de la importancia toxicológica de -- las aflatoxinas podemos decir que son mutágenas, cancerígenas y muy tóxicas para la mayoría de los animales domésticos y experimentales y para el hombre. El órgano al que principalmente -- afectan es el hígado, pero esto no excluye el que puedan afectar otros (Butler, 1969).

OCRATOXINAS: Estas micotoxinas también son metabolitos tóxicos del género Aspergillus: fueron descubiertas por Vender Merwe, et al (1965 A. B.), cuyos trabajos demostraron que afectan a patos, ratones y ratas. Estas toxinas han -- recibido mucha atención, en cuanto a su estudio, desde que fueron encontradas como contaminantes naturales en gran variedad -- de productos alimenticios (Steyn, 1971).

Los principales productores de esta toxina -- son las especies Aspergillus ochraceus y Penicillium viridicatum, de las cuales la primera ha sido muy comúnmente encontrada en -- granos de maíz en comunidades agrícolas de Estados Unidos (Davis y Diener, 1978).

La toxicidad de este metabolito varía dependiendo de la cantidad que se ingiera y de la especie que lo ingiera, pero afectan principalmente el riñón, causando necrosis

en los túbulos renales; también pueden afectar el hígado al provocar la infiltración de tejido graso, y el bazo alterando así la producción de leucocitos.

ZEARALENONA: Es un metabolito que funciona químicamente más como una hormona que como una toxina directa, ya que causa serios desórdenes estrogénicos en varios animales (Davis y Diener, 1978). Esta toxina es producida por las especies Fusarium graminearum (estado imperfecto de Giberella zeae) (Ichinos y Kurata, 1983), F. triticum, F. oxysporum, F. culmorum y F. moniliforme; provoca desórdenes hormonales a los que se conoce como síndrome estrogénico en cerdos, ratas, ratones y cuyos efectos de este síndrome en cerdos son más pronunciados, --- pues en las hembras provoca vulvovaginitis y en los machos causan agrandamiento de las glándulas mamarias e infertilidad en --- ambos sexos (Christensen, 1975; Davis y Diener, 1978).

De manera general se ha reportado que todas las micotoxinas son productos metabólicos muy estables, y no -- pueden ser eliminados fácilmente cuando son detectados en los -- cereales, por lo que representan un problema sanitario en potencia que no se puede dejar pasar por alto; el proceso de esterilización a base de cocimiento que es comúnmente utilizado, no -- es suficiente para destruirlos, por lo que se han desarrollado varios métodos con los cuales se ha pretendido destruir o bien desnaturalizar algunas de las micotoxinas sin que para ello se alteren las propiedades nutritivas o físicas de los alimentos,

puesto que ésto implicaría pérdidas económicas al bajar la calidad del producto (Beckwith et al., 1976).

Para las aflatoxinas se ha propuesto varios métodos de desactivación en los que, por lo menos parcialmente ésta ha sido lograda; dentro de estos procesos están la amoniación, uso de ácidos, de álcalis y de calor húmedo. De estos tratamientos, el que más éxito ha tenido es la amoniación, ya que con éste se han podido reducir cantidades de hasta 100 ppb a trazas (Goldblatt, 1971); no obstante el problema que se ha tenido que enfrentar, es que los alimentos conservan el olor desagradable del amoníaco, además de que económicamente es muy costoso (Chakrabarti, 1981).

El uso de ácidos no ha tenido mucho éxito: éstos no destruyen completamente a las aflatoxinas, solo se disminuye su actividad, ya que únicamente transforman aflatoxina B₁ en aflatoxina B₂ (Goldblatt y Dollear, 1977).

El tratamiento con álcalis es más económico y mediante éste se desactiva parcialmente a las aflatoxinas, debido a que éstas presentan en su estructura un anillo lactona, que se abre al reaccionar con una base (álcali) para dar una sal de cadena abierta (Goldblatt, 1966; Goldblatt y Dollear, 1977); aunque, cabe aclarar que estudios posteriores han demostrado que una acidificación en el medio, puede causar una nueva formación de la toxina al cerrarse el anillo de la lactona que

había sido abierto (Goldblatt y Dollear, 1977).

Con calor húmedo se ha podido reducir hasta un 80% de la contaminación inicial de aflatoxinas, después de tratamiento de dos horas a una temperatura de 100°C con un 20% de humedad (Goldblatt, 1966).

Es importante recordar que el proceso de la nixtamalización, implica el remojo del maíz en agua de cal y calor húmedo y que ambos métodos han sido reportados para inactivar o reducir considerablemente los niveles de aflatoxinas en el producto final (Stoloff, 1979). Esta idea ha sido sustentada con el reporte de un decremento de 74% de aflatoxinas durante la nixtamalización de maíz blanco que había sido inoculado con aflatoxinas (Ulloa-Sosa y Shroeder, 1969).

El objetivo del presente trabajo, es el realizar una inspección en la masa del maíz que se utiliza para la elaboración de tortillas en la Delegación de Tlalpan, D. F. para conocer el nivel del problema si es que existe. Con base en las inspecciones previamente realizadas y sabiendo que el proceso de la manufacturación de la masa implica la nixtamalización, esperamos encontrar que la masa de maíz esté libre o sólo presente niveles de contaminación con aflatoxinas muy bajas, ya que la posibilidad de que en diversos canales comerciales puedan detectarse lotes de maíz contaminados es muy factible, como lo sustentan trabajos previamente realizados (García-Aguirre y Martínez-Flores 1985).

También es parte de nuestro propósito, el -
inspeccionar y conocer la situación de la masa con respecto a -
zearalenona y ocratoxinas, ya que han sido encontradas como con-
taminantes del maíz en forma natural (Shotwell, 1977; Shotwell,
et al., 1970, 1971, 1975; Romer, 1984) por lo que existe la po-
sibilidad de que se encuentren presentes, pues en un trabajo si
multáneo realizado en los molinos de las Delegaciones Benito --
Juárez y Coyoacán, se ha reportado la presencia de estas dos --
toxinas, aunque en niveles muy bajos y de manera escasa con res
pecto al número de muestras analizadas (Caballero, 1988).

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- MUESTREO.

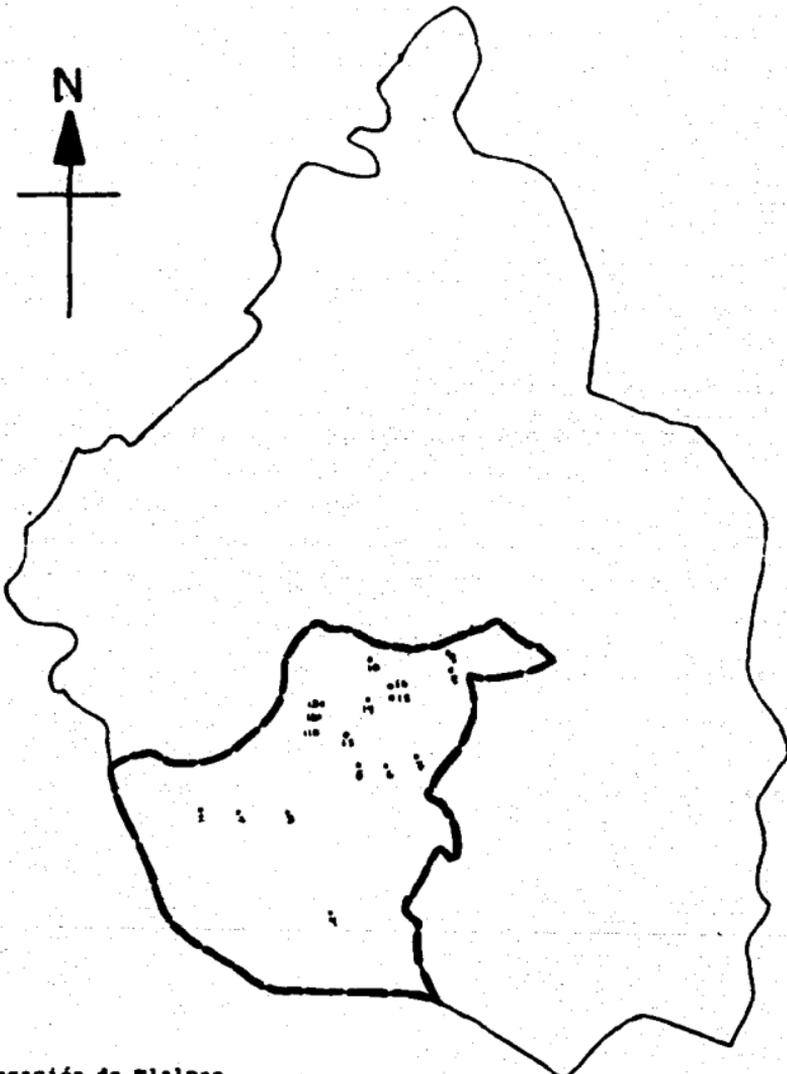
Se llevó a cabo en la Delegación Tlalpan en el Distrito Federal. Se sabe que en esta Delegación existen todavía zonas rurales y es de esperarse que sus molinos sean proveídos de maíz por los productores locales; sin embargo, el estudio preliminar demostró que la mayoría de los molinos de masa para tortillas, reciben el mismo tipo de maíz ya que son abastecidos por la Compañía Nacional de Subsistencias Populares --- (CONASUPO). Con base en la información teórica de la situación del maíz en el Distrito Federal y en el número de molinos registrados por la Dependencia Gubernamental de esta Delegación, hasta el momento de la realización de este trabajo, la selección de molinos se realizó de manera sesgada en función de una ruta accesible y que recorre dicha Delegación.

Dentro de la ruta de accesibilidad fueron -- seleccionados 17 molinos de los cuales uno estaba abastecido -- con el maíz cultivado por el mismo propietario y los 16 restantes eran subsidiados por CONASUPO. La localización de los molinos dentro de la Delegación de Tlalpan se muestra en el mapa 1, y es la siguiente:

1.- Santo Tomás Ajusco.

MAPA: 1

Mapa del Distrito Federal en donde se indica la localización de los molinos muestreados dentro de la Delegación Tlalpan.



 Delegación de Tlalpan.

Mos. Indican los molinos muestreados.

- 2.- San Miguel Ajusco.
- 3.- Magdalena Petlacalco.
- 4.- San Miguel Topilejo.
- 5.- San Pedro Mártir.
- 6.- San Pedro Mártir.
- 7.- San Pedro Mártir.
- 8.- San Lorenzo Huipulco.
- 9.- San Lorenzo Huipulco.
- 10.- Avenida San Fernando.
- 11.- Col. Miguel Hidalgo.
- 12.- Col. Miguel Hidalgo.
- 13.- Col. Miguel Hidalgo.
- 14.- San Marcos.
- 15.- Congreso.
- 16.- Plaza de la Constitución.
- 17.- Tlalcoligia Yaquis.

En cada molino seleccionado fueron colectadas muestras de 1 Kg de masa de maíz para tortillas, las cuales se transportaron al laboratorio para su preparación y posterior análisis.

El tiempo total de muestreo fue de un año, a lo largo del mismo se colectaron un total de 255 muestras; la frecuencia de muestreo fue quincenal, sin embargo, ésta a veces estuvo supeditada al condicionamiento de la venta de la masa.

2.- PREPARACIÓN DE MUESTRAS.

Todas las muestras colectadas fueron sometidas al mismo proceso de preparación:

a) SECADO

Inseguida de que las muestras eran llevadas al laboratorio, éstas fueron desmenuzadas y colocadas en una charola tratando de que los fragmentos de masa fuesen homogéneos y se colocaron dentro de un horno de aire forzado (Blue M "Stabil-Therm") a 50°C durante un período de 24 horas para que la masa quedara deshidratada y así prevenir el crecimiento de otros microorganismos, particularmente aquellas especies de hongos productores de la micotoxinas estudiadas y que pudiesen alterar los resultados.

b) MOLIENDA.

Después del secado, cada muestra de masa fue pulverizada en un molino eléctrico (Straub Co. Corydon Penn, -- Mod. 4-E) para obtener una muestra con tamaños de partícula que pudiesen pasar por una malla del número 20. La harina obtenida se mezcló en una batidora eléctrica (Hobart Mod. C-100) durante 15 minutos para homogeneizarla. Las muestras ya preparadas, -- fueron colocadas en bolsas de papel de estraza etiquetadas y -- se mantuvieron en congelación hasta el momento de someterlas al análisis químico.

c) ANÁLISIS QUÍMICO.

El método utilizado para realizar el análisis químico fue el método múltiple de micotoxinas (Spplly ----- 1968), que es un método analítico para zearalenona, aflatoxinas y ocratoxinas. Esta técnica ha sido parcialmente adoptada como primera acción oficial por The Association of Official Analytical Chemistry (AOAC, 1984) para aflatoxinas en maíz (26.051), y también para zearalenona (26.049) con una pequeña modificación que consiste en una partición líquido-líquido con hexano y acetoneitrilo (26.144) para eliminar lípidos y pigmentos del extracto.

Este método de análisis puede dividirse en las siguientes tres fases:

1) EXTRACCIÓN.

De las muestras previamente preparadas se tomaron 50 g y se colocaron en matraces Erlenmeyer de boca ensillada con capacidad para 500 ml; a éstos se les adicionaron -- 25 g de celita (Celite Sigma de México), 250 ml de cloroformo y 25 ml de agua destilada; enseguida fue realizada la extracción agitando en un agitador mecánico de acción de muñeca (Burrel -- Mod. 75) durante 30 minutos; después, las muestras extraídas -- fueron filtradas a través de papel filtro (Whatman No. 1, Qualitative) colectándose los primeros 50 ml.

2) COLUMNA DE CROMATOGRAFÍA.

Los primeros 50 ml colectados fueron pasados por una columna de cromatografía de gel de sílice, adicionando posteriormente 150 ml de hexano y luego 150 ml de benceno los dos solventes fueron eluidos a máxima velocidad (10-20 ml/min) y luego eliminados. La zearalenona fue eluida con 250 ml de solución acetona-benceno 5:95 v/v (Fracción 1), después se lavó la columna con 150 ml de dietil éter anhidro. Las aflatoxinas fueron eluidas con 150 ml de solución metanol: cloroformo 3:97 v/v (Fracción 2). Enseguida las ocratoxinas fueron eluidas con 250 ml de ácido acético glacial-benceno 1:9 v/v (Fracción 3).

3) CONCENTRACIÓN

Las fracciones obtenidas de cada elusión fueron evaporadas a casi sequedad en un rotavapor (Buchi Oil RE 111) con baño de vapor integrado (Buchi 461) evitando el calor excesivo (30°C). En el caso de las aflatoxinas y ocratoxinas, los residuos fueron transferidos a viales (20 ml) lavando con 10 ml de cloroformo y luego evaporados a casi sequedad en baño de vapor en atmósfera de nitrógeno y fueron conservados en congelación para su uso posterior. Para la zearalenona el residuo fue transferido a un embudo de separación realizando cuatro lavados con 10 ml de hexano y dos con 10 ml y luego con 5 ml de acetronitrilo respectivamente, se agitó y dejó separar las capas la capa inferior (acetronitrilo) se colectó y se evaporó a casi

sequedad en rotavapor, transfiriendo el residuo con 10 ml de cloroformo a un vial (20 ml) evaporando en baño de vapor en atmósfera de nitrógeno y conservado en congelación hasta su uso posterior.

4.- CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

Se utilizaron placas precubiertas Merk (DC Fertigplatten Kieselgel 60 Art. 5721 Merk) de 20 x 20 cm. y 0.25 mm de espesor.

Placas Preliminares.

Cada una de las fracciones de aflatoxinas fue resuspendida en 0.5 ml de benceno agitando durante un minuto en un agitador mecánico (Super-Mixer 1290, Line Instruments Inc). Con una microjeringa de 10 μ l se colocaron 5 μ l de muestra sobre una línea a 4 cm del borde inferior de la placa; en esta misma, se colocaron 3 manchas de 2, 4 y 8 μ l respectivamente de una solución patrón de aflatoxinas (concentración 1 μ g/ml, Sigma A 6636), y sobre una de las manchas de 5 μ l de muestra se adicionó una mancha de 3 μ l de solución patrón. Las placas se desarrollaron dentro de un tanque, no equilibrado y no forrado, con el sistema de solventes cloroformo/acetona/agua, 88/12/1.5 v/v/v, durante 40 minutos aproximadamente. Las placas ya secas se introdujeron en una cabina de luz ultravioleta (Cromatovue) con longitud de onda largo (360 nm) y se ---

observaron las aflatoxinas en las muestras como manchas azules utilizando como referencia las manchas de la solución patrón.

Las muestras que se detectaron contaminadas fueron conservadas en congelación para hacer las placas cuantitativas.

Las fracciones de ocratoxinas, fueron resuspendidas en 0.5 ml de solución ácido acético-benceno, 1/99 v/v, se agitaron durante un minuto en agitador mecánico. Las placas cuantitativas se prepararon de la misma manera que las de aflatoxinas a excepción de que la solución patrón que se utilizó fue de ocratoxinas (Concentración 1 µg/ml, Sigma 0-4401). El sistema de solventes utilizado fue de benceno/metanol/ácido acético glacial, 18/1/1 v/v/v, y las placas se desarrollaron en un tanque no equilibrado y no forrado durante 45 minutos aproximadamente. Las placas ya secas se introdujeron en una cabina con luz ultravioleta de onda larga 360 nm, detectándose las ocratoxinas como manchas de fluorescencia verde-azul, utilizando como referencia las manchas de solución patrón. Las muestras positivas se conservaron en congelación para su posterior cuantificación.

Las fracciones de searalenona, fueron resuspendidas en 0.5 ml de benceno agitándose durante un minuto con agitador mecánico, posteriormente con una jeringa de 10 µl de capacidad

se colocaron dos manchas de 10 μ l de cada muestra sobre una línea imaginaria a 4 cm del borde interior de la placa, en esta misma también se colocaron manchas de 5.7 y 9 μ l de solución patrón de searalenona (concentración de 10 μ g/ml, Sigma 2-2125) y sobre una de las manchas de 10 μ l de muestra fue adicionada una mancha de 3 μ l de esta misma solución. Las placas se desarrollaron con un doble sistema de solventes, primero con una solución benceno-hexano 3:1 v/v para eliminar posibles residuos de grasas que estuvieran presentes en el extrato (Nagan y Tietjen, 1975) y después fueron corridas en la misma dirección con el segundo sistema tolueno-acetato de etilo-ácido fórmico al 90% 5:4:1 v/v/v durante 40 min. hasta que el solvente llegó a unos dos centímetros del borde inferior de la placa, ésta ya seca fue introducida a una cabina de luz ultravioleta con longitud de onda corta (260 nm) y se detectaron como positivas las muestras como referencia las manchas de las muestras patrón. Las muestras positivas se conservaron en congelación para su posterior cuantificación.

Todas las muestras que se detectaron como positivas se analizaron por duplicado.

Placas Cuantitativas.

Estas fueron hechas con base en la comparación visual de las muestras positivas en las placas preliminares,

Para la cuantificación de cada toxina detectada en las muestras se ajustó la concentración de las muestras y se utilizó la siguiente fórmula (AOAC, 1984).

Fórmula I

$$\mu\text{g de toxina g Kg de muestra} = \frac{(S \times Y \times V)}{(X \times W)}$$

A saber:

S = μl de la mancha del patrón con intensidad igual a la de la muestra.

Y = Concentración del patrón utilizado.

V = Volúmen de la disolución final de la muestra.

X = μl de la mancha de la muestra con intensidad igual a la mancha patrón.

W = g de muestra extraída que entraron a la columna de cromatografía.

Pruebas Confirmatorias

Estas fueron realizadas para confirmar la identidad de las toxinas detectadas.

Aflatoxinas: Se asperjaron las manchas en la --

Para la cuantificación de cada toxina detectada en las muestras se ajustó la concentración de las muestras y se utilizó la siguiente fórmula (AOAC, 1984).

Fórmula I

$$\mu\text{g de toxina} \times \text{Kg de muestra} = \frac{(S \times Y \times V)}{(X \times W)}$$

A saber:

S = μl de la mancha del patrón con intensidad igual a la de la muestra.

Y = Concentración del patrón utilizado.

V = Volúmen de la disolución final de la muestra.

X = μl de la mancha de la muestra con intensidad igual a la mancha patrón.

W = g de muestra extraída que entraron a la columna de cromatografía.

Pruebas Confirmatorias

Estas fueron realizadas para confirmar la identidad de las toxinas detectadas.

Aflatoxinas: Se asperjaron las manchas en la --

placa de cromatografía con una solución de ácido sulfúrico: - agua destilada 1:3 v/v (AOAC, 14 ed. 26.057). Con este tratamiento se corroboró la presencia de aflatoxina cuando la mancha de la muestra viró a amarillo al observar la placa bajo luz ultravioleta de onda larga; si alguna de las muestras no presentó este viraje, fue descartada.

Ocratoxinas: Las manchas en la placa de cromatografía fueron asperjadas con una solución alcohólica de bicarbonato de sodio (AOAC, 14ava ed., 26.113 (e), 26.117). Con esta solución las manchas de ocratoxinas deben virar de un tono verdoso a un azul intenso cuando se observa con luz ultravioleta de onda larga (360 nm). Las muestras que no presentaron este viraje, fueron descartadas.

Zearalenona: Para confirmar la presencia de zearalenona en las muestras, las manchas de éstas fueron asperjadas con una solución de cloruro de aluminio y la placa se calentó durante 5 minutos a 30°C (AOAC, 14 ed., 26.140; 26.146). Al ser observadas las manchas de zearalenona bajo luz ultravioleta de onda corta, dejan de ser perceptibles, pero se aprecian con tonalidad azul bajo luz ultravioleta de onda larga. Si alguna de las muestras no presentó este comportamiento se descartó.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla N^o 1 podemos observar que de las 265 muestras analizadas, sólo ocho presentaron alguna de las micotoxinas inspeccionadas, lo cual equivale a un 3% del total de muestras obtenidas: de estas muestras positivas tres corresponden a aflatoxinas, dos a ocratoxinas y tres a zearaleona.

A pesar de que cada muestra fue analizada para las tres toxinas, ninguna de ellas se encontró contaminada con más de una micotoxina lo cual es sorprendente ya que el maíz es un sustrato favorable para el desarrollo de diversos hongos y se ha reportado la contaminación de éste con varias toxinas en forma natural.

En un mismo molino, fueron detectadas dos toxinas diferentes, esto es debido posiblemente a que el maíz no siempre tiene la misma historia, es decir, la procedencia de éste puede variar así como las condiciones y tiempo de almacenamiento del mismo, a pesar de que la mayoría de los molinos son surtidos por el mismo proveedor.

Podemos decir que en la presente inspección se trabajó con dos tipos de localidades, una de ellas corresponde al molino número cuatro que es abastecido con maíz cultivado

por el propietario del mismo (localidad A) y la otra corresponde a todos los molinos subsidiados por CONASUPO (localidad B). Dentro de la localidad A el problema de contaminación en la presente inspección no fue detectado, debido a que no se encontró ninguna toxina, esto puede deberse posiblemente a la alta demanda del producto en dicho molino ya que esto propicia que el maíz se almacene durante lapsos muy cortos de tiempo, lo que disminuye la posibilidad de que éste se contamine; en el presente trabajo se utilizó maíz ya mermalizado de manera que no podemos hacer mayores inferencias con respecto al grano de maíz.

Todas las muestras positivas fueron encontradas en los molinos de la localidad B; el porcentaje de muestras contaminadas fue de 3.5 del cual 1.2% correspondió a aflatoxinas, 0.8% para ocratoxinas y 1.2% para searalemona; esto nos sugiere que si bien el problema de contaminación con micotoxinas en la masa no es alto y aparentemente no es preocupante, no debe pasarse por alto, ya que existe como riesgo en los canales comerciales subsidiados por CONASUPO.

AFLATOXINAS.

En la tabla Núm. 2 podemos observar que dos de las muestras contaminadas con esta toxina fueron detectadas en el mes de septiembre de 1987 con promedio de 9,5 µg/Kg y ---

rango de 8,8-10 µg/Kg; una tercera muestra fue detectada en el mes de julio con un promedio de 18 µg/Kg con rango de 15-20 µg/Kg, concentraciones que no exceden los límites máximos tolerados en los códigos sanitarios de la Comunidad Económica Europea y en los Estados Unidos de Norteamérica cuya tolerancia máxima es de 20 µg/Kg para granos de maíz (Krogh, 1977; Schuller et al., 1983), ni tampoco excede los límites de la Food and Drug Administration (USA) de 25 µg/Kg para alimentos manufacturados (Stoloff, 1980). Cabe señalar que en todas las muestras sólo se detectó aflatoxina B₁ la cual ha sido más comúnmente reportada como contaminante de alimentos en forma natural.

Con base en los trabajos que se han realizado anteriormente podemos atribuir las bajas cantidades de aflatoxinas detectadas en la presente inspección a la nixtamalización del maíz; sin embargo, el haber sacado muestras contaminadas plantea la posibilidad de que el grano de maíz se encuentra contaminado y que particularmente en ciertos períodos del año el proceso de alcalinización durante la nixtamalización no es suficiente para destruir completamente a las aflatoxinas, ya que los meses en que fueron detectadas se encuentran dentro de la época de importación del maíz en México y la estación en el D. F. (Tabla Núm.5).

TABLA 1

TABLA DE RELACION ENTRE NUMERO DE MOLINO ANALIZADO Y MUESTRAS DE TOXINAS DETECTADAS COMO POSITIVAS.

*MOLINO	# MUESTRAS ANALIZADAS	AFLATOXINAS	OCRATOXINAS	ZEARALENOMA
1	15	ND	ND	ND
2	15	ND	ND	ND
3	15	ND	ND	ND
4	15	ND	ND	ND
5	15	ND	ND	ND
6	15	ND	1	ND
7	15	1	ND	ND
8	15	ND	ND	ND
9	15	ND	ND	1
10	15	ND	ND	1
11	15	ND	ND	ND
12	15	1	ND	ND
13	15	ND	ND	ND
14	15	ND	ND	ND
15	15	ND	1	ND
16	15	ND	ND	ND
17	15	1	ND	1
TOTAL	265	3	2	3

* Ubicación de estos Molinos es dada en Materiales y Métodos.

ND = NO DETECTADOS.

TABLA 2.- NIVELES DE CONTAMINACION CON AFLATOXINAS EN MUESTRA DE MASA DE MAIZ COLECTADAS EN LA DELEGACION TLALPAN, D. F. DE SEPTIEMBRE 1986 A SEPTIEMBRE DE 1987.

MOLINO	FECHA DE COLECTA	CONTAMINACION	
		PROMEDIO	RANGO $\mu\text{g}/\text{Kg}$
07	26/JUL/1987	18	15 - 20
12	15/SEPT/1987	9.5	9.5 - 10
17	15/SEPT/1987	9.5	8.8 - 10

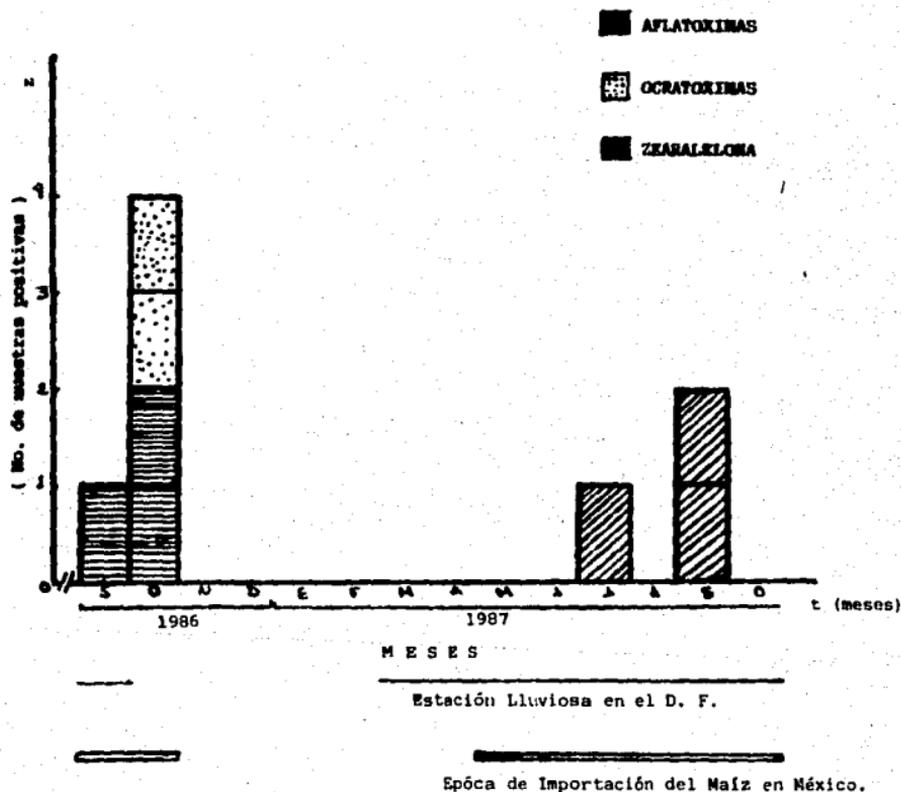
TABLA 3.- NIVELES DE CONTAMINACION CON OCRATOXINAS ENCONTRADAS EN MUESTRAS DE MASA DE MAIZ RECOLECTADAS EN EL PERIODO COMPRENDIDO DE SEPTIEMBRE 1986 A SEPTIEMBRE DE 1987.

MOLINO	FECHA DE COLECTA	CONTAMINACION	
		PROMEDIO	RANGO $\mu\text{g}/\text{Kg}$
6	5/OCT/1986	10.2	9.5 - 11
15	26/OCT/1986	10	8 - 13

TABLA 4. - NIVELES DE CONTAMINACION CON ZEARALENONA ENCONTRADOS EN MUESTRAS DE MASA DE MAIZ COLECTADAS EN EL PERIODO COMPRENDIDO ENTRE SEPTIEMBRE 1986 y SEPTIEMBRE 1987.

MOLINO	FECHA DE COLECTA	CONTAMINACION	
		PROMEDIO	RANGO $\mu\text{g}/\text{Kg}$
17	SEPT/15/1986	85	90 - 100
9	OCT/5/1986	101	78 - 125
10	OCT/5/1986	71	50 - 92

TABLA 5.- MUESTRAS DE MASA DE MAIZ QUE SE OBTUVIERON EN LA DELEGACION DE TLALPAN DURANTE EL PERIODO DE SEPTIEMBRE 1986 A SEPTIEMBRE DE 1987; CONTAMINADOS CON AFLATOXINAS, OCRATOXINAS Y ZEARALENONA, Y SU RELACION CON LA ESTACION LLUVIOSA EN EL DISTRITO FEDERAL Y LA EPOCA DE IMPORTACION DE MAIZ EN LA REPUBLICA MEXICANA.



Ocratoxinas.

En la tabla Núm. 3 se observa que las dos muestras contaminadas con esta toxina se detectaron en el mes de octubre de 1987, pero en molinos diferentes, con promedio de 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ y rango de 8-13 $\mu\text{g}/\text{Kg}$; debido a que esta toxina se detectó a bajos niveles de contaminación, podemos decir que no representa un alto riesgo de sanidad en cuanto al mixtamal que es consumido en esta Delegación.

Scaralenona.

En la tabla Núm 4 se observa que se encontraron tres muestras contaminadas en esta toxina, una fue detectada en el mes de septiembre y dos en el mes de octubre de 1986; el rango de contaminación es 50-125 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ y promedios de 101, 71 y 85 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ respectivamente. Estos promedios son bastante bajos para una toxina cuyos límites de detección son más altos que los anteriores.

Además cabe señalar que dicha toxina no ha sido reportada como riesgo sanitario para el hombre, sino como un problema para animales de granja, cerdos principalmente, -- pero tampoco para ellos representa un gran riesgo dentro de -- esta Delegación debido a la escasa distribución que esta toxina tuvo durante todo el período de muestreo.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Aunque las tres toxinas inspeccionadas hayan sido encontradas a muy bajos niveles de contaminación; no podemos pasar por alto que fueron detectadas entre las muestras obtenidas en molinos surtidos por CONASUPO, por lo que para éstos podemos decir que los meses de más riesgo durante el año -- fueron septiembre y octubre, ya que en estos dos meses fueron -- encontradas siete de las ocho muestras positivas detectadas, -- cabe señalar que este riesgo es para cualquiera de las tres toxinas, aunque no debe pasarse por alto que también el mes de -- julio es riesgoso, pero sólo para aflatoxinas, ya que en él se encontró la octava muestra positiva (tabla Núm. 5).

CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos en la presente inspección se concluye que el problema de la contaminación con aflatoxinas en la masa de maíz de los molinos de la Delegación de Tlalpan no es preocupante, pero debe tomarse en cuenta, ya -- que ignoramos el nivel de contaminación del maíz y alteraciones en el proceso de nixtamalización, lo que podría significar un -- riesgo sanitario potencial para la población consumidora.

Es necesario destacar la importancia que -- posee el proceso de la nixtamalización durante la elaboración -- de la masa de maíz ya que con base en trabajos previamente realizados podemos, en la presente inspección, atribuir a -----

la nixtamalización el escaso número de muestras contaminadas, así como las bajas concentraciones detectadas de aflatoxinas; pero es importante hacer notar que este proceso debe realizarse con sumo cuidado sobre todo en ciertos períodos del año -- principalmente durante la época de importación del maíz en -- México y la estación de lluvias en el Distrito Federal, ya -- que en el presente trabajo todas las muestras contaminadas -- con aflatoxinas se detectaron en el período en que estas dos épocas coinciden.

BIBLIOGRAFÍA CITADA.

- Association of Official Analytical Chemist. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist, Arlington, Virginia, 14a Ed., Cap. 26.
- Beckwith, A. C. , R. F. Vowonder y A. Ciegler. 1976. Chemical ---- methods for detoxifying aflatoxins in foods and feeds. En: J. V. -- Rodricks (Ed) Mycotoxins and Other Fungal Related Food Problems. American Chemical Society. Washington, D. C. , pp 58-67.
- Blount, W. P. 1961. Turkey X disease. Turkeys. 9, 52.
- Butler, W. N. 1969. Aflatoxicosis in laboratory animals, En: L. A. Goldblat (Ed) Aflatoxin. Academic Press, Nueva York, pp 223-234.
- Caballero, M.H.K. 1988. Micotoxinas en masa de maíz en el Distrito Federal. Delegaciones Benito Juárez y Coyoacán. Tesis. Fac. Ciencias, UNAM.
- Chakrabarti, A. G. 1981. Detoxification of corn. J. Food Protection 44: 491-492.
- Christensen, C. N. 1975. Molds, Mushrooms and Mycotoxins. University of Minnesota Press, Mineápolis, pp 59-113.
- Cronquist, A. 1971. Introductory Botany. Harper and Row. Publ. Inc. Nueva York, pp 680-698.
- Cucullu, A. F., L. S. Lee, R. Y. Mayne y L. A. Goldblatt. 1966. Determination of aflatoxins in peanuts and peanuts sections; J. Am Oil Chem. Soc. 43, 89.
- Davis, W. D. y U. L. Diener 1978, Mycotoxins. En: L. R. Beachat. (Ed) Food and Beverage Mycology. AVI PUBL. Co., Westport, Connecticut, pp 344-397.
- Dickens, F. y H. E. Jones. 1963. The carcinogenic action of aflatoxin after subcutaneous in rat. Brit. J. Cancer. 19:691-698.
- Eppley, R. N. 1968. Screening method for xearalenone, aflatoxin -- and ochratoxin JAOAC 31: 74-78.
- García-Aguirre, G. y R. Martínez-Flores. 1985. Aspergillus flayus y aflatoxinas en el maíz del Distrito Federal. Rev. Mex. Mic. 1: 189-199.
- Goldblatt, L. A. 1966. Some approaches to the elimination of aflatoxin from protein concentrates. World Prot. Res. 57: 216-226.

-Goldblatt L.A. 1971. Control and removal of aflatoxin. J. An. Oil. Soc. 48: 605-610

-Goldblatt L.A. y F. G. Dollear. 1977. Review of prevention, elimination and detoxification of aflatoxins. Pure Appl. Chem. 49 : 1759-1764.

-Hagen, H. S. y W. H. Tietjen. 1975, A convenient thin layer chromatographic cleanup procedure for screening several mycotoxins in oils. JAOAC 58: 620-621.

-Hernández, X. B. 1949. Maize Granaries in México. Botanical - Museum Leaflets, Harvard University. 13: No. 7, pp 153-192.

-Hesseltine, C. W. 1976. Conditions leading to mycotoxin contamination of foods and feeds. Ed: J. V. Rodricks (Ed) Mycotoxins and Other Fungal Related Food Problems. Am Chem. Soc., Washington, D. C. 409 pp.

-Ichinoe, M. y H. Kurata. 1983. Trichothecene-producing fungi. Ed: Y. Veno (Ed.) Trichothecenes: Chemical, Biological and Toxicological Aspects. Elsevier, Amsterdam, pp 73-81.

-Illescas, R. 1943. La teoría química de la formación del mixtimal. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. 4 : 129-134

-Krogh, P. 1977. Mycotoxin tolerances in foodstuffs. Pure Appl. Chem. 49: 1719-1722.

-Lancaster, M.C., F. F. Jenkins, J. Wcl. Philp, K. Sargeant, A. Sheridan y J. O Kelly. 1961. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature 192: 1095-1096

-Lee, L.L., Yatsu, L. Y. y L. A. Goldblatt. 1967. Aflatoxin --- contamination: Electron microscopic evidence of mold penetration J. Am. Oil Chem Soc. 44, 331.

-Romer, T. 1984. Mycotoxins in corn and milling products. Cer -- Foods World. 29: 459-462.

-Sargent, K. y R.B.A. Carnaghan. 1963. Groundnut toxicity in poultry: Experimental and chemical aspects. Brit. Vet. J. 119:178-184.

-Schuller, P.L., H. P. Van Egmond y L. Stoloff. 1983. Limits and regulations on mycotoxins. Proc. Int. Symp. Micotoxins, pp 111-129.

-Shotwell, O. L. 1977. Mycotoxins: corn related problems, Cer. -- Foods World 22: 524-527.

Shotwell, O. L., M. L. Goulden, R.J. Bothast y C. W. Hesseltine. 1975. Mycotoxins in hot spots in grains I Aflatoxins and searale none occurrence in stored corn. Cereal Chem. 52: 687-697.

-Shotwell, O. L., M. L. Goulden y C. W. Hesseltine. 1974. Aflatoxin: distribution in contaminated corn. Cereal Chem. 51: 492.

-Shotwell, O. L., C. W. Hesseltine, M. L. Goulden y E. E. Vandergraft. 1970. Survey of corn for aflatoxin, zearalenone and ochratoxin. Cereal Chem. 47: 700-707

Shotwell, O. L., C. W. Hesseltine, E. E. Vandergraft y M. L. Goulden. 1971. Survey of corn from different regions for aflatoxins, ochratoxins and zearalenone. Cereal Sci. Today. 16: 266-273.

-Steyn, P. S. 1971. Ochratoxin and other dihydroisocoumarins, Pt. A, Cieglar, S. Kadis y S. J. Ajl. (Ed) Microbial Toxins. 6, pp 170-205.

-Stoloff, L. 1976. Occurrence of mycotoxins in foods and feeds. -- Ed: J. V. Rodricks. (Ed) Mycotoxins and Other Fungal Related Food Problems. American Chemical Society. Washington. D. C., pp 23-50.

-Stoloff, L. 1979. The three eras of fungal toxin research. J. - Am. Oil Chem. Soc. 56: 784

-Stoloff, L. 1980. Aflatoxin control: past and present. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63: 1067-1073.

-Ulloa-Sosa, M. y H. W. Schroeder. 1969. Note on aflatoxin decomposition in the process of making tortillas from corn. Cereal Chem. 46: 397-400.

-Vander Merwe, K. J., P. S. Steyn y L. Fourie. 1965 A. Mycotoxins. Part 2. The constitution of ochratoxins A, B. and C. metabolites - of Aspergillus ochraceus. Wilh. J. Chem. Soc. 7083-7088.

-Vander Merwe, K. J., P. S. Steyn, L. Fourie, De B. Scott y J. J. Theron. 1965 B. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by Aspergillus ochraceus. Wilh. Nature (London). 205: 1112-1113.