



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES IZTACALA**

**DETENCION DE AFLATOXINAS Y
ZEARALENONA EN CACAHUATE Y SUS
PRODUCTOS DERIVADOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

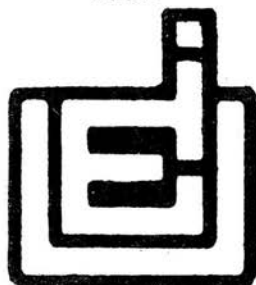
B I O L O G O

P R E S E N T A :

ROSA MARIA AVILA CASTRO

LOS REYES IZTACALA

1991





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

a mis más sinceros amigos
quienes me tuvieron que
motivar cuando hizo falta

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi asesora, la Dra. Magda Carvajal Moreno por su apoyo y dirección para la realización de este trabajo y, por las interminables muestras de amistad y comprensión que hacia mí ha demostrado.

Al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por facilitarme sus instalaciones para la elaboración de esta tesis y la realización de este logro.

Al Dr. René Rosiles y sus colaboradores por haberme permitido trabajar en el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Nacional Autónoma de México.

Y a quienes de alguna forma colaboraron para lograr este trabajo:

Alberto Silva Escamilla

Alfredo Martínez Sigüenza

Mario Sousa Peña y

Alfredo Wong

INDICE

	Páginas
Dedicatoria.....	i
Agradecimientos.....	iii
Indice.....	iv
Lista de tablas.....	vi
Lista de figuras.....	vii
Resumen.....	viii
Summary.....	ix
INTRODUCCION.....	1
1.- Antecedentes históricos de las aflatoxinas y la zearalenona.....	1
2.- Importancia de las aflatoxinas y la zearalenona en la salud animal y humana.....	4
a) Definiciones.....	4
b) Biosíntesis.....	7
c) Daños causados en animales y el hombre	12
d) Aflatoxinas y zearalenona en el cultivo del cacahuete	18
3.- Síntomas de infección por <u>Aspergillus flavus</u> y <u>A. parasiticus</u>	20
OBJETIVOS.....	21

MATERIALES Y METODOS.....	22
1. Muestras trabajadas y forma de muestreo.....	22
2. Análisis de las micotoxinas.....	33
a) Método de Thomas, F., Eppley, R.M. y Trucksess, M.W.	34
b) Cromatografía de capa fina	35
c) Preparación de las placas para la cromatografía	35
d) Preparación del gel de sílice.....	37
e) Aplicación de los estándares y muestras en las placas cromatográficas.....	37
f) Cálculo de la Velocidad de flujo (Factor de retardación).....	39
g) Cuantificación de las micotoxinas en placas de cromatografía.....	39
h) Método de Aflatest.....	40
i) Método de preparación de la solución reveladora.....	42
MEDIDAS DE SEGURIDAD.....	42
RESULTADOS Y DISCUSION.....	43
1. Identificación de las micotoxinas.....	43
2. Cuantificación de las micotoxinas.....	53
CONCLUSIONES.....	56
BIBLIOGRAFIA.....	58

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Localización de expendios, marcas y tipos de muestras.....	23
Tabla 2: Micotoxinas y metabolitos fluorescentes presentes en los grupos muestrales de cacahuete y sus productos derivados.....	44
Tabla 3: Micotoxinas y metabolitos fluorescentes presentes en las muestras individuales de cacahuete y sus productos derivados.....	47

LISTA DE FIGURAS

	Página
1: Fórmulas estructurales de las cumarinas.....	5
2: Estructura química de la zearalenona.....	8
3: Ruta biosintética de las aflatoxinas propuesta por Simpson, 1977.....	10
4: Biosíntesis de la zearalenona. A) A partir de la condensación de 9 unidades de acetato. B) A partir de un octaquétido intermedio derivado de 8 unidades de acetato y de la carboxilación directa del C-12' y de la metilación del C-11'.....	11
5: Método de Thomas <i>et al.</i> 1975.....	36
6: Método de Aflatest, VICAM, 1990.....	41

RESUMEN

En el presente estudio, se realizó la extracción química de aflatoxinas y zearalenona de cacahuates naturales y productos procesados de consumo popular, aplicando una técnica específica (Thomas, *et al.*, 1975) y se cuantificó el contenido de estas micotoxinas mediante dos métodos: cromatografía de capa fina y por columnas monoclonales.

El análisis de las micotoxinas se realizó en 131 muestras, de las cuales, 9 estuvieron contaminadas con aflatoxina B1: crema de cacahuete con trocitos y cremosa (Aladino); chocolates (Almon Rís y Tin Larin), 4 con aflatoxina B2: palanqueta (Martín); chocolate (Almon Rís); cacahuete japonés (Sabritas) y Salado (Nipón), 6 con aflatoxina G1: chocolate (Almon Rís) y chocolate relleno de crema de cacahuete (Zam Fre), 6 con aflatoxina G2: palanqueta (Martín); granola (Granilda y Sat Nam) y cacahuete japonés (Mafer) y, 11 con zearalenona: palanqueta (Mafer); chocolate (Almon Rís) y cacahuete salado (Sabritas).

Los productos contaminados por aflatoxina B1, contenían de 2 a 24 ppb; los contaminados por aflatoxina B2, de 2 a 60 ppb; por G1, 2 ppb; por G2, de 4 a 60 ppb y los contaminados por zearalenona, de 6 a 60 ppb en 50 g de muestra.

SUMMARY

Chemical extractions of aflatoxins and zearalenone from natural and processed peanuts were done, applying an specific technic (Thomas, et al. 1975) and the quantification was performed by 2 methods: thin layer chromatography and monoclonal columns.

One hundred and thirty one samples were analysed from which 9 were contaminated with aflatoxin B1: peanut butter (Aladino); chocolates (Almon Ris and Tin Larín), 4 with aflatoxin B2: savoury peanut (Nipón); candy (Martín); chocolate (Almon Ris) and japanese peanut (Sabritas), 6 with aflatoxin G1: chocolate (Almon Ris) and chocolate stuffed with peanut butter (Zam Fre), 6 with aflatoxin G2: candy (Martín); granole (Granilda and Sat Nam); japanese peanut (Mafer) and finally 11 with zearalenone: candy (Mafer) ;chocolate (Almon Ris) and savoury peanut (Sabritas).

The contaminated products with aflatoxin B1 had from 2 to 24 ppb; the ones with aflatoxin B2 from 2 to 60 ppb; with aflatoxin G1, 2 ppb, with aflatoxin G2 from 4 to 60 ppb and the ones contaminated with zearalenone from 6 to 60 ppb in a 50 g sample.

INTRODUCCION

El cacahuete, es considerado de gran valor nutritivo por la cantidad de grasas, sales minerales y vitaminas que contiene en forma natural, y porque tiene numerosas aplicaciones industriales en la producción de aceites, elaboración de dulces, galletas, guisos, botanas, etc., por lo que goza de gran aceptación.

Al igual que los granos, el cacahuete se almacena de acuerdo a las necesidades de consumo y en esta etapa se desarrollan la mayoría de los hongos y las bacterias llamadas "de almacén"; aunque la contaminación pudo suceder en el campo de producción si las plantas sufrieron sequías, daños climáticos o plagas.

1.- Antecedentes históricos de las aflatoxinas y la zearalenona.

El término micotoxina define la serie de compuestos tóxicos producidos por algunos hongos durante su crecimiento y desarrollo en diversos sustratos, mismos que al ser consumidos por los animales o por el hombre causan intoxicaciones, lo que ocurre aún cuando las cantidades ingeridas de estos metabolitos, del hongo o de sus esporas sean mínimas (partes por billón), que el hongo ya no se encuentre ahí, y de que el mismo sustrato no tenga

aparición ni olor mohoso. El descubrimiento del factor tóxico producido por el hongo Aspergillus flavus y A. parasiticus llamado "Aflatoxina" (A= Aspergillus, fla= flavus y toxina), dió lugar al estudio sistemático de las micotoxinas al principio de los años sesenta. Aunque desde el año 1940, Shilo consideró a A. flavus como una especie productora de sustancias tóxicas, fue hasta 1954 que Carll, et al. hicieron aislamientos de ciertas especies de Aspergillus y algunas de ellas produjeron la toxina. En 1957, Burnside, et al. señalan el aislamiento de trece cepas de hongos a partir de muestras tomadas de granos de maíz con apariencia mohosa, por lo que su toxicidad era probable. De dichas cepas nueve correspondían a Aspergillus flavus y una a Penicillium rubrum; todas fueron cultivadas por separado y previamente esterilizadas. Posteriormente, se suministraron en el alimento a cerdos que al poco tiempo murieron debido a las hemorragias causadas.

En 1960, en Gran Bretaña se reportó la muerte de 10,000 pavos jóvenes que fueron alimentados con cacahuates pulverizados y que murieron a los cuatro meses debido a la toxina producida por Aspergillus flavus (Asplin y Carnaghan, 1961).

Resultados similares se obtuvieron en ganado vacuno y porcino (Loosmore y Harding, 1961; Loosmore y Markson, 1961) cuando ambas especies se alimentaron a base de harina de cacahuate contaminada por el mismo hongo.

Uno de los metabolitos secundarios tóxicos producidos por hongos es la Zearalenona, micotoxina de Fusarium graminearum, F. roseum

y otras especies del mismo género.

En 1928, se registra por primera vez la detección de vulvovaginitis en cerdas jóvenes (vírgenes), asociada con el consumo de maíz infestado con hongos, presumiblemente del género Fusarium (Mirocha, et al.1971). En 1952, Mc Erlean reporta la presencia de Fusarium graminearum en granos de cebada relacionada con el hiperestrogenismo en cerdos.

La hipótesis fué que este hongo produjo un metabolito tóxico responsable de estos efectos adversos. Para fines de los cincuentas, la Universidad de Purdue efectuó investigaciones con animales para establecer la vinculación entre la presencia de microorganismos en el alimento y el síndrome hiperestrogénico, aislando un compuesto anabólico uterotrópico (zearalenona), caracterizándolo como un compuesto capaz de generar síntomas similares a los observados en condiciones naturales (Stob, et al.,1962).

Posteriormente, ante una alta incidencia de signos estrogénicos en porcinos durante 1963 y 1964, Christensen et al. (1965), aisló el mismo compuesto a partir de colonias de Fusarium rosearum, al cual llamó "F-2".

El maíz es el cereal más implicado en los casos de hiperestrogenismo en animales de granja, particularmente en los porcinos. De aquí que el nombre zearalenona se estructuró de la siguiente manera:

Zea = maíz

ral = lactona del ácido resorcílico

en = doble ligadura

ona = cetona

por su estructura química (Mirocha y Pathre, 1979).

2.- Importancia de las aflatoxinas y la zearalenona en la salud animal y humana.

a) Definiciones.

Las aflatoxinas son difuranocumarinas y metabolitos secundarios tóxicos, es decir, que se generan a partir de algunos de los compuestos intermediarios clave del metabolismo primario (piruvato, malonato, propionato, grupos acetato y aminoácidos) a través de reacciones catalizadas por enzimas (El-Nakib, *et al.*, 1981; Steyn *et al.*, 1980). Figura 1.

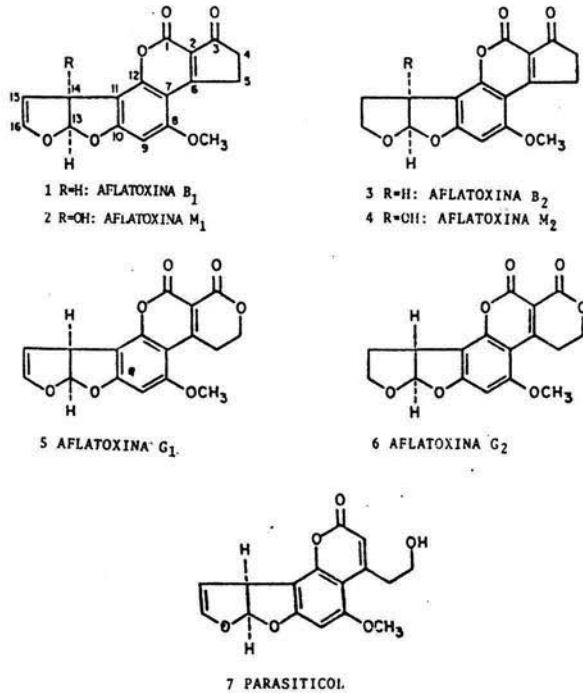


Fig. 1. Fórmulas estructurales de las cumarinas (Steyn *et al.*, 1980).

Se ha determinado mediante cromatografía de capa fina que el factor tóxico se separa en cuatro manchas diferentes entre sí: las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, en donde las letras B y G significan, en inglés Blue (azul) y Green (verde) respectivamente, por la fluorescencia que se observó en cada una de ellas al ser vistas bajo luz ultravioleta de onda corta; los subíndices 1 y 2 corresponden a la movilidad relativa que presentaron en el cromatograma (Schuller, *et al.* 1976).

La zearalenona, llamada también "F2", es un metabolito secundario con propiedades estrogénicas; por su estructura química es una lactona del ácido resorcílico que al observarse bajo luz ultravioleta de onda corta, presenta su fluorescencia en color azul verde (Mirocha y Pathre, 1979; Mirocha y Christensen, 1983).

Figura 2.

b) Biosíntesis.

Aflatoxinas.

La ruta para la biosíntesis de la aflatoxina B1 propuesta por Simpson (1977), (Fig. 3), ha sido aceptada para demostrar la formación de todas las cumarinas de la Figura 1. En esta ruta se establece como precursor primario a un poliquétido y el mecanismo propone que los metabolitos primarios inducen a la enzima poliquetidosintetasa a la producción de aflatoxina, con la pérdida de un carbono (C-6) del grupo hidroxifenólico durante la conversión de las polihidroquinonas (averufinas, acetato de versiconal y versicolorina A) a una xantona : la esterigmatocistina.

Durante la biogénesis del poliquétido precursor ocurre la desoxigenación antes que la aromatización del mismo.

Cabe mencionar que se conocen algunos estudios que reportan cepas o razas de *Aspergillus flavus* que producen solamente Aflatoxina G1 ó G2 y otras que al parecer solo producen B1 ó B2. Sin embargo, en el esquema de la ruta de Simpson (1977), la aflatoxina G1 se deriva de la B1 y el parasiticol. de la G1.

Zearalenona.

La estructura de la zearalenona (Fig. 2) indica una ruta biosintética que implica nueve unidades de acetato condensadas a lo largo del hongo, o por la acetato- malonil- coenzima A (poliquétido).

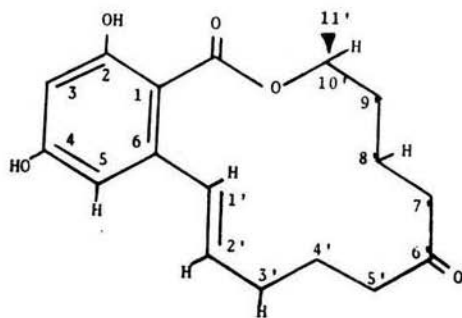


Fig. 2. Estructura química de la zearalenona. (Mirocha y Christensen, 1983).

En la Fig. 4 se ilustran las dos vías posibles para la biosíntesis de la zearalenona. Una, derivada de la condensación de nueve unidades de acetato desde la cabeza hasta la cola del hongo (ruta A) y la segunda, la de un octaquétido intermedio (derivado de 8 unidades de acetato) con CO_2 incorporado por carboxilación directa y un grupo metil en el carbono 1 (C-11) proveniente de un donador, que podría ser la metionina (ruta B) (Mirocha y Pathre, 1979).

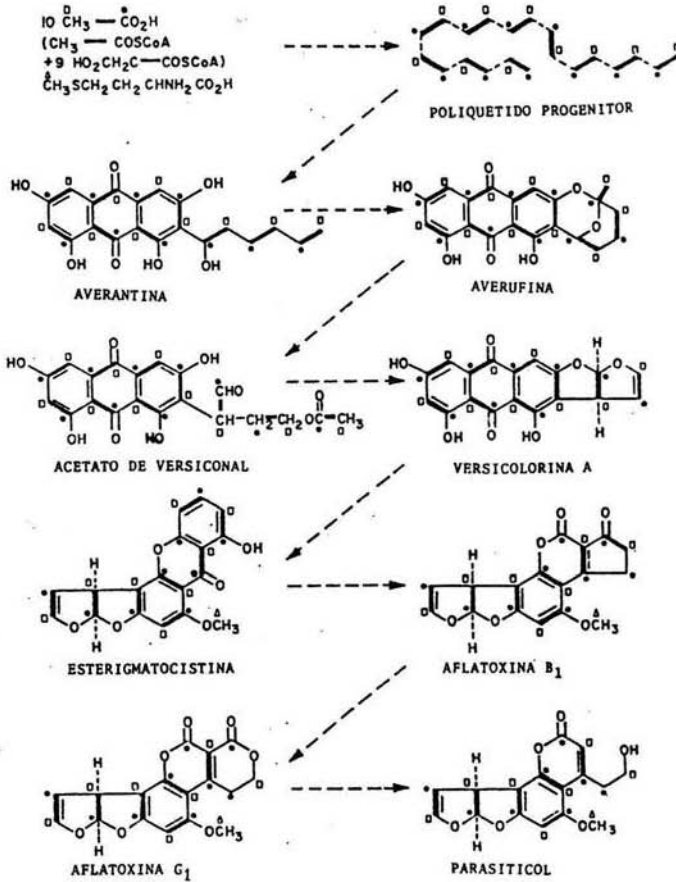


Fig. 3. Ruta biosintética de las aflatoxinas propuesta por Simpson, 1977. (Tomada de Steyn *et al.*, 1980).

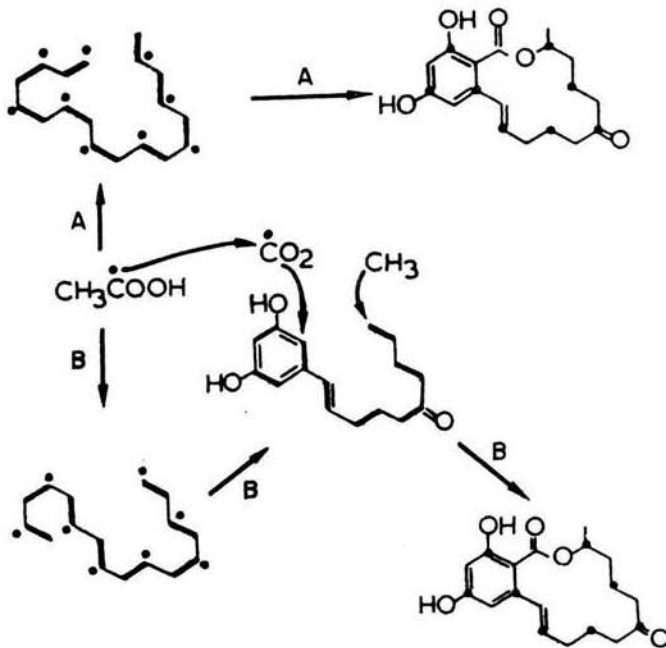


Fig. 4 . Biosíntesis de la zeaxenona. A) A partir de la condensación de 9 unidades de acetato . B) A partir de un octaquéido intermedio derivado de 8 unidades de acetato y de la carboxilación directa del C-12 y de la metilación del C-11 (Mi-rocha y Paltre, 1979) .

c) Daños causados en animales y el hombre .

La contaminación por micotoxinas en los alimentos tanto para animales para explotación pecuaria, como para el ser humano, representa un grave problema, debido al efecto dañino que causan en el organismo que las consume. Prueba de ello es la aflatoxicosis animal ocurrida en México durante el periodo de 1932 a 1979 de acuerdo con el trabajo de Campos - Nieto y Robledo (1979), en donde los efectos de las aflatoxinas en cerdos fueron, inapetencia, fiebre, edemas y síndrome hemorrágico; en caballos, congestión y coloración café amarillenta en el hígado, hemorragias en diversos órganos internos, congestión e ictericia de las mucosas e inmovilidad. En las aves se manifestó notable reducción de peso erizamiento de plumas, incoordinación de movimientos, nodulaciones hepáticas, diarreas y contaminación del huevo. También hubo casos de aborto en vacas.

Se conocen cuatro categorías de los efectos biológicos de las aflatoxinas: daño agudo y crónico al hígado, reducción de su tasa de crecimiento, deterioro de los mecanismos inmunológicos naturales y efectos carcinogénicos y teratógenos (Patterson, 1976; Wogan, 1969).

El efecto cancerígeno de las aflatoxinas a largo plazo ha sido comprobado en condiciones experimentales por primera vez en 1961, por Lancaster *et al.*, quienes alimentaron con cacahuates contaminados por dicha micotoxina a roedores durante seis meses, siendo verificados esos resultados al año siguiente por Le Breton

et al., 1962.

Carnaghan (1964), trabajó con patos, alimentándolos durante seis meses con productos alimenticios que contenían 0.5% de toxina, demostró así el desarrollo del carcinoma hepático.

Di Paolo *et al.* (1967), demostraron que las aflatoxinas, además de ser fuertes cancerígenos tienen efectos teratógenos, al ser aplicadas en forma experimental a hembras preñadas de roedor. Más adelante, en 1981, Arora y colaboradores comprobaron este efecto de las aflatoxinas, suministrándolas de manera oral a ratas preñadas, observando como resultado que son capaces de atravesar la placenta. Al respecto, Pier, *et al.* (1985 a), estudiaron este efecto en cerdas preñadas, a las cuales les proporcionaron una dosis de 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxina B1 durante las dos últimas semanas del periodo de gestación; así comprobaron que las aflatoxinas atraviesan la placenta, al encontrar residuos de ellas en el hígado de los cerditos recién nacidos, así como un bajo nivel proteínico y un bajo índice de sobrevivencia. Estos investigadores afirmaron que el efecto que causan en el timo y en las células mediadoras del sistema inmunológico son evidencia de que estas toxinas son inmunosupresoras.

Los síntomas primarios de la aflatoxicosis son la pérdida de peso y la elevación de la actividad enzimática por necrosis hepática. El daño agudo se caracteriza por el agrandamiento y palidez del hígado y posterior hemorragia del mismo. Las lesiones crónicas son: opacamiento y endurecimiento del hígado, así como la formación de nódulos hiperplásicos.

Austwick (1965), reportó que los cambios histológicos característicos de la aflatoxicosis se debe a la proliferación de células del epitelio en el conducto biliar. La supresión de la actividad inmunológica ha sido descrita por Pier y Mc Loughlin (1985 b), diciendo que las aflatoxinas se unen al ADN, suprimen la formación de ARN y de esta manera se interfiere la transcripción. Se ha demostrado que merman la inmunogénesis pero no suprimen la formación de anticuerpos.

En poblaciones humanas, particularmente en Africa y el Sureste de Asia, se han realizado investigaciones relacionando la alta incidencia de cáncer hepático y la ingestión diaria de alimentos contaminados con la mencionada toxina, de 1964 a 1970.

En la India, (Sen, 1887) se han presentado casos de cirrosis infantil, cuyos síntomas son: infiltración grasa de células hepáticas con degeneración posterior, fibrosis e ictericia, coma hepático y ascitis en los casos avanzados.

En el caso de los niños que sufrieron la misma enfermedad (Amla, *et al.*, 1971), se descubrió que cada uno recibió por coincidencia, como complemento proteínico de 30 a 60 g de harina de cacahuete al día. Estos pequeños de entre 1.5 y 5 años de edad, tomaron el suplemento dietético de 5 a 30 días de los cuales se descubrió que el polvo de cacahuete contenía 300 microgramos de aflatoxinas por kilogramo: 18 de estos niños fueron atendidos por sufrir caída de la piel producida por avitaminosis, un niño, por necrosis y sólo otro resultó normal. Dos meses después de haber dejado de ingerir el polvo de

cacahuete, hubo infiltración grasa y necrosis focal; a los tres meses después, se evidenció la fibrosis perilobular y, a los diez meses se observó necrosis focal y proliferación de los ductos biliares.

En marzo de 1967, en Taiwán 26 personas sufrieron intoxicación, al consumir arroz infestado por hongos (Ling, *et al.*, 1967).

Siete adultos únicamente presentaron una enfermedad pasajera, pero los 19 niños afectados sufrieron, además de daños en las extremidades inferiores, dolor abdominal, hígado palpable y vómito; tres de ellos, de entre 4 y 6 años, murieron a las 6.5 horas de haber transcurrido los síntomas de mayor enfermedad.

En Uganda (Serck-Hanssen, 1970), tres meses después de lo sucedido en Taiwán, se intoxicaron tres niños de 3, 6 y 15 años; los síntomas subsecuentes fueron iguales a los observados anteriormente, aunque los dos menores sanaron, el mayor murió 6 días después de los primeros síntomas.

En el noreste de Tailandia (Bourgeois, *et al.*, 1971), se conoce como síndrome de Reye (Reye, *et al.*, 1973) a la enfermedad epidémica de niños y adolescentes (Bourgeois, *et al.*, 1969; Olson, *et al.*, 1971) cuyas características son : vómito, hipoglucemia, convulsiones, estado de coma y después de 24 a 48 horas, la muerte causada por edema cerebral, acumulación grasa extensiva en hepatocitos y epitelio del tubo renal, de esto, existen evidencias de que las aflatoxinas parecen ser las causantes.

En los casos de Taiwán, el alimento contaminado contenía 1700 microgramos de aflatoxina por kilogramo de alimento. En la mayoría de los casos del síndrome de Reye, las aflatoxinas encontradas fueron la B1 y la B2 en niveles de 1 a 4 microgramos por kilogramo (Wyllie y Morehouse, 1978).

La zearalenona es una toxina importante para la salud de ciertos animales y probablemente para el hombre (Palti, 1978). El blanco de la zearalenona en el sistema orgánico es el tracto reproductivo femenino. El cerdo es la especie más frecuentemente afectada, aunque hay evidencia de que otros animales de explotación pecuaria son igualmente afectados. Sin embargo, va es conocido el efecto letal y la respuesta mínima del efecto tóxico de la zearalenona en células humanas (HeLa); no obstante, ésta es menos agresiva que las aflatoxinas (Carvajal, *et al.*, 1988).

La zearalenona se ha detectado en maíz, cacahuete, trigo, sorgo, cebada, avena y germen de trigo, entre otros.

El efecto estrogénico de estas micotoxinas, ha sido observado y experimentado por varios autores (Mirocha y Christensen, 1983; Christensen, *et al.*, 1975; Harold, *et al.*, 1969; Rosiles y López, 1977) en animales de granja y en roedores: en ratas adultas, produce cornificación de la vagina como sucede de manera natural en estado de estro, pero también tiene un efecto antiespermático y anabólico (Christensen, *et al.*, 1975).

Se ha observado que los cerdos son los animales más sensibles y por lo tanto, los más afectados por la toxicidad de la zearalenona (Mirocha y Christensen, 1983).

En hembras de cerdos, el estrogenismo provoca aumento en el tamaño de la vulva, prolapso vaginal y en el caso de cerdas vírgenes, los cambios han sido proliferativos y degenerativos, previos a su muerte (Harold, *et al.*, 1969; Rosiles y López, 1977), así como diversos grados de desarrollo de las glándulas mamarias, en recién nacidas.

Al morir, se observó un enrojecimiento de los labios vulvares y de la mucosa vaginal, así como un exudado turbio blanquecino y vasos sanguíneos hiperhémicos; aunque en cervix, la congestión de sangre en los vasos sanguíneos es muy escasa (Rosiles y López, 1977).

A nivel de tejido de la mucosa vaginal, se encontró un engrosamiento del epitelio; algunas células presentan degeneración vacuolar y desprendimiento de la capa de células estratificadas (Villalobos y Doporto, 1974). De acuerdo con Chang *et al.* (1979), en cerdas preñadas puede causar reducción de tamaño del lechón, sin llegar al aborto, o causar infertilidad o prolongación del estro.

El efecto en los machos, son la hinchazón del prepucio y del escroto y, disminución de la libido (Rosiles y López, 1977) y en los más jóvenes, desde el alargamiento de las glándulas mamarias, hasta la atrofia de los testículos (Mirocha y Christensen, 1983). El estrogenismo en los cerdos se presenta con mayor frecuencia en el invierno y principio de la primavera, dado que el hongo que produce la zearalenona requiere de un periodo de temperatura relativamente bajo para la producción de la toxina (Christensen y

Kaufmann, 1969).

d) Aflatoxinas y Zearalenona en el cultivo del cacahuate.

El cacahuate, Arachis hypogaea L. es una planta leguminosa autopolinizadora, anual y herbácea. Se considera extraordinaria, porque las flores permanecen vivas y las vainas que contienen de una a cinco almendras comestibles, se producen bajo el suelo.

Desde su estado inmaduro o totalmente maduras, sus semillas, en una vaina, son comestibles, tanto crudas como preparadas.

Las semillas de cacahuate son ricas en calorías y contienen el 25% de proteína, pueden consumirse hervidas, asadas, tostadas, fritas, como crema o mantequilla de cacahuate.

Un gran porcentaje de la producción mundial es usada generalmente para extraer aceite comestible.

Park, et al. (1981), indicaron que la presencia de micotoxinas en alimentos como maíz, trigo, avena, cacahuate, mijo, y sorgo, entre otros granos, son el resultado de la contaminación fungal antes de la cosecha, durante ésta o en el almacenamiento. Consideraron a los géneros Aspergillus y Fusarium hongos de campo y de almacén porque invaden estos productos agrícolas antes y después de la cosecha, y tienen la característica de desarrollarse sobre granos y semillas con escaso contenido de humedad como el cacahuate, cártamo, y en semillas de girasol; Aspergillus crece en equilibrio con una humedad relativa de 80 a 85% del almacén, silo o granero.

De acuerdo con Palti, 1978, la producción de zearalenona por Fusarium puede ocurrir al igual que otras micotoxinas incluyendo las aflatoxinas (en maíz) a temperaturas de 6 a 18 grados C.

La contaminación por aflatoxinas, producidas por los hongos Aspergillus flavus Link y A. parasiticus Speare, sucede en todo el mundo. Sin embargo, es mayor en las regiones subtropicales y tropicales (Porter, et al., 1984).

El crecimiento del moho verde amarillento y la contaminación del cacahuate por aflatoxinas se inicia durante el desarrollo de las plántulas; más adelante en vainas, semillas y granos en el suelo cerca de la época de cosecha, o bien sobre vainas y semillas durante la cosecha o en el almacenamiento (Pettit, 1984).

El grupo de hongos al cual pertenece A. flavus son parásitos facultativos que invaden tejidos de plantas, predispuestas por falta de humedad, daños por insectos, nemátodos y daños climáticos durante la cosecha.

La presencia de moho amarillo, relacionado con la contaminación por aflatoxinas se ha reportado en cacahuate, maíz, semillas de algodón, semillas de pimienta, coco, pistache, nuez de Brasil y en menor incidencia en frijol soya, granos de sorgo, arroz, mijo, centeno, trigo, nueces, almendras, cebada y avena.

La extensión de daños por el moho y la contaminación por aflatoxinas se debe a las condiciones ambientales y por malas prácticas de producción, cosecha y manipulación durante el almacenamiento.

3.- Síntomas de infección por Aspergillus flavus y A. parasiticus.

El moho se muestra principalmente como manchas sobre los cotiledones de las plántulas recién emergidas. Estas manchas se van cubriendo con masas de esporangios de color amarillo-verde características de los hongos. La infección se propaga a la radícula emergente y al hipocotiledón, causando lesiones necróticas.

Las toxinas producidas por los hongos, se traslocan a las plantas mediante la transpiración. Las plantas infectadas, generalmente se achaparran y presentan clorosis venal de las hojillas y carecen de raíces secundarias, condición conocida como "afla-raiz."

La mayoría de las plántulas infectadas y recubiertas de moho verde amarillento surgen y persisten si las condiciones son favorables.

Las plantas que han permanecido bajo sequía durante semanas, se recuperarán difícilmente si son invadidas por el hongo.

El uso de semillas de alta calidad tratadas con fungicidas minimizan grandemente la severidad de este ataque.

El moho verde amarillento, puede encontrarse en el suelo antes de que las vainas y semillas se entierren.

Las plantas más susceptibles al desarrollo de Aspergillus, son las que han padecido sequía durante dos o tres semanas, al igual que las vainas y semillas sobremaduras o que han sufrido daños

que permitan la entrada de los hongos.

Una vez invadidas las vainas los hongos crecen sobre las semillas y entre los cotiledones donde se han localizado hifas, aunque para ello se ha requerido abrir las vainas cuando las lesiones no son aparentes. Las semillas que han sido invadidas desarrollan una coloración de amarillo a café y son mucho más ligeras que las semillas sanas en el mismo estado de madurez (Pettit, 1984).

OBJETIVOS

Debido a sus versátiles formas de preparación y presentación, y a su bajo costo, el cacahuete es consumido por gran parte de la población mexicana; una vez habiendo conocido la importancia que tienen las micotoxinas, dada la sintomatología que ocasionan en animales y el hombre, se hace primordial el conocimiento de la calidad de este producto ya que la presencia de estas sustancias representa un potencial tóxico y cancerígeno.

Los objetivos de la presente tesis son:

- 1.- Detectar la presencia de aflatoxinas y zearalenona en cacahuete natural y productos derivados de consumo popular en la Ciudad de México, mediante extracción química.
- 2.- Cuantificar las micotoxinas presentes en los productos contaminados, por 2 métodos: cromatografía de capa fina y columnas monoclonales.

MATERIALES Y METODOS**I.- Muestras trabajadas y forma de muestreo.**

Para este trabajo se usaron diferentes presentaciones de cacahuete y subproductos, que fueron: cacahuete frito y salado (Mafer, Sabritas, El Supremo, Samurai, Distribuidora Comercial, Barcel, Nishikawua y sin marca); cacahuete frito, salado y enchilado (Mafer, Sabritas, El Supremo, Karate, Nipón y a granel); cacahuete estilo japónes (Karate, Nipón, Sabritas, Nishikawa, y Mafer); cacahuete tostado y sazonado (Mafer); cacahuete tostado al natural con cáscara (a granel); cacahuete garapiñado (El Supremo, Distribuidora Comercial, Tirado, sin marca o a granel); palanqueta de cacahuete (Mafer y Martín); crema de cacahuete cremosa (Aladino); crema de cacahuete dulce (Aladino); crema de cacahuete con trocitos (Aladino); mazapán (La Rosa, Sol y Cerezo); chocolate relleno de crema de cacahuete (Zam Fre); crocante de cacahuete con chocolate (Almon Rís); oblea de cacahuete con chocolate (Tin Larín).

La obtención de las muestras se realizó en diez y seis expendios de la Ciudad de México, en las colonias: Del Valle, Narvarte, Roma, Centro, Ex-Hipódromo de Peralvillo, Sta. María la Ribera, San Fernando, Lindavista, Hidalgo y la Ciudad Universitaria (C.U.) durante los meses de abril a junio de 1988, con un total de 131 muestras (Tabla 1).

Tabla 1: Localización de expendios, marcas y tipos de muestras.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
1	1	Mafer	Enchilado	Minisuper "Del Valle" G. Mancera 134 Col. del Valle
1	2	Sabritas	Enchilado	Centro Comercial Fertimex. Morena 813 Col. Narvarte
1	3	El Supremo	Enchilado	Minisuper "Del Valle" G. Mancera 134 Col. del Valle
1	4	Mafer	Enchilado	Abarrotes "Santa María" Sta. Ma. la Ribera 730 Col. Sta. Ma. la Ribera
1	5	Mafer	Enchilado	Abarrotes "San Juan" Obrero Mundial 273 Col. del Valle
2	6	Mafer	Tostado y sazonado	Super Lindavista, S.A Montevideo 90 Col. Industrial V.
2	7	Mafer	Tostado y sazonado	Super Lindavista, S.A. Montevideo 90 Col. Industrial V.
2	8	Mafer	Tostado y sazonado	Super Lindavista, S.A. Montevideo 90 Col. Industrial V.
2	9	Mafer	Tostado y sazonado	Abarrotes "La Gua- dalupana". Xola 964 Local "E". Narvarte
2	10	Mafer	Tostado y sazonado	Abarrotes "La Gua- dalupana". Xola 964 Local "E". Narvarte
3	11	Natural	Tostado con cáscara	Mercado "Lindavista"
3	12	Natural	Tostado con cáscara	Mercado "Lindavista"

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
3	13	Natural	Tostado con cáscara	Mercado "Bugambilia" Sta. Ma. La Ribera.
3	14	Natural	Tostado con cáscara	Mercado "Bugambilia" Sta. Ma. La Ribera.
3	15	Natural	Tostado con cáscara	Mercado "Bugambilia" Sta. Ma. La Ribera.
4	16	Aladino	Crema de cacahuate con trocitos	CONASUPO "Hospital General". Av. Cuauhtémoc y M. A. Ansa. Col. Roma.
4	17	Aladino	Crema de cacahuate cremosa	Super Lindavista, S.A. Montevideo No. 90 Col. Industrial V.
4	18	Aladino	Crema de cacahuate dulce	CONASUPO "Hospital General" Av. Cuauhtémoc y M. A. Ansa. Col. Roma.
4	19	Aladino	Crema de cacahuate con trocitos	Comercial Fertimex. La Morena 813. Col. Narvarte.
4	20	Aladino	Crema de cacahuate cremosa	Comercial Fertimex. La Morena 813. Col. Narvarte.
5	21	Cerezo	Mazapán	Mercado sobre ruedas Obrero Mundial. Col. Narvarte.
5	22	Cerezo	Mazapán	Mercado sobre ruedas Obrero Mundial. Col. Narvarte.
5	23	Mafer	Mazapán	Super Lindavista, S.A. Montevideo No. 90. Col. Industrial V.
5	24	Mafer	Mazapán	Super Lindavista, S.A. Montevideo No. 90 Col. Industrial V.
5	25	De la Rosa	Mazapán	Venta ambulante. Metro Universidad

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
6	26	Karate	Cacahuate japonés	Abarrotes "Sta. María" Sta. Ma. la Ribera 73 Col. Sta. Ma. la Ribera
6	27	Nishikawa	Cacahuate japonés	Abarrotes "San Juan" Obrero Mundial 273. Col. Del Valle.
6	28	Nishikawa	Cacahuate japonés	Abarrotes "La Guadalupeana". Xola 964 Local "E". Narvarte.
6	29	Nishikawa	Cacahuate japonés	Minisuper "Del Valle" Gabriel Mancera 134 Col. del Valle.
6	30	Nishikawa	Cacahuate japonés	Venta ambulante. Metro Universidad.
7	31	Samurai	Cacahuate salado	Super Lindavista, S.A. Montevideo No. 90 Col. Industrial V.
7	32	Distribuidora Comercial	Cacahuate salado	Farmacia "Amores" Amores 249. Col. Del Valle.
7	33	Distribuidora Comercial	Cacahuate salado	Farmacia "Amores" Amores 249. Col. Del Valle.
7	34	Sabritas	Cacahuate salado	Vinatería "La Copa de Oro". Enrique Granados 97. Col. Ex-Hipódromo de P.
7	35	Sabritas	Cacahuate salado	Vinatería "La Copa de Oro". Enrique Granados 97. Col. Ex-Hipódromo de P.
8	36	Samurai	Cacahuate salado	Super Lindavista, S.A. Montevideo No. 90 Col. Industrial V.
8	37	Mafer	Cacahuate salado	Dulcería "Seleкта" Romero de Terreros 822 Col. Del Valle.

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
8	38	Sabritas	Cacahuate salado	Vinatería "La Copa de Oro". Enrique Granados 97. Col. Ex-Hipódromo de P.
8	38	Sabritas	Cacahuate salado	Vinatería "La Copa de Oro". Enrique Granados 97. Col. Ex-Hipódromo de P.
8	39	Sabritas	Cacahuate salado	Vinatería "La Copa de Oro". Enrique Granados 97. Col. Ex-Hipódromo de P.
8	40	Barcel	Cacahuate salado	Vinatería "La Copa de Oro". Enrique Granados 97. Col. Ex-Hipódromo de P.
9	41	Barcel	Cacahuate salado	Miscelánea "Carlos". Romero de Terreros 924. Col. Del valle
9	42	Sin marca (en bolsa)	Cacahuate salado	Cine Mariscal. Eje Central Lázaro Cárdenas No. 23.
9	43	Mafer	Cacahuate salado	Minisuper "Del Valle" Gabriel Mancera 134 Col. Del Valle.
9	44	El Supremo	Cacahuate salado	Minisuper "Del Valle" Gabriel Mancera 134 Col. Del Valle.
9	45	Nishikawa	Cacahuate salado	Facultad de Veterinaria, U.N.A.M.
10	46	Sin marca (a granel)	Cacahuate enchilado	Cine Mariscal. Eje Central Lázaro Cárdenas No. 23.
10	47	Sin marca (a granel)	Cacahuate enchilado	Cine Mariscal. Eje Central Lázaro Cárdenas No. 23.

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
10	48	Sin marca (a granel)	Cacahuete enchilado	Cine México. Av. Cuauhtémoc
10	49	Karate	Cacahuete enchilado	Dulcería "Selekta". Romero de Terreros 822. Col. Del Valle.
10	50	Mafer	Cacahuete enchilado	Dulcería "Selekta". Romero de Terreros 822. Col. Del Valle.
11	51	Sin marca (a granel)	Cacahuete garapiñado	Mercado sobre ruedas Obrero Mundial. Col. Del Valle.
11	52	El Supremo	Cacahuete garapiñado	Minisuper "Del Valle". Gabriel Mancera 134. Col. Del Valle.
11	53	Distribuidora Comercial	Cacahuete garapiñado	Farmacia "Amores, S.A." Amores 249. Col. Del Valle.
11	54	Sin marca (con envoltura)	Cacahuete garapiñado	Cine México. Av. Cuauhtémoc
11	55	El Supremo	Cacahuete garapiñado	Minisuper "Del Valle". Gabriel Mancera 134. Col. Del Valle.
12	56	Tirado	Cacahuete garapiñado	Tienda U.N.A.M. C.U.
12	57	Sin marca (con envoltura)	Cacahuete garapiñado	Cine México. Av. Cuauhtémoc
12	58	Sin marca (con envoltura)	Cacahuete garapiñado	Cine México. Av. Cuauhtémoc
12	59	Sin marca (con envoltura)	Cacahuete garapiñado	Cine México. Av. Cuauhtémoc
12	60	Sin marca (con envoltura)	Cacahuete garapiñado	Cine Mariscala Eje Central Lázaro Cárdenas No. 23

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
13	61	Mafer	Cacahuate tostado, sazonado.	Vinatería "La Copa de Oro". Enrique Granados 97. Ex-Hipódromo de P.
13	62	Mafer	Cacahuate tostado, sazonado.	Abarrotes "Sta. Maria" Sta. Ma. la Ribera 73 Col. Sta. Ma. la Ribera
13	63	Mafer	Cacahuate tostado, sazonado.	Abarrotes "Sta. Maria" Sta. Ma. la Ribera 73 Col. Sta. Ma. la Ribera
13	64	Mafer	Cacahuate tostado, sazonado.	Miscelánea "Sn. Fernando". Insurgentes Sur 7832. Sn. Fernando.
13	65	Mafer	Cacahuate tostado, sazonado.	Miscelánea "Sn. Fernando". Insurgentes Sur 7832. Sn. Fernando.
14	66	Mafer	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
14	67	Mafer	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
14	68	Mafer	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
14	69	Mafer	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
14	70	Mafer	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
15	71	Martin	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
15	72	Martin	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
15	73	Martin	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
15	74	Martin	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
15	75	Martin	Palanqueta	Tienda U.N.A.M., C.U.
16	76	Mafer	Palanqueta	Fac. Veterinaria, C.U.
16	77	Mafer	Palanqueta	Fac. Veterinaria, C.U.
16	78	Mafer	Palanqueta	Fac. Veterinaria, C.U.
16	79	Mafer	Palanqueta	Fac. Veterinaria, C.U.

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
16	80	Mafer	Palanqueta	Fac.Veterinaria, C.U.
17	81	Granvita	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
17	82	Granilda	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
17	83	Granvita	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
17	84	Sat Nam	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
17	85	Granilda	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
18	86	Granvita	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
18	87	Sat Nam	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
18	88	Granilda	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
18	89	Sat Nam	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
18	90	Granilda	Granola	Tienda U.N.A.M., C.U.
19	91	Aladino	Crema de cacahuete, cremosa.	Tienda CONASEP, Villa Olímpica. D.F.
19	92	Aladino	Crema de cacahuete, cremosa.	Tienda U.N.A.M., C.U.
19	93	Aladino	Crema de cacahuete, dulce	Tienda U.N.A.M., C.U.
19	94	Aladino	Crema de cacahuete, dulce	Tienda U.N.A.M., C.U.
19	95	Aladino	Crema de cacahuete con trocitos.	Tienda U.N.A.M., C.U.
20	96	Zam Fre	Chocolate relleno de crema de cacahuete.	Tienda U.N.A.M., C.U.
21	97	La Rosa	Mazapán	Miscelánea "Sn.Fernando". Insurgentes Sur 7832.Col.Sn.Fernando

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
21	98	La Rosa	Mazapán	Abarrotes "Sta. María" Sta. Ma. la Ribera 73 Col. Sta. Ma. la Ribera
21	99	Sol	Mazapán	Venta ambulante, Metro Universidad.
21	100	Cerezo	Mazapán	Fac. Veterinaria, C.U.
21	101	Sol	Mazapán	Venta ambulante, Metro C.U.
22	102	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
22	103	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
22	104	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
22	105	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
22	106	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
22	107	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
23	108	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
23	109	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
23	110	Almon Rís Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
23	111	Almon Ris Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
23	112	Almon Ris Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
23	113	Almon Ris Larín.	Crocante de cacahuete con chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
24	114	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
24	115	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
24	116	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
24	117	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
24	118	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
24	119	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
25	120	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
25	121	Tin Larín	Oblea con cacahuete y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.

Tabla 1: Continuación.

Grupo Muestral	No. muestra	Marca	Tipo	Expendio y Dirección
25	122	Tin Larín	Oblea con cacahuate y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
25	123	Tin Larín	Oblea con cacahuate y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
25	124	Tin Larín	Oblea con cacahuate y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
25	125	Tin Larín	Oblea con cacahuate y chocolate.	Tienda U.N.A.M., C.U.
26	126	Origen: Tierra Blanca, Ver.	Cacahuate natural, tostado.	Mercado "Bugambilia". (Bugambilia y Mariano Azuela) Col. Sta. Ma.
--	127	Sabritas	Cacahuate salado.	Tienda CONASEP, Villa Olimpica. D.F.
--	128	Mafer	Cacahuate japonés	Super Lindavista, S.A. Montevideo No.90 Col. Industrial V.
--	129	Sabritas	Cacahuate	Super Lindavista, S.A. Montevideo No.90, Col. Industrial V.
--	130	Nipón	Salado	Minisuper "Del Valle". Gabriel Mancera 134. Col. Del Valle.
--	131	Enchilado	Nipón	Tienda CONASEP, Villa Olimpica. D.F.

=====

II.- Análisis de las micotoxinas.

El análisis de las muestras se realizó en los laboratorios de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y el de Fitopatología del Instituto de Biología de la U.N.A.M.

Todos los productos (en paquete, envase o a granel) fueron seleccionados al azar, formando con ellos 26 grupos muestrales de 5 muestras diferentes de 10 g cada una, es decir, que cada grupo muestral pesó 50 g en total, excepto el grupo de chocolate relleno de crema de cacahuete (75 g) y dos grupos de Tin Larín (48 y 51 g). Posteriormente, los grupos muestrales que resultaron con manchas fluorescentes, se analizaron por separado cada una de las muestras individuales que los componían (Tabla 2) utilizando, para ello 25 g del producto.

Con el objeto de identificar las micotoxinas presentes en los cacahuates naturales y en los productos elaborados con cacahuete, se eligieron los métodos de extracción de Thomas *et al.* (1975), dado que presenta como principal ventaja el ser rápido y específico para la detección de aflatoxinas y zearalenona, y el de Aflatest que es a base de columnas monoclonales. Para la cuantificación de las micotoxinas se emplearon dos técnicas: la de Aflatest, que permite la determinación directa en el extracto de la muestra contaminada por aflatoxinas, representada en ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en una lectura digital y, en el caso de la zearalenona se calculó, en ppb, por cromatografía de capa fina.

a) Método de Thomas, F., Eppley, R.M. and Trucksess, M.W. 1975,
por cromatografía de capa fina (Fig. 5)

- 1.- Se licuaron 25 g de cacahuate natural o procesado, con una solución de metanol-agua (120:80 v/v), a alta velocidad durante dos minutos.
- 2.- Este licuado se filtró a través de papel filtro Whatman No. 4 y se colectaron 125 ml del filtrado en un embudo de separación de 250 ml.
- 3.- Se adicionaron 15 ml de una solución saturada de cloruro de sodio previamente preparada, más 25 ml de hexano, al embudo de separación (con el filtrado colectado); se agitó durante un minuto, dejando escapar los gases producidos por la agitación para evitar demasiada presión dentro del embudo.
- 4.- Se dejó reposar hasta que se separaron las fases. Después, la fase inferior que contenía los solventes orgánicos se aisló de la superior acuosa. Se desechó la fase superior y se regresó al embudo la fase inferior.
- 5.- Para realizar la extracción de las micotoxinas del metanol acuoso, se añadieron 25 ml de cloroformo, se agitó y se liberaron los gases.
- 6.- Después de que se separaron las fases, la inferior que tenía el cloroformo y las micotoxinas, se transfirió a un matraz de 250 ml al cual se había colocado 2.5 g de carbonato cúprico con el objeto de precipitar los pigmentos, se agitó para mezclar perfectamente. Se dejó asentar el carbonato cúprico.
- 7.- En un embudo con papel filtro No. 2, se colocaron 5 g de sulfato de sodio anhidro, y a través de él se decantó el extracto que contenía el carbonato cúprico asentado y este filtrado se colectó en un matraz de 125 ml, previamente etiquetado.

El carbonato cúprico se lavó nuevamente con 25 ml de cloroformo; se decantó a través del mismo embudo con sulfato de sodio anhidro y se colectó en el mismo matraz etiquetado.

- 8.- Se procedió a evaporar el extracto colectado hasta tener 1 ml aproximadamente. Se transfirió a un frasco vial y se dejó evaporar hasta la sequedad. La estufa se mantuvo en una temperatura máxima de 40°C.

- 9.- El extracto del vial, se resuspendió con 200 microlitros de metanol o cloruro de metileno y se agitó con un vortex por un minuto.
- 10.- Posteriormente, se desarrolló la cromatografía de capa fina, cuya técnica se describe a continuación, y se observó la placa resultante bajo luz ultravioleta de onda corta; de esta forma se acentuó la fluorescencia de las aflatoxinas y la zearalenona.

A cada mancha fluorescente se observó, se le calculó el Rf y se comparó con el de los estándares de micotoxinas puras.

b) Cromatografía de capa fina.

Es una técnica rápida y sencilla basada en el principio de difusión de una muestra líquida por entre los intersticios de una fase estacionaria dando lugar a una migración diferencial de los componentes de la muestra (Peckoc y Shields, 1983). Se considera como ventaja el empleo de muestras muy pequeñas.

c) Preparación de las placas para la cromatografía de capa fina.

Se emplearon vidrios lisos de 20x20 cm, de un grosor de 3 mm, perfectamente limpios y secos; para ello se lavaron con detergente y se enjuagaron con agua.

Los vidrios se colocaron en un soporte de placas y cada uno de ellos se limpió con un solvente orgánico para eliminar cualquier impureza de la superficie.

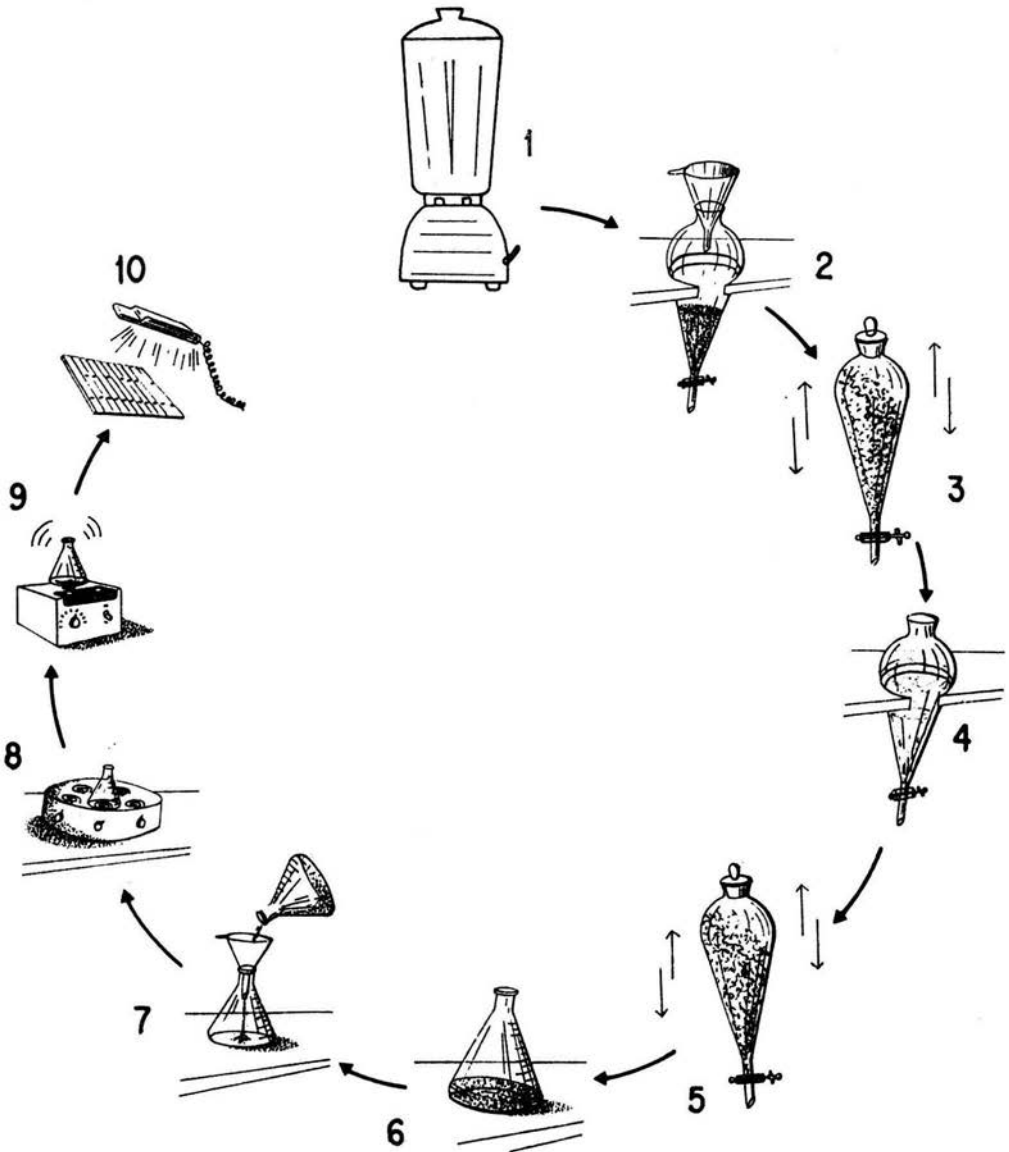


Fig. 5 .Método de Thomas et al. (1975), (tomado de Pereda, 1988).

d) Preparación del gel de sílice.

A 30 g de gel de sílice, se adicionaron 70 ml de agua destilada, se agitaron durante 10 minutos en un mortero hasta obtener una mezcla de consistencia viscosa. Se dejó reposar la mezcla 10 minutos. Después, se vació el gel mezclado en un aplicador metálico que una vez lleno se deslizó sobre los vidrios en el soporte, procurando que este movimiento fuera uniforme para que la capa del gel también lo fuera. Se dejaron fraguar las placas de 20 a 30 minutos antes de meterlas a un horno de secado; de esta manera se activaron las placas, mismas que al no ser utilizadas de inmediato, se tuvieron que colocar en un desecador para evitar que absorbieran algún vapor o sustancia líquida del ambiente.

e) Aplicación de estándares y muestras en las placas cromatográficas.

A las placas activadas se les trazaron líneas paralelas que formaban carriles de 1 cm de ancho aproximadamente.

En un extremo de los carriles se marcó otra línea perpendicular a una distancia de 3 cm del borde, para colocar en esos puntos de intersección las alícuotas de los extractos y de los estándares al mismo nivel, con el objeto de que en cada carril se tuviera el mismo punto de

partida.

En la parte superior de cada carril se colocaron claves específicas para distinguir la muestra o bien si era un estándar.

Empleando una micropipeta se tomaron 50 microlitros de cada uno de los extractos previamente resuspendidos con 200 microlitros de cloruro de metileno, se agitaron durante un minuto en un vortex, y se colocaron gota a gota dejando secar cada una para que la mancha que se forme sea lo más pequeña posible y no invada otro carril.

De la misma manera se colocaron 50 microlitros de cada uno de los estándares (aflatoxina B1, B2, G1, G2 y zearalenona) para comparar posteriormente su fluorescencia con la de los extractos.

La siguiente operación consistió en colocar la placa dentro de una cámara de cromatografía con el eluyente, cuidando que este último no llegara al lugar de aplicación de muestras y de estándares. El eluyente se preparó con 20 ml de acetona, 40 ml de acetato de etilo y 60 ml de tolueno. El eluyente, ascendió por capilaridad hasta una distancia de 17 cm; se sacó entonces la placa dejándola secar antes de observarla bajo una luz ultravioleta de onda corta. Todas las manchas fluorescentes se marcaron en el lugar donde aparecieron para calcular posteriormente su Velocidad de Flujo (Factor de Retardación) (Rf) de acuerdo con Fieser y Fieser (1964).

f) Cálculo de la Velocidad de flujo (Factor de Retardación) (Rf).

La velocidad de flujo o factor de retardación se calcula sobre el cromatograma y se hace de manera individual en cada una de las manchas. El Rf es la relación del recorrido del soluto entre el recorrido del solvente.

Fieser y Fieser, (1964), definen al Rf como la velocidad de flujo (rate flow)

$$Rf = A/B$$

donde, A, es la distancia recorrida por el soluto problema o estándar a probar y B, la distancia recorrida por el solvente.

Las distancias se midieron desde el punto de aplicación de la muestra o estándar hasta la localización de la mancha fluorescente, y este valor fué dividido entre la distancia al límite del solvente.

g) Cuantificación de las micotoxinas en placas de cromatografía (FAO, 1990).

Cálculo.

$$\text{ppb ó microgramos/kg} = \frac{(S)(Y)(V)}{(X)(W)}$$

siendo, S, los microlitros de estándar de aflatoxina o zearalenona aplicados en la mancha control, con la cual se comparó la muestra; Y, la concentración del estándar de micotoxina en microgramos por mililitro; V, los microlitros

de la dilución final del extracto de muestra: X , los microlitros de la muestra aplicados en la mancha que se comparó con el estándar y, W el peso de la muestra en gramos.

h) Método de Aflatest (VICAM, 1990) (Fig. 6).

- 1.- En un vaso de licuadora se colocaron 50 g de muestra con 5 g de cloruro de sodio.

Se adicionaron 100 ml de metanol al 80 % (80 ml de metanol más 20 ml de agua destilada) y se licuó por un minuto.
- 2.- Se filtró el licuado a través de filtro Whatman No. 4 y se colectaron 50 ml.
- 3.- Se tomaron 10 ml del filtrado y se agregaron 40 ml de agua destilada y se mezcló a mano.
- 4.- Se colocó una columna de Aflatest en un adaptador, con la tapa de la columna aún puesta.
- 5.- Para aclarar la solución resultante del filtrado, se volvió a filtrar a través de filtro Whatman 9348 H.
- 6.- Con cuidado se agregaron 10 ml del extracto dentro de la jeringa y hacia la columna monoclonal.
- 7.- Se pipetearon 20 ml de agua destilada y con ayuda del émbolo se lavó la columna (a frasco de residuo).
- 8.- Se colocó una cubeta de fluorómetro bajo la columna y se pipeteó un mililitro de metanol grado HPLC y se pasó a través de la columna dentro de la cubeta.
- 9.- Se agregó a la cubeta 1 ml de revelador para fluorómetro Aflatest (bromo) cuyo método de preparación se describe a continuación, y se agitó por 15 segundos con vórtex.
- 10.- Con estándares de Aflatest, se calibró el fluorómetro. Se tuvo cuidado de que la cubeta estuviera seca exteriormente y se procedió a leer el resultado.

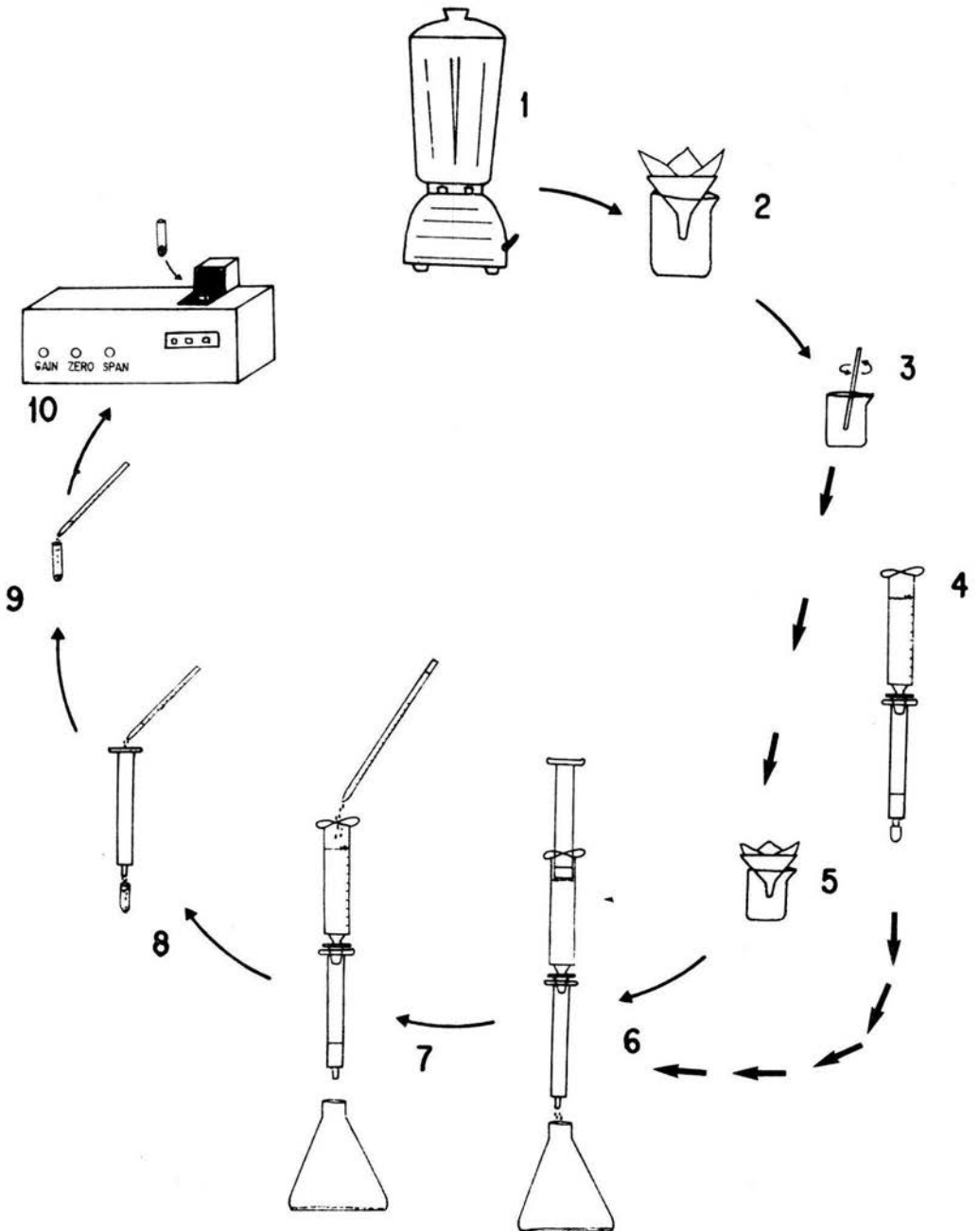


Fig. 6 .Método de Aflatest, VICAM (1990).

La lectura digital representa ppb de aflatoxinas en la muestra (microgramos/kg).

- i) Método de preparación de la solución reveladora para fluorómetro - Aflatest (bromo molecular al 0.001%) (VICAM, 1990).
- 1.- Bajo campana, con una micropipeta se agregaron 100 microlitros de bromo molecular a 1 litro de agua destilada en un frasco volumétrico.
 - 2.- Con una varilla de vidrio, se mezcló bien la solución.
 - 3.- La solución se guardó en un frasco ámbar.
 - 4.- Esta solución concentrada se diluyó nuevamente antes de usarla; se tomó un mililitro y se diluyó en 10 ml de agua destilada (se empleó frasco ámbar). Esta última dilución se preparó cada vez que se hizo una medición en el fluorómetro.

MEDIDAS DE SEGURIDAD

Se tomaron todas las precauciones pertinentes; se usó bata, guantes y botas para evitar la posible absorción por la piel de alguna de estas sustancias o de alguno de los extractos con las micotoxinas.

Asimismo, todo el material de laboratorio se desinfectó con hipoclorito de sodio (concentración de 40/8 cloro activo) después de cada extracción, al igual que la licuadora y el área donde se trabajó.

RESULTADOS Y DISCUSION

1.- Identificación de las micotoxinas.

Al realizar la cromatografía de capa fina, se detectaron aflatoxinas B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1), G2 (AFG2) Y zearalenona (Z).

Cabe señalar, que en cada placa se colocaron 2 aplicaciones por cada uno de los 5 estándares y las manchas de las muestras "problema" se compararon únicamente con los Rf de las manchas de los estándares que había en la misma placa donde se corrieron. Como se observa en las tablas 2 y 3, hubo variación en los Rf de los estándares, aún tratándose del mismo estándar, lo cual pudo deberse al diferente grosor de la capa de gel de sílice en cada placa, la variación de temperatura ambiente, la exacta concentración de los solventes o la temperatura de ellos, entre otras.

El otro factor que se consideró como parámetro para la comparación fue el color de la fluorescencia, AFB1 y B2, azul brillante (blue); G1 y G2, verdes (green) y la zearalenona, azul verdosa.

Las muestras que resultaron contaminadas, se presentan en la tabla 3 en grupos de 5 muestras individuales.

En la misma tabla, se presenta el análisis de las muestras individuales que resultaron contaminadas.

Tabla 2: Continuación.

TIPO DE GRUPO MUESTRAL	PESO (g)	MICOTOXINAS							R. DE MUESTRA	R. DEL ESTANDAR CORRESPONDIENTE	ppb
		B1	B2	G1	G2	Z	mfd				
56 - 60 garapiñados (Tir,S/mar)	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
65 - 60 garapiñados (Tir,S/mar)	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
61 - 65 tost. sazonado Mafer	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
66 - 70 palanqueta Mafer	50	-	-	-	-	X	-	0.84	0.83	30	
71 - 75 palanqueta Martín	50	X	-	-	-	-	-	0.51	0.49	120	
76 - 80 palanqueta Mafer	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
81 - 85 granola (Granv,Grand,Sat)	50	-	-	-	X	-	X	G2= 0.40 mfd= 0.53	0.40	18	
86 - 90 granola (Granv,Grand,Sat)	50	X	-	-	X	-	-	B1= 0.60 G2= 0.51	0.60 0.54	27	
91 - 95 crema cacahua. dif. presenta. (Aladino)	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
96 chocolate relleno crema cacahuate Zam - Fre	75	-	-	X	-	-	X	G1= 0.42 mfd= 0.20; 0.31; 0.53 y 0.89	0.41	60	
97 - 101 mazapán (Ros,Sol,Cer)	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
102 - 107 chocolate Almon Ris	50	X	-	-	-	X	-	B1= 0.61 Z= 0.78	0.61 0.79	30 50	

Tabla 2: Continuación.

TIPO DE GRUPO MUESTRAL	PESO (g)	MICOTOXINAS						R _f DE MUESTRA	R _f DEL ESTANDAR CORRESPONDIENTE	ppb
		B1	B2	G1	G2	Z	mfd			
108 - 113 chocolate Almon Ris	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114 - 119 chocolate Tin Larín	48	-	X	-	-	-	X	B2= 0.43 mfd= 0.56; 0.85	0.44	30
120 - 125 chocolate Tin Larín	51	-	-	-	-	-	-	-	-	-
126 cacahuate natural c/cáscara	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-

mfd = metabolito fluorescente desconocido

R_f = velocidad de flujo o
factor de retardación

Sam = Samurai

Maf = Mafer

Sab = Sabritas

Sup = El Supremo

Cer = Cerezo

Ros = De la Rosa

Kar = Karate

ppb = partes por billón de
aflatoxina o de
zearalenona

Bar = Barcel

S/mar = Sin marca, embolsado

Nish = Nishikawua

granel = a granel

Dist = Distribuidora Comercial

Tir = Tirado

Granv = Granvita

Grand = Granilda

Sat = Sat Nam

Sol = Sol

Tabla 3: Continuación.

MUESTRA INDIVIDUAL	PESO (g)	MICOTOXINAS						R. DE MUESTRA	R. DEL ESTANDAR CORRESPONDIENTE	Ppb
		B1	B2	G1	G2	Z	mfd			
75 palanqueta Martín	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81 granola Granvita	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
82 granola Granvita	50	-	-	-	X	-	-	G2= 0.44	0.43	16
83 granola Granvita	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84 granola Sat Nam	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85 granola Granilda	50	-	-	-	X	-	-	G2= 0.41	0.43	4
86 granola Granvita	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87 granola Sat Nam	50	X	-	-	X	-	-	B1= 0.57 G2= 0.47	0.55 0.49	10
88 granola Granilada	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89 granola Sat Nam	50	X	-	-	-	-	-	B1= 0.56	0.55	6

Tabla 3: Continuación.

MUESTRA INDIVIDUAL	PESO (g)	MICOTOXINAS						R _r DE MUESTRA	R _r DEL ESTANDAR CORRESPONDIENTE	ppb
		B1	B2	G1	G2	Z	mfd			
90 granola Granilda	50	-	-	-	X	-	-	G2= 0.42	0.43	12
97 mazapán La rosa	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98 mazapán La rosa	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99 mazapán Sol	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100 mazapán Cerezo	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
101 mazapán Sol	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
102 chocolate Almon Ris	50	X	-	-	-	-	-	B1= 0.62	0.57	12
103 chocolate Almon Ris	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
105 chocolate Almon Ris	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
106 chocolate Almon Ris	50	-	X	-	-	-	-	B2= 0.52	0.52	2
107 chocolate Almon Ris	50	-	-	X	-	-	-	G1= 0.49	0.50	2

Tabla 3: Continuación.

MUESTRA INDIVIDUAL	PESO (g)	MICOTOXINAS						R _p DE MUESTRA	R _p DEL ESTANDAR CORRESPONDIENTE	ppb
		B1	B2	G1	G2	Z	mfd			
114 chocolate Tin Larín	50	X	-	-	-	-	-	B1= 0.52	0.53	2
115 chocolate Tin Larín	50	X	-	-	-	-	-	B1= 0.54	0.54	2
116 chocolate Tin Larín	50	X	-	-	-	-	-	B1= 0.63	0.62	2
117 chocolate Tin Larín	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118 chocolate Tin Larín	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
119 chocolate Tin Larín	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
127 salado Sabritas	50	-	-	-	-	X	-	Z= 0.79	0.79	60
128 japonés Mafer	50	-	-	-	X	-	X	G2= 0.45 mfd= 0.67 mfd= 1.00	0.45	21
129 japonés Mafer	50	-	X	-	-	-	X	B2= 0.48 mfd= 1.00	0.49	17
130 salado Nipón	50	-	X	-	-	-	-	B2= 0.47	0.49	2
131 enchilado Nipón	50	-	-	-	-	-	X	mfd= 0.92	-	-

Los grupos muestrales que resultaron contaminados (ver tabla 2) por AFB1 (Rf= 0.49, 0.60 y 0.61) fueron, palanqueta, Martín (Rf= 0.49); granola, diferentes marcas (Rf= 0.60) y crocante de cacahuete, Almon Rís (Rf= 0.61); por AFB2 (Rf= 0.51, 0.44) fueron, crema de cacahuete, diferentes presentaciones (Rf= 0.48) y oblea rellena de cacahuete con chocolate, Tin Larín (Rf= 0.43); por AFG1 (Rf= 0.41), fué el chocolate relleno de crema de cacahuete (Rf= 0.42); por AFG2 (Rf= 0.40, 0.54) fueron 2 grupos de granola, diferentes marcas (Rf= 0.40 y 0.51) y por Z (Rf= 0.83 y 0.73) fueron, palanqueta, Mafer (Rf= 0.84) y crocante de cacahuete, Almon Ris (Rf= 0.78).

Al observar las placas bajo luz ultravioleta también se presentaron manchas fluorescentes desconocidas (ver tabla 2) que no correspondieron con el Rf de los estándares.

Asimismo, en los cromatogramas de muestras individuales (tabla 3) también se obtuvieron manchas fluorescentes desconocidas.

En la tabla 3 se concentran los resultados de las extracciones realizadas en muestras individuales que conformaban a los grupos de la tabla 2 y que resultaron contaminadas, y 5 muestras independientes.

Las contaminadas por AFB1 (Rf= 0.61, 0.49, 0.60, 0.55, 0.55, 0.62 y 0.53) fueron: 2 de crema de cacahuete con trocitos, Aladino (Rf= 0.60, 0.49); crema de cacahuete cremosa, Aladino (Rf= 0.58); 2 de granola, Sat Nam (Rf= 0.57 y 0.56); crocante de cacahuete con chocolate, Almon Rís (Rf= 0.57); 3 de oblea de cacahuete con chocolate, Tin Larín (Rf= 0.52, 0.54, 0.63), las contaminadas por

AFB2 (Rf= 0.49 y 0.52) fueron: palanqueta de cacahuate, Martín (Rf= 0.51); crocante de cacahuate con chocolate, Almon Rís (Rf= 0.52); japonés, Sabritas (Rf= 0.48) y salado, Nipón (Rf= 0.47); por AFG1 (Rf= 0.50) fué el crocante de cacahuate con chocolate, Almon Rís (Rf= 0.49); por AFG2 (Rf= 0.45 y 0.43) fueron, japonés, Mafer (Rf= 0.45); palanqueta de cacahuate, Martín (Rf= 0.46); granola, Granvita (Rf= 0.44); 2 de granola, Granilda (Rf= 0.41 y 0.42); granola, Sat Nam (Rf= 0.56) y por Z (Rf= 0.79) fué el salado, Sabritas (Rf= 0.79).

De 131 productos que se analizaron 15 estuvieron contaminados por aflatoxinas, 5 por aflatoxinas y zearalenona y 6 por zearalenona. Es importante hacer notar que la AFB1 es la más activa biológicamente; aproximadamente el doble que la AFG1, la AFB2 y la AFG2 son como 4 veces menos activas, respectivamente.

Alcázar *et al.*, (1985), analizaron los hongos que se encontraban en semillas y varios productos elaborados de cacahuate, ellos encontraron *Aspergillus flavus*, *A. niger* y *Rhizopus sp.* (afirmaron que este último enmascaró a otra micoflora) en cacahuate salado, enchilado, japonés, garapiñado y mazapán de marcas comerciales. La presencia de los hongos no es un indicativo de que los cacahuates y sus derivados contengan aflatoxinas, ya que podría tratarse de cepas no toxigenas o bien, que el hongo ya no esté presente pero que la toxina persista.

Los resultados nos indican que la contaminación por micotoxinas persiste aunque las semillas del cacahuate hayan sido procesadas con calor, azúcar, sal, picante, grasa, colorantes, saborizantes

y antioxidantes artificiales, entre otras sustancias, e independientemente de la entrada de los hongos productores en la invasión a la planta o las semillas.

2.- Cuantificación de las micotoxinas.

De los grupos muestrales (conjuntos de 5 muestras diferentes) de la tabla 2, se calcularon los siguientes contenidos totales de aflatoxinas en 50 g de muestra.

En crema de cacahuate, diferentes presentaciones, 14 ppb; granola, diferentes marcas, 27 ppb; palanqueta de cacahuate, Martín, 120 ppb; crocante de cacahuate con chocolate, Almon Ris, 30 ppb; oblea rellena de cacahuate con chocolate, Tin Larin, 30 ppb y chocolate relleno de crema de cacahuate, Zam-Fre, 60 ppb.

Los contenidos totales de zearalenona encontrados en los grupos muestrales fueron:

Palanqueta, Mafer, 30 ppb y crocante de cacahuate con chocolate, Almon Ris con 50 ppb.

Cuando se repitió la extracción en las muestras individuales que formaban a los anteriores grupos y de las 5 muestras independientes, se obtuvo el contenido total de aflatoxinas por el método de columnas monoclonales (Aflatest) con los siguientes resultados (ver tabla 3) :

Crema de cacahuate con trocitos, Aladino, 3 y 6 ppb; tipo cremosa, Aladino, 5ppb; palanqueta, Martín, 60 ppb; granola, Granilda, 4, 6 y 12 ppb, granola, Sat Nam, 6 y 10 ppb; crocante

de cacahuete con chocolate, Almon Ris, 2 ppb; oblea de cacahuete con chocolate, Tin Larín, 2 ppb; cacahuete japonés, Mafer, con 21 ppb; japonés, Sabritas, 17 ppb y salado, Nipón, 2 ppb.

Para la cuantificación de las aflatoxinas se empleó el método de columnas monoclonales, dadas las ventajas que presenta en comparación con otros métodos comerciales para la detección de aflatoxinas, principalmente, por ser tan sensible y exacto comparándolo aún, con el método oficial (CB) de la Asociación de Químicos Analistas de los Estados Unidos (AOAC) (Carvajal, *et al.*, 1990; Koeltzow and Tanner, 1990).

En los productos que se muestrearon, existen varios cuyos componentes no son sólo cacahuete, por ejemplo, granola, Almon Ris, Tin Larín, etc., y que si la determinación total de aflatoxinas (por Aflatest) , por ejemplificar, el Almon Ris tuvo 2 ppb en 10 g de cacahuete que aproximadamente contienen los 50 g de muestra total que se emplearon para la extracción, en realidad se convertirían en 10 ppb de aflatoxinas si esos 50 g fueran puro cacahuete contaminado aislado de todo el resto de lo que contiene el producto (azúcar, glucosa, cacao, leche descremada, manteca de cacao, extracto de malta, sal, saborizantes, etc.) y que también se licuaron para la extracción. En contraste, la palanqueta de cacahuete, que contiene sólo azúcar y glucosa, además de las semillas, tuvo 60 ppb de aflatoxinas totales, lo cual no significa que el Almon Ris o el Tin Larín (con 2 ppb también) tengan menos aflatoxinas, sino que tienen menos cantidad de cacahuete contaminado.

La norma técnica mexicana tiende a bajar la cantidad de aflatoxinas aceptada en alimentos para humanos de 20 ppb a 10 ppb y una vez que se oficialice estarán fuera de norma todos los productos de cacahuete con más de la última cifra indicada anteriormente (Carvajal, 1990. Comunicación personal).

En el presente estudio, estarían "fuera de norma" el cacahuete japonés, Mafer y Sabritas, palanqueta, Martín y granola, Granilda y Sat Nam.

Con respecto a la zearalenona, no está bien reglamentado en México, pero en Estados Unidos se toman en cuenta 50 ppb como tolerancia para animales monogástricos y humanos (Carvajal, 1990. Comunicación personal).

Con base en los resultados de las tablas 2 y 3 y los puntos anteriores, se concluye que los productos elaborados con cacahuete, se hallan contaminados con aflatoxinas B1, B2, G1, G2 y zearalenona y que el hecho de que se encuentren en envolturas higiénicas y sean de marcas reconocidas, no es una garantía de que ese producto no sea nocivo para la salud.

Posiblemente, una mala calidad de la semilla (semilla no tratada debidamente con fungicidas) con que se producen determinados lotes de cacahuete, malas prácticas de cultivo y de cosecha, así como las condiciones inadecuadas de almacenamiento y el deficiente control de calidad en las compañías que los elaboran, que no incluyen detección de micotoxinas son los factores principales que contribuyan a ello.

CONCLUSIONES

1.-Los productos elaborados con cacahuete de consumo popular, están contaminados por aflatoxinas y zearalenona.

De 131 productos, 15 estuvieron contaminados por aflatoxinas, 5 por aflatoxinas y zearalenona y 6 por zearalenona. En cantidades de 2 a 120 ppb de aflatoxinas totales en 50 g de muestra, los siguientes productos:

crema de cacahuete (Aladino) con 3 a 14 ppb de aflatoxinas totales; japonés (Mafer y Sabritas) con 17 a 21 ppb respectivamente; salado (Nipón) con 2 ppb y la palanqueta (Martín) de 60 a 120 ppb en 50 g de muestra.; de 4 y 12 ppb, la granola (Granilda); de 16 ppb, la granola (Granvita); de 6 y 10 ppb, la granola (Sat Nam); de 2 y 30 ppb, el chocolate (Tin Larín y Almon Rís) y de 60 ppb el chocolate relleno de crema de cacahuete (Zam-Fre).

En cantidades de 30 ppb de zearalenona, la palanqueta (Mafer), de 50 ppb, el chocolate (Almon Rís) y de 60 ppb el cacahuete salado (Sabritas), en 50 g de muestra.

2.-Productos como el cacahuete tipo japonés, palanqueta y granola cuya contaminación por aflatoxinas es mayor de 10 ppb (límite máximo de tolerancia en alimentos) en 50 g, representan un peligro para la salud humana.

3.-Es menor la incidencia de zearalenona en la mayoría de los productos muestreados, sin embargo, los que estaban contaminados con ella, la contenían en altas concentraciones (considerando que el límite que se ha citado es de 50 ppb para animales monogástricos y humanos) lo cual significa un grave riesgo para la población que los consume.

BIBLIOGRAFIA

- Alcázar, M.A., Cervantes, N., Rocha, R.A., Torres, L.C. 1985. Bacterias y hongos fitopatógenos encontrados en semillas y varios productos elaborados de cacahuete (*Arachis hypogaea*). Seminario de investigación. Instituto de Biología. Laboratorio de Fitopatología. U.N.A.M.
- Amla, I., Kamala, C.S., Gopalakrishna, G.S., Jayaraj, A.P., Sreenivasamurthy, V., and Parpia, H.A.B. 1971. Cirrhosis in children from peanut meal contaminated by aflatoxin. Am. J. Clin. Nutr. 24: 609 - 614.
- Arora, R.G., Frolen, H. and Wilson, A. 1981. Interference of mycotoxins with prenatal development of the mouse. 1. Influence of the aflatoxin B₁, ochratoxin A and zearalenone. Acta Vet. Scand. 22: 524 - 534.
- Asplin, F.D. and Carnaghan, R.B.A. 1961. The toxicity of certain groundnut meals for poultry with especial reference to their effect on ducklings and chicken. Vet. Record. 73: 1215 - 1219.
- Austwick, P.K.C. 1965. Pathogenicity. En: Raper, K.B. and Fenel, D.I. The Genus Aspergillus. Williams & Wilkins. Baltimore, 1965. 82 - 126.
- Bourgeois, C., Keshamras, N., Comer, D.S., Harikul, S., Evans, H., Olson, L., Smith, T., Beck, M.R. 1969. Udorn encephalopathy: Fatal cerebral edema and fatty degeneration of the viscera in Thai children. J. Med. Assoc. Thailand 52: 553 - 565.
- Bourgeois, C., Olson, L., Comer, D., Evans, H., Keschamras, N., Cotton, R., Grossman, R., and Smith, T. 1971. Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera: A clinicopathologic analysis of the 40 cases. Am. J. Clin. Pathol. 56: 558 - 571.
- Burnside, J.E., Sippel, W.L., Forgacs, J., Carll, W.T., Atwood, W.B., and Dool, E.R. 1957. A disease of swine and cattle caused by eating moldy corn. 11. Experimental production with pure cultures of molds. Am. J. Vet. Research. 18: 817 - 824.
- Campos - Nieto, E. y Robledo, E. 1979. Los estudios sobre las aflatoxicosis en México. Bol. Soc. Mex. Mic. 13: 243 - 252.
- Carll, W.T., Forgacs, J. and Herring, A.S. 1954. Toxicity of fungi isolated from a food concentrate. Am. J. Hyg. 60: 8 - 14.
- Carnaghan, R.B.A. 1964. Fungi in human and animal disease: Some biological effects of aflatoxin. Proc. Roy. Soc. Med. 57: 414 - 416.

- Carvajal, M., Mulholland, F. and Garner, C.R. 1990. A comparison of the EASI-EXTRACT-tm immunoaffinity concentration procedure with the AOAC CB method for extraction and quantitation of aflatoxin B1 in raw unskinned ground peanuts. J.Chromatogr. 511 : 379 - 383.
- Carvajal, M., Solis, R., Hanssen, D., and Martin-Sosa, S. 1988. Effect of mycotoxins on human cells and healthy animal cells. IUPAC '88 and ICPP '88. Mycotoxins and Phycotoxins. Japanese Association of Mycotoxicology. Nº 1: 135 - 136.
- Chang, K., Kurtz, H., and Mirocha, C.J. 1979. Effects of the mycotoxin Zearalenone on swine reproduction. Am. J. Vet. Res. 40(9) : 1260 - 1267.
- Christensen, C.M. y Kaufmann, H.H. 1969. Contaminación por hongos en granos almacenados. Ed. Pax - México. México. 199 pp.
- Christensen, C.M., Nelson, G.H., and Mirocha, C.J. 1965. Appl. Microbiol. 13: - 653: Ed: Bennett, G.A., and Shotwell, O.L. 1979. Zearalenone in cereal grains. Journal of the American Oil Chemists' Society. Vol. 56: 812 - 819.
- Christensen, C.M., Nelson, G.H. Newbern, P.M., and Mirocha, C.J. 1975. Mycotoxicosis caused by Fusarium spp., disease of swine. Dunne H.W. Ed. Iowa State University Press. Chapter 46: 888 - 897.
- Di Paolo, J.A., Ellis, J., and Erwin, H. 1967. Teratogenic responses by hamsters, rats and mice to aflatoxin B1. Nature. 215: 638 - 639.
- El-Nakib, O., Pestka, J., and Chu, F. 1981. Determination of Aflatoxin B1 in corn, wheat and peanut butter by enzyme-linked immunosorbent assay and solid phase radioimmunoassay. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 64(5): 1077 - 1082.
- FAO. Food and Nutrition paper. 1990. Manual of food quality control. 10. Training in mycotoxins analysis. 14/10. Food and Agriculture of The United Nations. 55 pp.
- Fieser, L.F. y Fieser, M. 1964. Química Orgánica Fundamental. Ed. Reverté. México. 373 pp.
- Harold, J., Malcom, E., Glen, H., Christensen, M., Chester, J., and Mirocha, C. J. 1969. Histologic changes in the genital tracts of swine fed estrogenic mycotoxin. Am. J. Vet. Res. Vol. 30. 4: 551 - 556.

- Koeltzow, D.E. and Tanner, S.N. 1990. Comparative evaluation of commercially available aflatoxin test methods. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73(4) : 584 - 589.
- Lancaster, M.C., Jenkins, F.P., and Phillip, J.M. 1961. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. Nature, 192: 1095 - 1096.
- Le Breton, E., Raissinet, C., and Boy, J. 1962. Sur l'apparition d'hepatomas "spontanés" chez le rat Wistar. Rôle de la toxine de l'Aspergillus flavus. Interet en pathologie humaine et cancerologie experimentale. Compt. rend. 255: 784 - 786.
- Ling, K.H., Wang, J.J., Wu, R., Tung, T.C. Lin, C.K., Lin, S.S., and Lin, T.M. 1967. Intoxication possibly caused by aflatoxin B1 in the moldy rice in Shuang - Chih Township. J. Formosan Med. Assoc. 66: 517 - 525.
- Loosmore, R.M., and Harding, J.D.J. 1961. A toxic factor in Brazilian groundnut causing liver damage in pigs. Vet. Record, 73: 1362 - 1364.
- Loosmore, R.M., and Markson, L.M. 1961. Poisoning of cattle by Brazilian groundnut meal. Vet. Record, 73: 813 - 814.
- Mc Erlean, B.A. 1952. Vet. Record, 64: 539. En: Benett, G.A., and Shotwell, O.L. 1979. Zearalenone in cereal grains. Journal of the American Oil Chemists' Society. Vol. 56: 812 - 819.
- Mirocha, C.J., and Christensen, C.M. 1983. Mycotoxins. Chapter 8: Storage of cereal grains and their products. Academic Press. U.S.A. 241 - 280.
- Mirocha, C.J., Christensen, C.M., and Nelson, G.H. 1971. F-2 (Zearalenone) estrogenic mycotoxin from Eusarium. Microbiological toxins. S. Kadis, A. Ciegler and S.J. Ajl. Ed. Academic Press. New York. 109 - 138.
- Mirocha, C.J. and Pathre, S.V. 1979. Mycotoxins. Their biosynthesis in fungi : Zearalenone biosynthesis. J. Food. Proct. 42(10): 821 - 824.
- Olson, L.C., Bourgeois, C.H., Cotton, R.B., Harikul, S., Grossman, R.A. and Smith, T.J. 1971. Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera in northeastern Thailand. Pediatrics 47: 707 -716.
- Palti, J. 1978. Acta Phytomed. 6,1 - 110. En: Pier, A.C. 1981. Mycotoxins and Animal Health. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine. 25: 185 - 243.

- Park, D.L., Jemmali, M., Frayssinet, C., La Farge - Frayssinet, C., and Yvon, M. 1981. Decontamination of aflatoxin-contaminated peanut meal using monomethylamine: Ca(OH)₂. En: Walter J.Pons, Jr., Memorial Symposium on Mycotoxins. J. Oil Chem Soc. December, 1981. 995A -1002A pp.
- Patterson, D.S.P. 1976. Cah. Nutr. Diet. Suppl. 2, 71 - 78. En: Pier, A.C. 1981. Mycotoxins and Animal Health. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine 25: 185 - 243.
- Peckoc, R.L. y Shields, D. 1983. Métodos modernos de análisis químicos. Limusa. México. 487 pp.
- Pettit, R.E. 1984. Yellow mold and aflatoxin. In: Compendium of peanut diseases. Ed. Porter, D.M. Smith, D.H., and Rodríguez Kábana, R. American Phytopathological Society. 33-34.
- Pier, R.L., Mc Loughlin, M.E., Richard, J.L., Baetz, A., and Dahlgreen, R. 1985 a. In utero transfer of aflatoxin and selected effects in neonatal pigs. J. Lacey. Ed. Trichothecenes and other Mycotoxins. Wiley & Sons. 495 - 506.
- Pier, A.C. and Mc Loughlin, M.E. 1985 b. Mycotoxic supression of immunity. J. Lacey. Ed. Trichothecenes and other Mycotoxins. Wiley & Sons. 507 - 518.
- Porter, D.M., Smith, D.H., and Rodríguez - Kábana, R. 1984. Compendium of peanut diseases. The American Phytopathological Society. U.S.A. 73 pp.
- Reye, R.D.K., Morgan, G., and Baral, J. 1973. Encephalopathy and fatty degeneration of the viscera: A disease entity in childhood. Lancet 2: 749 - 752.
- Rosiles, R. y López, R. 1977. Síndrome estrogénico de origen alimenticio en cerdos. Veterinaria. México. 8: 123 -126.
- Schuller, P.L., Horwitz, W. and Stoloff, L. 1976. A review of sampling plans and collaboratively studied methods of analysis for aflatoxins. J. Assoc. Off Anal. Chem. 59(6): 1315 - 1343.
- Sen, B.C. 1887. Enlargement of liver in children. Indian Med. Gaz. 22: 338. En: Wyllie, T.D. and L. Morehouse. 1978. Mycotoxic fungi, mycotoxicoses: An encyclopedic Handbook. 3 Marcel Dekker. New york. 202 pp.
- Serck-Hanssen, A. 1970. Aflatoxin - induced fatal hepatitis? A case report from Uganda. Arch. Environ. Health. 20: 729 - 731.
- Shilo, Y.M. 1940. Ovoprasi oloksicheskom dyestii Aspergillus flavus na organizm zhivotnik. (Toxic action of Aspergillus

flavus in animal body). Sbornik Trudov Kharkovskogo Inst. 19: 63 - 73.

- Simpson, T.J. 1977. In: "Biosynthesis - specialist Periodical Reports" (J.D. Bu Luck, senior reporter), Vol. 5, 21 - 24. Chemical Society, London.
- Steyn, S.P., Vleggar, R., and Wessels, L.P. 1980. The biosynthesis of mycotoxins. The biosynthesis of aflatoxin and its congeners. Academic. Press. New York and London. 105 - 104.
- Stob, M., Balwin, R.S., Tuite, J., Andrews, F.N. and K.G. Gillette. 1962. Nature (London) 196: 1318. En: Bennett, G.A. and Shotwell, O.L. 1979. Zearalenone in cereal grains. Journal of the American Oil Chemists' Society. 56: 812 - 819.
- Thomas, F., Eppley, R.M., and Trucksess, M.W. 1975. Rapid screening method for aflatoxin and zearalenone in corn. Journal of the Assoc. Anal. Chem. 58(1): 114 - 116.
- VICAM. 1990. Folleto Técnico. Somerville, MA. 02145 USA. 1 - 4.
- Villalobos, A. y Doporto, J.L. 1974. Diagnóstico de gestación en la cerda por medio de la biopsia vaginal. Veterinaria. México. 2 (5): 34 -42.
- Wyllie, T.D. and L. Morehouse. 1978. Mycotoxic fungi, mycotoxicoses: An encyclopedic Handbook. 3 Marcel Dekker. New York. 202 pp.
- Wogan, G.N. 1969. In "Mycotoxins in human and animal health" (J. Rodricks, C. Hesseltine, and M. Mehlman, eds.), pp. 27 - 50. Pathotox Publ., Park Forest South, Illinois. En: Pier, A.C. 1981. Mycotoxins and Animal Health. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine. 25: 185 - 243.