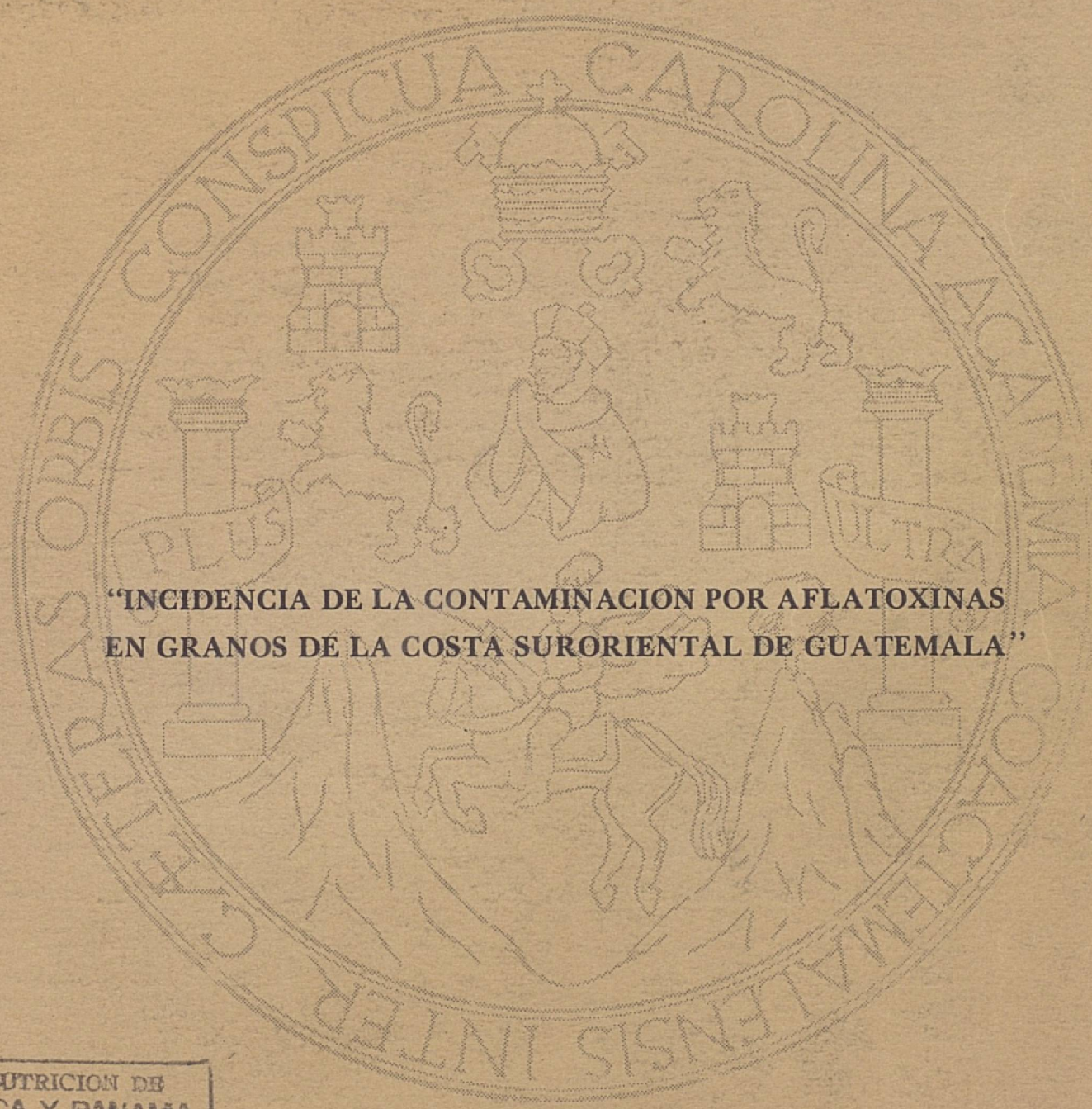
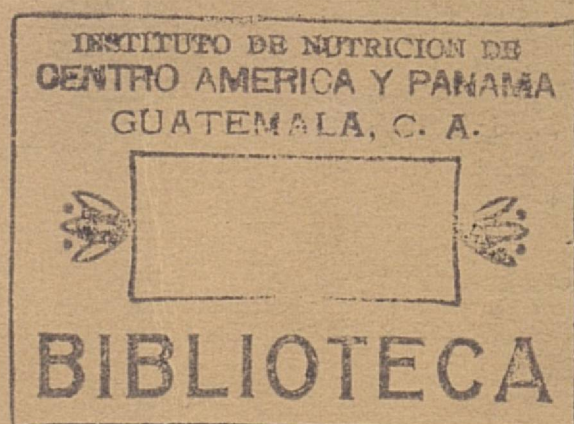


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



**"INCIDENCIA DE LA CONTAMINACION POR AFLATOXINAS
EN GRANOS DE LA COSTA SURORIENTAL DE GUATEMALA"**



JAVIER CRESPO SANTOS

GUATEMALA, AGOSTO DE 1,979

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

" INCIDENCIA DE LA CONTAMINACION POR AFLATOXINAS
EN GRANOS DE LA COSTA SURORIENTAL DE GUATEMALA "

Tesis presentada por:

JAVIER CRESPO SANTOS

Para optar al título de:

QUIMICO FARMACEUTICO

Guatemala, agosto de 1979.

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO:	Lic. Leonel Carrillo R.
VOCAL 1o.:	Dr. Héctor Aguilar
VOCAL 2o.:	Lic. Eduardo Robles A.
VOCAL 3o.:	Lic. Justo Comas F.
VOCAL 4o.:	Prof. Iván Cabrera
VOCAL 5o.:	Prof. Jorge Matute
SECRETARIO:	Lic. Luis F. Girón R.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS NUESTRO SEÑOR

A MIS PADRES: Javier Crespo Pérez
 Otilia Santos de Crespo
 Guía y ejemplo de mi vida

A MI AMADA ESPOSA: Martha Guisela

A MI HIJO: Javier Paúl

A MIS HERMANOS: Evangelina y Pablo
 Doris y José Luis
 Fernanda Alcira
 Otto Manuel

A MIS SOBRINOS: Pablo Nelson, Darwin Omar
 Pedro Javier, Juan Emerson

A MIS TIOS EN GENERAL

A LA MADRE DE MI ESPOSA: Bertha Leiva de Cardona

DEDICO ESTA TESIS

A GUATEMALA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

A LA INGENIERA MARIT KRISTINE JOHANSEN DE CAMPOS

Con mi agradecimiento y admiración por sus grandes valores humanos y científicos. Su estímulo y orientación fueron siempre valiosos en el desarrollo del trabajo y en la conclusión satisfactoria del mismo.

AL LIC. VICTOR HUGO MORALES

A JORGE GRIJALVA MAGAÑA

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE PROMOCION

RECONOCIMIENTO

Agradezco al Laboratorio Unificado de Control de Alimentos (LUCA) y al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), por haberme permitido realizar el estudio. De manera especial mi reconocimiento y afecto para el personal de la Sección de Contaminantes, señoras: MARIA OCTAVIA DE SOSA, YOLANDA GRAJEDA Y OLGA DE MORATAYA.

INDICE

	<u>Página</u>
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. ANTECEDENTES	9
IV. JUSTIFICACIONES	13
V. OBJETIVOS	15
VI. HIPOTESIS	16
VII. ASPECTOS METODOLOGICOS	17
VIII. RESULTADOS	27
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	30
X. CONCLUSIONES	33
XI. RECOMENDACIONES	34
XII. MEDIDAS PREVENTIVAS	35
XIII. DETOXIFICACION	38
XIV. BIBLIOGRAFIA	39
XV. ANEXOS	42

I. RESUMEN

Las aflatoxinas, productos metabólicos y tóxicos de los hongos, son en la actualidad objeto de profundas investigaciones debido a los problemas que representan y que pueden resumirse en dos:

- 1o. Pérdidas económicas en el campo agrícola debido al poco crecimiento de los animales y la dificultad consiguiente de alcanzar un peso adecuado para el mercado; la aflatoxicosis puede también ser causa de enfermedad y muerte de los animales. De igual manera, habiéndose establecido niveles máximos de aflatoxinas para productos susceptibles, se han registrado pérdidas en países exportadores por rechazo de productos altamente contaminados.
- 2o. Problemas para la salud del hombre, directamente por ingerir productos contaminados con aflatoxinas. Esto es muy importante si se considera el gran poder cancerígeno de las aflatoxinas a largo plazo.

Considerando que los factores que favorecen el crecimiento y desarrollo fungal, como la humedad relativa del ambiente y temperatura elevadas, son característicos de las zonas costeras de Guatemala, el estudio se limitó a la región suroriental del país dividiéndose en tres etapas:

1. Análisis de muestras con más de 6 meses de almacenamiento durante la época seca.
2. Análisis de muestras recién cosechadas.
3. Análisis de las muestras del inciso dos, después de almacenarse 2 meses durante la época lluviosa.

Los niveles de aflatoxinas encontrados en los productos almacenados por más de 6 meses fueron relativamente bajos. Catorce de las 45 muestras analizadas presentaban contaminación por aflatoxinas, de las cuales 7 pasaban las 20 ppb recomendadas por la FDA como límite. El valor más alto fué de 37 ppb. La época seca, el estado físico de los productos que era bueno en términos generales y la fumigación para prevenir la contaminación parecen ser factores importantes en la inhibición del crecimiento de hongos y

la consiguiente producción de toxinas.

De las cincuenta muestras analizadas dentro de los primeros 20 días después de la cosecha, 8 estaban contaminadas por aflatoxinas. No pudo establecerse si la contaminación inicial tuvo lugar antes de la cosecha o en el período comprendido entre ésta y el análisis. El máximo valor encontrado en esta ~~etapa~~ etapa ~~fué~~ fué de 130 ppb.

El mayor grado de contaminación por aflatoxinas se encontró en estas mismas muestras analizadas después de dos meses de almacenamiento durante la época lluviosa. Se emplearon condiciones de almacenamiento usuales en la región, las cuales son favorables al desarrollo de hongos. Las temperaturas máxima y mínima registradas fueron de 37°C y 20°C y la humedad relativa osciló entre 62% y 95%. Doce de las 50 muestras estaban contaminadas por aflatoxinas y de éstas 7 presentaban daño físico causado por insectos. El valor más alto de aflatoxinas para estas muestras fué de 1150 ppb. Es importante hacer ver que durante el almacenamiento no se aplicó a las muestras ningún tipo de plaguicida, debido a que en la región no se acostumbra cuando los productos se van a guardar por poco tiempo y además, porque interesaba conocer en qué medida avanza la infección en productos no tratados. Se confirmó la contaminación en las 8 muestras positivas de la segunda etapa y 4 más resultaron contaminadas.

En ninguna de las 3 series de muestras se encontró correlación entre la humedad del sustrato y el nivel de aflatoxinas. No todas las muestras positivas estaban dañadas por insectos, aunque en las almacenadas en la época lluviosa los valores más altos de aflatoxinas se encontraron en muestras con visible daño por insectos, gusano de maíz y gorgojo.

Los resultados nos demuestran que, bajo condiciones favorables, los hongos pueden invadir fácilmente los productos alimenticios, constituyendo un riesgo potencial para la salud debido a la producción de toxinas.

II. INTRODUCCION

En los últimos años el estudio de la contaminación de los alimentos por hongos se ha intensificado, debido a los efectos infecciosos, alérgicos y tóxicos que los metabolitos de algunas especies pueden ocasionar al hombre y a los animales (17).

Estos metabolitos, denominados micotoxinas, son el resultado de los procesos biológicos de los hongos (5). Algunos, como los antibióticos y los alcaloides extraídos del cornezuelo del centeno, han sido utilizados con fines terapéuticos, pero en otros se han descubierto propiedades tóxicas manifiestas (8).

La distribución de los hongos en el medio ambiente es extensa y el crecimiento de la flora fungal depende de factores como la temperatura, la humedad relativa y el contenido de humedad del sustrato. Las semillas y las legumbres son muy susceptibles a la invasión por hongos y en estos casos son factores muy importantes la madurez del grano y la accesibilidad de las esporas fungales a través de la cubierta protectora de la semilla o de la legumbre (8).

En todas las regiones de la tierra los hombres y los animales están constantemente expuestos directa o indirectamente a la contaminación. Algunas de las causas de la exposición a las micotoxinas pueden ser:

1. Ingestión de productos vegetales que han sido contaminados por hongos y sus metabolitos durante la recolección, el almacenamiento, el transporte y la elaboración.
2. Ingestión de carne, leche y huevos de animales que hayan consumido piensos contaminados con micotoxinas.
3. Exposición de tipo profesional a través del contacto directo con las micotoxinas.

Existe una gran cantidad de micotoxinas, pero las más estudiadas hasta la fecha son las llamadas aflatoxinas. Estos metabolitos, producidos

principalmente por Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus, son bisfuranocoumarinos, tóxicos, cristalinos y muy fluorescentes. Las aflatoxinas del reino vegetal conocidas en la actualidad se denominan B1, B2, G1, G2 y se aislaron por primera vez en la harina de maíz (32).

Animales que consumen piensos contaminados con aflatoxinas pueden excretar los metabolitos M1 y M2 en la leche y los huevos. Estos metabolitos son los hidroxiderivados de las aflatoxinas B1 y B2 respectivamente (8). Experimentalmente se ha demostrado también la presencia de aflatoxinas o sus metabolitos en la carne (4).

A continuación se presenta la estructura química de las aflatoxinas (4).

I AFLATOXINA B1

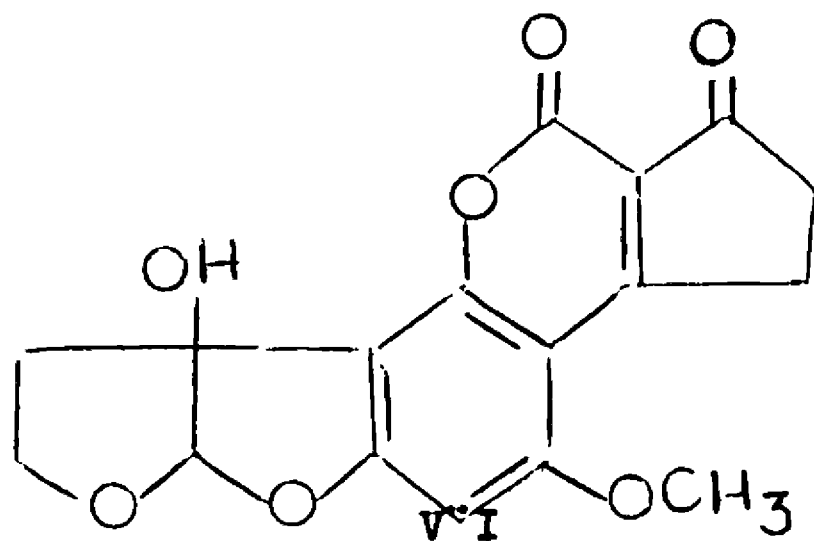
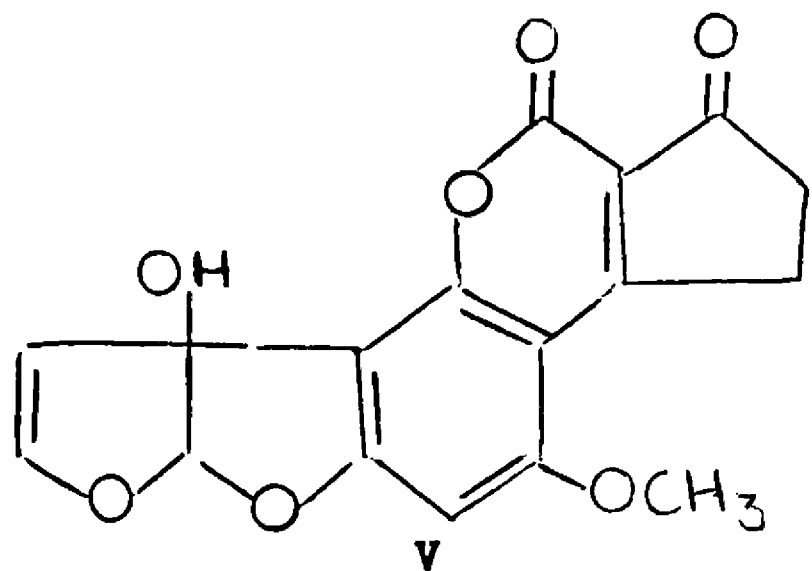
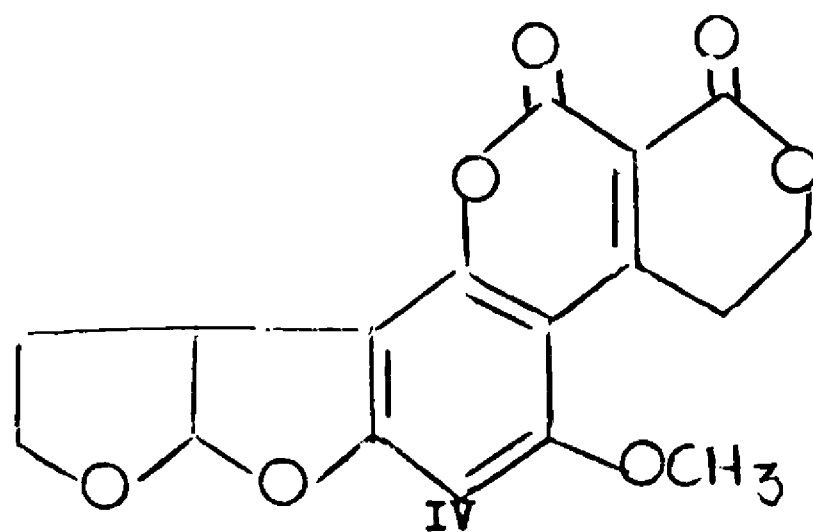
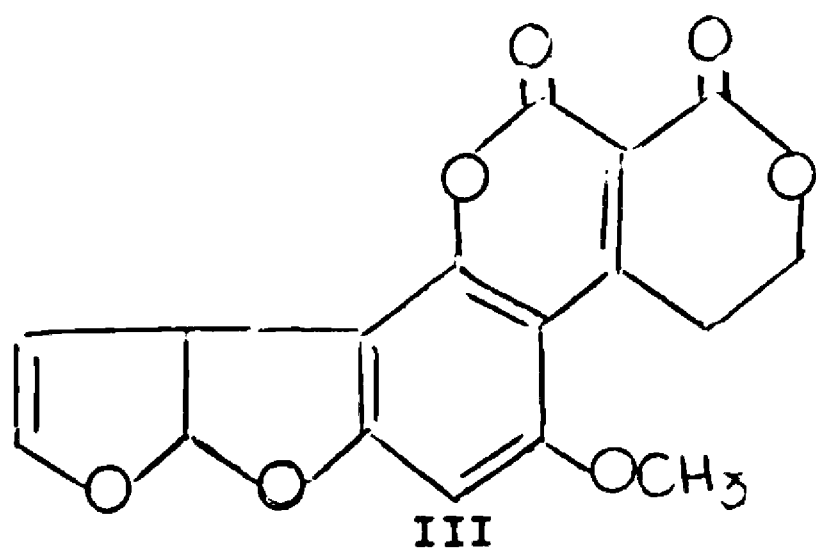
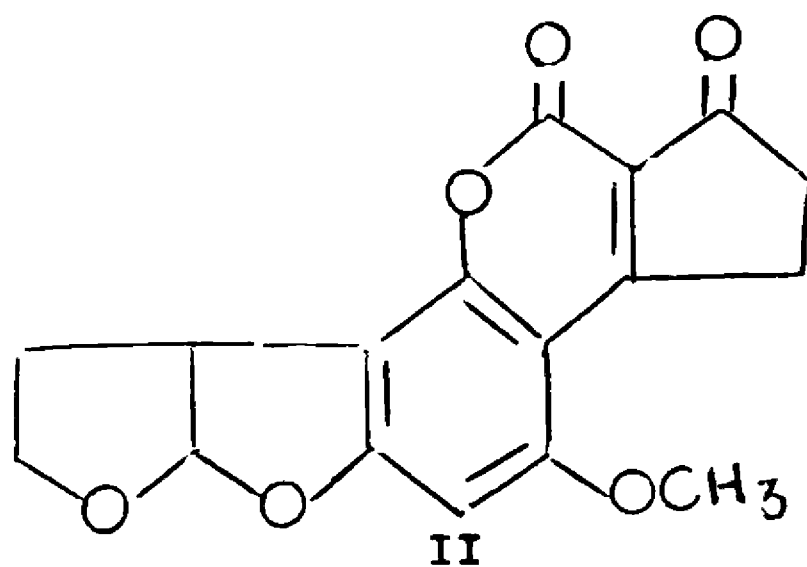
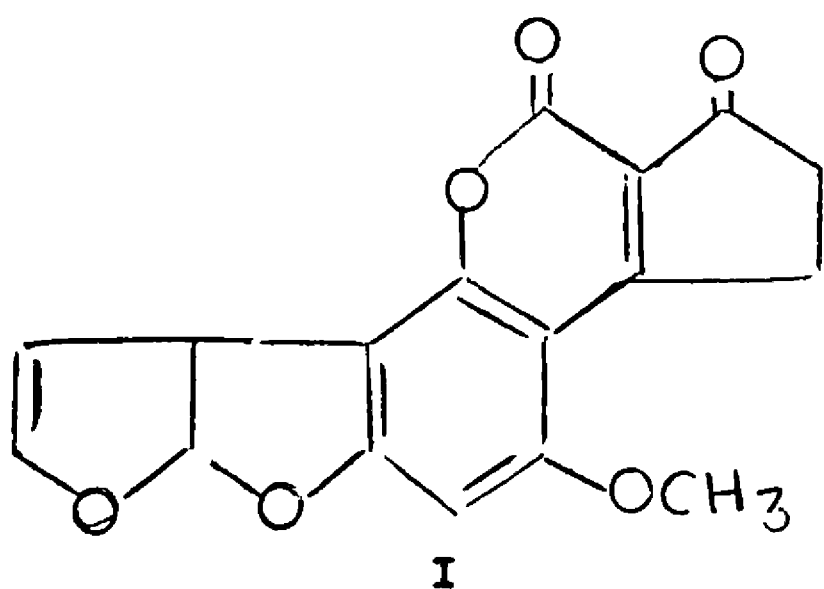
III AFLATOXINA G1

V AFLATOXINA M1

II AFLATOXINA B2

IV AFLATOXINA G2

VI AFLATOXINA M2



Hesseltine et al. afirman que con excepción de pocos casos aislados, la especie A. flavus produce solamente aflatoxinas B1 y B2, mientras que A. parasiticus produce las cuatro aflatoxinas (18).

De las cuatro aflatoxinas mencionadas es generalmente la B1 la que se encuentra en mayor concentración en los productos contaminados (8).

Se ha establecido que las aflatoxinas, como contaminantes de los alimentos, son tóxicas para el hombre y los animales en muy pequeñas cantidades (6). La toxicidad de las aflatoxinas puede ser de tipo crónico o de tipo agudo. La susceptibilidad para estos tipos de toxicidad varía según la especie, la edad, el sexo y el estado nutricional, la dosis, duración y repetitividad de la exposición. Se deben considerar también las variaciones individuales dentro de una misma especie (8).

La toxicidad crónica de las aflatoxinas es de tipo cancerígeno y de tal magnitud que en la actualidad se les clasifica entre los agentes carcinogénicos más potentes (20). El hígado es el órgano primario de ataque, pero también se han observado lesiones cancerosas en otros tejidos (25).

Se han reportado pocos casos de intoxicación aguda por aflatoxinas en el hombre (25). Esta clase de intoxicación es más importante en animales y el efecto principal es la necrosis hepática (13). Estudios específicos en pollos revelan que las aflatoxinas ocasionan contusiones en los músculos debido a un aumento de la fragilidad capilar, producen anemia hemolítica y duplican el tiempo de coagulación de la sangre. También aumentan la susceptibilidad al resfrío y disminuyen la capacidad de formar anticuerpos. Se observó que las aflatoxinas aumentan los requerimientos de proteína, riboflavina y vitamina D en "broilers" (pollos de engorde) (32).

Allcorft investigó la susceptibilidad a las aflatoxinas de varias especies, siendo en orden decreciente, para aves: patitos, pavos, y faisanes jóvenes, pollos y codornices. En mamíferos: cerdos de 3-12 semanas y marrañas preñadas, terneras, marranos de engorde, ganado maduro y ovejas (13). Los primeros signos clínicos de aflatoxicosis observados en estas especies fueron inapetencia y pérdida de peso. Aparte del desmejoramiento, a veces

no se presentó otro síntoma de la enfermedad sino hasta antes de morir cuando tenían dificultad para moverse, se acentuó la tristeza y ya no se levantaron. El efecto patológico más importante fué el daño al hígado (13).

En general, los animales monogástricos son más susceptibles a la intoxicación por aflatoxinas que los rumiantes. Un caso especial es el de los terneros que son monogástricos por lo menos durante las primeras seis semanas de vida (32).

Las aflatoxinas son altamente resistentes al calor y no se eliminan del alimento o del pienso con las operaciones ordinarias de cocción o elaboración; sin embargo, son destruídas bajo condiciones alcalinas (8,27). Esto último es fundamentalmente importante si se considera que el principal empleo del maíz en Guatemala es para la elaboración de tortillas. En este proceso el maíz es previamente cocido en agua de cal (CaO) y este tratamiento baja el contenido de aflatoxinas a más o menos la tercera parte (27). Se desconoce la toxicidad de los productos de descomposición.

Debe anotarse que los microorganismos de las especies implicadas no siempre son capaces de producir la toxina, los productores solamente la elaboran bajo ciertas condiciones (24). Las condiciones óptimas para la producción de toxinas las presentan aquellas zonas donde a la vez son altas la humedad y la temperatura (8); así, el crecimiento de cepas de Aspergillus se produce entre los rangos de 18°C - 45°C de temperatura, 75% - 85% de humedad relativa en el ambiente y una alta humedad en el sustrato (8,32).

Las costas de Guatemala con su clima cálido y húmedo se presentan como un vasto y propicio campo de acción para los hongos. Por esta razón se escogió la costa suroriental del país que incluye algunas regiones de los departamentos de Escuintla y Jutiapa y especialmente toda la zona sur del departamento de Santa Rosa, para el presente estudio sobre el grado de contaminación de productos alimenticios por aflatoxinas.

Para este fin se analizaron muestras de granos de diferentes clases, correspondientes a dos cosechas consecutivas: agosto-diciembre de 1977 y agosto-septiembre de 1978. Se estableció primeramente la magnitud de la con

taminación y luego se trató de relacionar para la región en estudio la incidencia de aflatoxinas con la temperatura, la humedad del grano, estado físico del grano, uso de insecticidas, tiempo de almacenamiento y condiciones del mismo.

NORMAS

Dada la magnitud de los riesgos que representan para la salud el consumo de alimentos contaminados por aflatoxinas, varios países han establecido límites para niveles de aflatoxinas en productos susceptibles.

En los Estados Unidos de América la FDA (Food and Drug Administration) fijó como guía una concentración de 20 ppb (partes por billón o microgramos por kilo) para todos los productos, exceptuando el maní para el cual propuso una concentración de 15 ppb de aflatoxinas (10). En otros países como Suecia, Polonia y Holanda se ha establecido como límite 5 ppb (16).

FAO/OMS proponen como límite en suplementos proteínicos para niños desnutridos una concentración de 30 ppb (16).

En Guatemala no existe ninguna ley para el control de las aflatoxinas, pero normalmente se siguen las normas de la FDA y la OMS.

III. ANTECEDENTES

La asociación de los hongos con enfermedades en personas y animales domésticos se ha planteado como un problema de salud pública desde hace relativamente pocos años.

En 1944 informaciones de Rusia revelaron que en un distrito el 10% de la población se enfermó por haber ingerido cereales contaminados con hongos productores de toxinas (20).

En 1960, en Inglaterra, se descubrió que las aflatoxinas presentes en la harina de maní utilizada como pienso , eran la causa de una enfermedad desconocida que causó la muerte de miles de pavos. La enfermedad fué denominada "La enfermedad X del pavo" (8).

Tradicionalmente se consideraba que el crecimiento de A. flavus era un problema que afectaba los granos de los cereales después de la cosecha solamente, pero estudios en el campo han demostrado que el hongo puede también infectar la semilla antes de la cosecha si las esporas penetran dentro de la región de crecimiento del grano (19).

En los Estados Unidos de América se inició en 1972 una serie de extensos estudios sobre la contaminación del maíz por aflatoxinas, determinación del origen del proceso infeccioso y de los factores que participan en el mismo.

Los resultados de estos estudios nos han proporcionado la información que a continuación se resume:

1. El maíz puede ser infectado por los hongos productores de toxinas antes de la cosecha.
2. Los granos en desarrollo son más susceptibles a la infección durante el estado tierno, lechoso, pero también pueden ser infectados en etapas posteriores. El estado de madurez del maíz es un importante determinante de la susceptibilidad.

3. Las causas de la infección inicial pueden ser:
 - Las esporas de los hongos transportadas por el aire.
 - La infestación por insectos.
4. Se encontró una evidente asociación insecto - A. flavus en el establecimiento de la infección inicial. Los insectos pueden actuar:
 - Como vectores introduciendo el hongo dentro del grano y
 - Dañando el grano y dejándolo abierto para la infección fungal.
5. Aunque el daño por insectos es un factor determinante en la infección inicial, se ha demostrado que pueden también ser causa de la inoculación original las esporas depositadas por el aire en los pelitos del maíz tierno*.
6. La especie A. flavus es generalmente la que se encuentra en el maíz con taminado.
7. Para el maíz recién cosechado se ha establecido que son 3 los factores principales que determinan la extensión de la infección fungal, siendo éstos:
 - La humedad del grano y la humedad relativa del ambiente.
 - La temperatura.
 - El daño causado por insectos en el grano.
8. La aplicación de insecticidas a plantas en desarrollo reduce la presencia de A. flavus y aflatoxinas hasta la madurez (18).

Taubenhaus y Lillehoj et al. han observado que las primeras 2-3 semanas después de la formación de los pelitos del maíz tierno proveen la máxima oportunidad para la infección por A. flavus (18).

* En la región guatemalteca donde se efectuó el presente estudio al maíz tierno se le conoce como "jilote".

El mayor peligro para el hombre de la ingestión de productos contaminados por aflatoxinas radica en el poder carcinogénico de estos metabolitos. En regiones de Sub-Sahara en Africa y sureste de Asia se han encontrado datos epidemiológicos que respaldan la relación positiva entre el consumo de aflatoxinas y el cáncer de hígado, enfermedad crónica que puede manifestarse después de muchos años (11).

Sobre los efectos teratogénicos de las aflatoxinas se sabe muy poco. Los datos disponibles indican, aunque no se ha demostrado de manera concluyente, que en algunos casos estas toxinas pueden atravesar la barrera placental. Raramente se ha encontrado la toxina en la leche materna, pero han sido pocos los estudios realizados con este fin.

Desconociéndose los riesgos a los cuales pueden estar expuestos los niños lactantes, es recomendable que las madres lactantes eviten el consumo de alimentos mohosos (8,11).

En un estudio realizado en 1976 en la Universidad de Nuevo León, México sobre la incidencia de aflatoxinas en alimentos para marranos, aves y conejos se encontró que el 50% de las muestras estaban contaminadas con aflatoxinas. En las muestras positivas los niveles encontrados iban desde 2 ppb hasta 1111 ppb (13).

En Guatemala son pocos los estudios hechos sobre el tema.

En 1970 Martínez et al. efectuaron un estudio sobre la prevalencia de hongos en granos de maíz de Guatemala. Se analizaron 62 muestras de maíz y se encontró que los géneros diseminados más frecuentemente en las muestras infectadas fueron: Penicillium, Fusarium y Aspergillus. Los géneros Aspergillus y Penicillium fueron abundantes en las muestras que tenían un tiempo largo de almacenamiento y un alto contenido de humedad. No se investigaron las posibles micotoxinas contaminantes (20).

Schneider encontró contaminación por aflatoxinas en 4% de 99 muestras de semilla de algodón analizadas (24).

Campos y Marzys encontraron una alta contaminación por aflatoxinas en

granos de Guatemala. El estudio se llevó a cabo en 264 muestras de granos cosechados en la época lluviosa y almacenados durante la época seca. Las muestras se recolectaron en las regiones caliente y húmeda, caliente y seca y templada y húmeda, en las cuales está dividido naturalmente el país. El 17% del total de las muestras estaba contaminado por aflatoxinas y el 8% excedía las 20 ppb recomendadas como límite por la FDA. La más alta incidencia de contaminación se encontró en las muestras de la región caliente y húmeda. El 27% de las muestras de esta región estaba contaminado, contra el 7% de las muestras de la región caliente y seca y solamente el 2% de la región templada y húmeda (7).

IV. JUSTIFICACIONES

En la actualidad la preocupación por la contaminación de productos alimenticios por hongos es grande. Las micotoxinas excretadas por algunas especies, especialmente Aspergillus y Penicillium, representan un peligro potencial para la salud.

Por esta razón, durante los últimos 15 años, la investigación se ha orientado hacia el estudio de los hongos y sus metabolitos, principalmente las aflatoxinas por la posición dominante que ocupan éstas por sus riesgos potenciales entre las micotoxinas.

Diversas instituciones han tratado el tema, encaminando sus esfuerzos hacia la divulgación del problema que representan las aflatoxinas y a la búsqueda de soluciones prácticas para disminuir la contaminación.

En 1977 se reunió en Ginebra, Suiza, un grupo especial de la OMS para deliberar sobre "Criterios de Higiene del Medio Ambiente Relativos a las Micotoxinas" (8). La realidad del problema y la necesidad de tomar medidas inmediatas para su control se resume en una de las recomendaciones propuestas por el grupo, en la que se afirma que aunque no está todo dicho respecto a las aflatoxinas, una alta exposición a las mismas plantea un problema de salud pública, por lo que es necesario aplicar medidas preventivas tendientes a reducir el consumo de aflatoxinas en las poblaciones muy expuestas (8).

En septiembre de 1977 se realizó a nivel internacional en Nairobi, Kenya, la Conferencia Mixta FAO/OMS/PNUMA* sobre Micotoxinas. En una de sus conclusiones se señala la conveniencia de prestar mayor atención a las zonas tropicales de alta humedad, dado que los climas cálidos y húmedos favorecen considerablemente el crecimiento de los hongos (8).

El maíz, principal componente de la dieta del guatemalteco, y el frijol, parte de la misma, son el medio básico de ingestión de proteínas (14).

*FAO/OMS/PNUMA (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación / Organización Mundial de la Salud / Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente).

Tanto estos productos como otros que también se consumen por la población guatemalteca, arroz, café, ajonjolí, maicillo, etc., pueden ser fácilmente infectados por los hongos debido a los muchos factores que favorecen su diseminación y desarrollo. Por esta razón reviste carácter de urgencia la investigación del grado de contaminación que sufren los diferentes granos cosechados y almacenados en épocas diferentes.

Dada la imposibilidad de modificar las condiciones estacionales y geográficas que favorecen el crecimiento fungal y los diversos factores que propician el mismo, es necesario establecer las medidas preventivas más adecuadas.

V. OBJETIVOS

- Determinar el grado de contaminación de granos por aflatoxinas en áreas y bajo condiciones que teóricamente favorecen su desarrollo.
- Determinar si existe una correlación entre la contaminación por aflatoxinas y las condiciones bajo las cuales los productos crecen, se cosechan y se almacenan.
- En base a este diagnóstico, estudiar y recomendar medidas de prevención.

VI. HIPOTESIS

En los granos cosechados en las costas de Guatemala, la incidencia de contaminación con aflatoxinas es alta y es mayor en los granos almacenados durante la época lluviosa.

VII. ASPECTOS METODOLOGICOS

- MUESTREO

La región escogida como campo de muestreo fué la zona suroriental de Guatemala, específicamente los municipios costeros de los departamentos de Escuintla, Santa Rosa y Jutiapa. La elevación va desde 0 hasta 800 piés sobre el nivel del mar y el clima imperante en el área es cálido y húmedo. En 1978 se registraron temperaturas de 37°C y humedades relativas hasta de 95% máximas.

El estudio se hizo sobre un total de 145 muestras distribuídas de la manera siguiente: 45 muestras de maíz, frijol, maicillo, arroz y ajonjolí, cosechados entre los meses de agosto y diciembre de 1977 con más de 6 meses de almacenamiento durante la época seca y 50 muestras en duplicado de la cosecha de agosto-septiembre de 1978 o sea un total de 100 muestras. Estas últimas muestras estuvieron constituídas principalmente por maíz, de bido a que es el producto de mayor consumo de la población guatemalteca y uno de los más susceptibles a la contaminación por aflatoxinas (8), comple mentándose con algunas muestras de frijol y arroz.

Cincuenta muestras de la cosecha de 1978 se analizaron dentro de los primeros 20 días después de la cosecha y los duplicados se analizaron después de dos meses de almacenamiento durante la época lluviosa. Esto se hi zo con dos propósitos: primero de establecer si había contaminación en mues tras recién cosechadas y segundo, observar dos meses después el avance de la infección, considerando la variedad de factores concurrentes como humedad de las muestras, temperatura ambiental, humedad relativa e infestación por insectos.

Durante la recolección de las muestras se buscó información sobre as pectos inherentes a la siembra, cosecha y almacenamiento de los productos en la región de estudio.

- PROCEDIMIENTO PARA EL ANALISIS DE LAS MUESTRAS

- Molienda de los granos. Las muestras se molieron inmediatamente después de llegar al laboratorio.
- Determinación de humedad. La determinación se hizo seguidamente después de la molienda para obtener un dato correcto del contenido de humedad de las muestras en el momento de recolección.
- Las muestras que no pudieron ser analizadas para aflatoxinas inmediatamente se almacenaron a -20°C para inhibir un crecimiento adicional de hongos.
- El análisis de aflatoxinas de las muestras se realizó por el método de Romer (7,23), confirmación por cromatografía en capa fina (1) y cromatografía de alta presión en fase líquida (21).

- MATERIAL Y METODOS DE ANALISIS

MATERIAL

- Licuadoras
- Bolsas de polietileno
- Balanza analítica
- Balanza semianalítica
- Horno
- Homogenizadores tipo Omni-Mixer
- Probetas graduadas de 10, 100, 250 y 1000 ml
- Embudos de filtración de diferentes tamaños
- Papel filtro Whatman 4
- Lana de vidrio
- Beakers de 250 y 600 ml
- Embudos de separación de 125 y 1000 ml

- Tubos de ensayo con tapón esmerilado de 10 y 25 ml
- Varillas de vidrio
- Balones de 10 ml con tapón esmerilado
- Viales
- Cámara de vidrio para desarrollo de placas cromatográficas
- Agujas hipodérmicas
- Microjeringas de 10 y 100 microlitros
- Minicolumnas para separación cromatográfica
- Cápsulas de aluminio
- Gradillas de metal
- Espátulas
- Soportes de metal
- Anillos de metal
- Placas prefabricadas de sílica gel para cromatografía en capa fina (TCL).
Applied Science Laboratories Inc. Prekotes. Adsorbosil 1, 250 mm.
- Cámara con lámpara de luz ultra-violeta (U.V.)
- Fluorómetro para aflatoxinas (Velasco Fluorotoxin Meter, Neotec Instruments, Inc.)
- Aparato para cromatografía de alta presión en fase líquida (HPLC)

REACTIVOS

- Acetona + agua (85 + 15)
- Hidróxido de sodio 0.02 N
- Solución de hidróxido de potasio 0.02N con cloruro de potasio 1%
- Acido sulfúrico 0.03%
- Cloroformo
- Cloroformo + acetona (9 + 1)

- Cloruro férrico hexahidrato 6%
- Carbonato de cobre, básico
- Sulfato de sodio anhidro
- Benceno + acetonitrilo (98 + 2)
- Benceno + ácido acético (9 + 1)
- Celita
- Tierra de diatomeas, tipo Florisil
- Arena de mar
- Sílica gel
- Alúmina neutra
- Estándares de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 1 ng/mclt
- Solución de diclorometano saturado con agua + ciclohexano + acetonitrilo (25 + 7.5 + 1.0) con 1.5% de etanol en la solución final.

- METODO DE ANALISIS

Para el análisis de las muestras se empleó el método de Romer (23) con las modificaciones hechas por Campos y Marzys (7). La confirmación de las muestras positivas se hizo por cromatografía en capa fina utilizando los métodos de AOAC (1), Vega (29) y Tropical Products Institute (26) y por Cromatografía de Alta Presión en Fase Líquida (21) con modificaciones del Laboratorio Unificado de Control de Alimentos de INCAP (LUCA).

DESCRIPCION GENERAL DEL METODO (7,23)

Pesar en Omni-Mixer 50 g.
de la muestra

Agregar 250 ml. de Acetona + agua (85+15)

Homogenizar durante 3 min.

Filtrar en embudo de filtración con lana de vidrio

Tomar alícuota de 150 ml
en beaker de 200 ml

Mezclar con 2 g. de CuCO_3
(básico)

Agregar a beaker de 600 ml
que contiene:
170 ml NaOH 0.02 N
30 ml $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 6%

Agregar 150 ml de Celite
y mezclar

Filtrar en embudo de fil-
tración con Whatman 4

Tomar alícuota de 150 ml

Pasar a embudo de separa-
ción de 1000 ml

Lavar probeta con 150 ml
de H_2SO_4 0.03%

Agregar 10 ml de cloroformo y agitar

Pasar la capa de cloroformo a embudo de separación de 125 ml con 100 ml de KOH 0.02N con 1% de KCl agitar suavemente

Pasar el extracto de cloroformo a tubo con un poco de Na_2SO_4 anhidro

Cromatografía en capa
fina (TCL)

Cromatografía de Alta
Presión en Fase Líquida
(HPLC)

Pasar 2 ml del extracto de cloroformo por minicolumnas* (corresponden a 2.5 g de muestra)

* PREPARACION DE LAS MINICOLUMNAS (7,20)

2 mm de lana de vidrio, 5-7 mm de arena de mar, 7-10 mm de florisil, 20 mm de sílica gel, 10 ml de alúmina neutra y 5-7 mm de arena de mar. Los ingredientes se secan previamente durante una hora a 110°C .

Leer en el fluorómetro**

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

Hacer una 2a extracción en las muestras positivas, con 10 ml de cloroformo

Pasar la capa de cloroformo a embudo de separación de 125 ml con 100 ml de KOH 0.02N con 1% de KCl. Agitar suavemente

Pasar la capa clorofórmica a tubo con un poco de Na₂SO₄ anhidro

Tomar 4 ml del 1o. extracto y 4 ml del 2o. extracto y pasarlos a embudo de separación de 125 ml con 50 ml de H₂SO₄ 0.03% Agitar suavemente.

Pasar la capa clorofórmica a tubo con Na₂SO₄ anhidro, luego pasarla a vial graduado con fondo cónico. Anotar volumen final

Evaporar a sequedad con corriente de nitrógeno

Disolver el residuo en pequeña cantidad de Benceno-Acido acético (30-200 microlitros según cantidad de aflatoxina), agitar en Vortex

Activar la placa para TCL en horno a 100°C durante 1 hora. Pasar placa a desecadora para enfriar.

** La fluorescencia de las minicolumnas se mide con un fluorómetro específico para aflatoxinas, "Velasco Fluorotoxin Meter" (Neotec Instruments, Inc). El fluorómetro se calibra a cero con una minicolumna preparada con 2 ml de cloroformo y 3 ml de solución eluyente (cloroformo + acetona 9+1) y a 20 ppb con una columna preparada con 50 nanogramos de aflatoxina B1 en 2 ml de cloroformo y 3 ml de eluyente (50 nanogramos son 20 ppb de 2.5 g, cantidad de muestra en la alícuota agregada a la minicolumna).

Sembrar inmediatamente con microjeringa estándares de aflatoxinas (5,10,20,30,50 ng) intercalando con las muestras (30 microlitros)

Dejar la placa en cámara con éter etílico durante 2 horas para limpiarla de impurezas.

Pasar la placa cromatográfica a cámara con Benceno-Acido acético (9+1) dos horas

Secar la placa a 110°C por 2 minutos

Observar la placa bajo luz ultravioleta de onda larga, identificando las aflatoxinas y estimando las cantidades por comparación con los estándares.

CROMATOGRAFIA DE ALTA PRESION EN FASE LIQUIDA (HPLC)

Ajustar las condiciones del cromatógrafo*, agregar solvente** y estabilizar el sistema 1 hora

Hacer curva estandar de 10-50 ng, inyectando 20 microlitros de aflatoxinas, usando mezcla de estándares de 0.5-2.5 ng/mlt.

Inyectar 20 mclt. del primer extracto de cloroformo obtenido por el método de Romer (1.25 g de muestra/ml)

Identificar aflatoxinas, comparando tiempo de retención de muestras y estándares

Cálculo del contenido de aflatoxinas relacionando alturas de picos de muestras y estándares.

* CONDICIONES DE HPLC

- Columna: sílica gel, Porasil^R, 10 mcm, 4 mm DI
- Filtro de absorbencia y de excitación: Filtro Corning CS-7-60: 325-385 nm.
- Filtro de emisión: Filtro Corning CS-3-74 "cutoff filter" (filtro de cierre): 451 nm.
- Velocidad de la bomba: 1 ml/min, 1200 lbs/pulg.²
- Atenuación de detectores:
- Absorción: Abs. x 16 x 10²
- Fluorescencia: 10 pulg.=16 namp.
- Velocidad del papel registrador: 0.5 pulg/min.

** SOLVENTE PONS

Agua saturada con diclorometano + Ciclohexano + Acetonitrilo (25 +- 7.5 + 1), agregar 1.5% de etanol.

Con cada serie de 10 muestras se llevó un blanco de reactivos a través del método completo y el valor de su lectura en el fluorómetro se restó de la lectura de las muestras. El valor más alto del blanco fué de 4 ppb. Experimentalmente se ha comprobado que las impurezas de la acetona empleada son la causa principal de las lecturas altas del blanco. Usando acetona redestilada el valor del blanco baja considerablemente, normalmente a cero. Durante el desarrollo del análisis se evaluó la confiabilidad del método mediante la corrida de muestras a las cuales se había agregado cantidades conocidas de aflatoxina B1. Con niveles agregados de 20 ppb se obtuvo una recuperación promedio de 82%. Periódicamente se hicieron análisis en duplicado para tener una mayor seguridad en los resultados. El coeficiente de variación entre los duplicados fué de 9% como promedio.

Todas las muestras que resultaron positivas en el fluorómetro se analizaron por cromatografía en capa fina para confirmar la presencia de aflatoxinas e identificarlas. Esta confirmación es necesaria debido a que la lectura en el fluorómetro puede ser producida por otros compuestos fluorescentes y no por aflatoxinas. Más o menos una tercera parte (36%) de las muestras positivas no pudieron confirmarse por cromatografía en capa fina. En estas muestras los compuestos fluorescentes tenían Rf's que no correspondían a los valores de los estándares.

La identificación de las aflatoxinas individuales se hizo sembrando en la misma placa estándares de aflatoxinas B1, B2, G1, G2, junto con el extracto de la muestra. El valor de Rf y el color de la fluorescencia son característicos para cada una de las aflatoxinas. Las aflatoxinas B1 y B2 fluorescen con color azul y las G1 y G2 con color verde. Los Rf's respectivos de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 son los siguientes: 0.22, 0.18, 0.14 y 0.08.

El límite de detección de aflatoxinas en una muestra, usando cromatografía en capa fina es de 4 ppb. Esto significa que muestras reportadas como negativas pueden contener hasta 3 ppb de aflatoxinas o menos.

Las muestras positivas que se confirmaron por TCL dieron valores parecidos a las lecturas en el fluorómetro con minicolumnas y estos últimos son

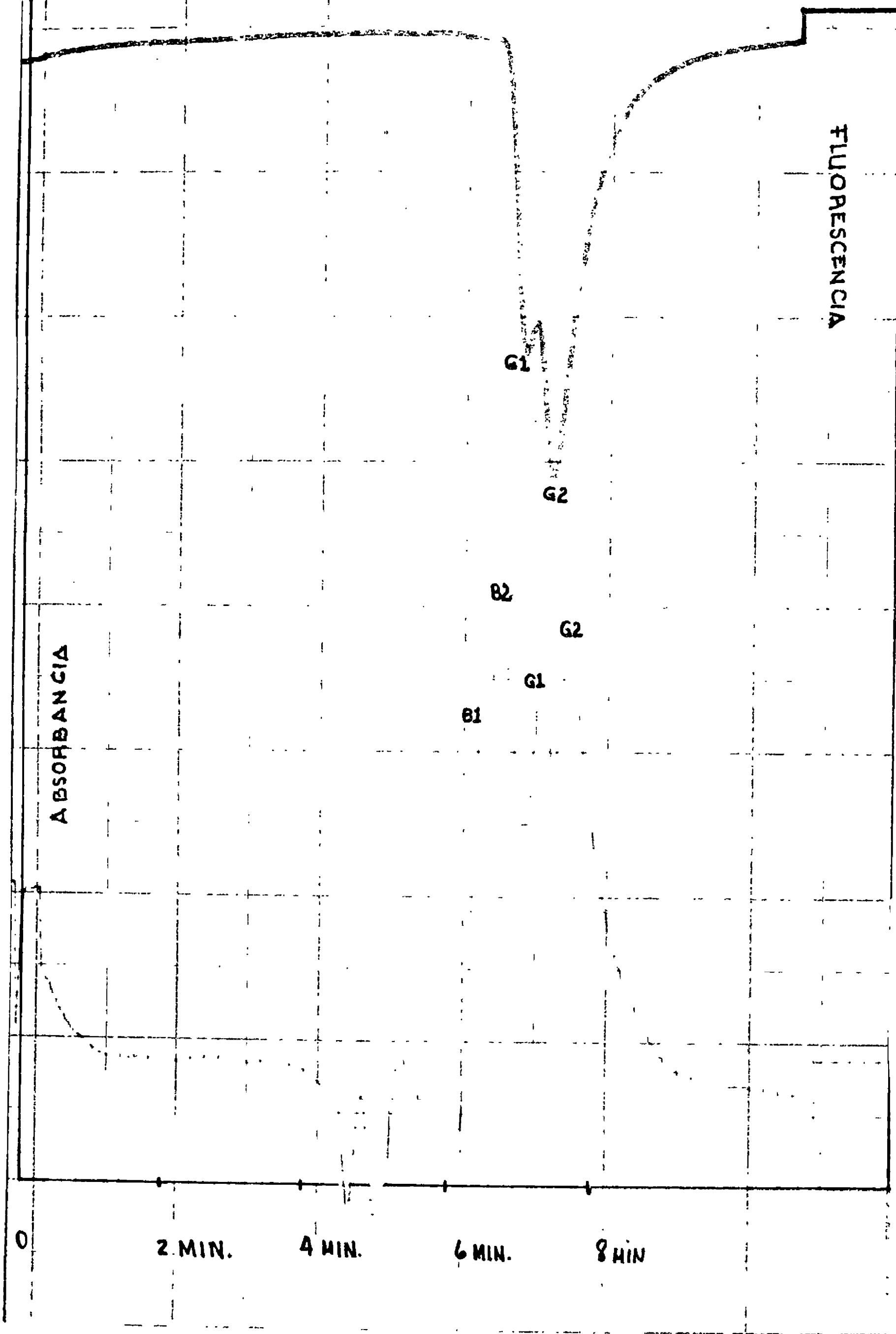
los que se reportan en los resultados. Debe considerarse un error de estimación en los resultados por TCL debido a que por no contar con densitómetro, las lecturas se hicieron por comparación visual con los estándares.

Las muestras más contaminadas se confirmaron también por Cromatografía de Alta Presión en Fase Líquida (HPLC, High Pressure Liquid Chromatography), empleando el método descrito por Pons (21) con modificaciones del Laboratorio Unificado de Control de Alimentos (LUCA).

Se utilizó un instrumento DUPONT equipado con dos detectores, de absorción y de fluorescencia.

El empleo del método de HPLC en la detección de aflatoxinas está poco a poco sustituyendo a la cromatografía de capa fina y otros métodos. Este método es más sensible que la cromatografía en capa fina y sobre todo, mucho más preciso; los resultados obtenidos a partir de la medición de la altura de los picos del cromatograma, son más exactos que los de TCL (Fig. 1). Las aflatoxinas G fluorescen mejor que las B y por consiguiente se detectan mejor con el detector de fluorescencia. Todas las aflatoxinas se pueden detectar con el detector de absorción (Fig. 1). Bajo las condiciones usadas, los tiempos de retención de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 son 6.1, 6.3, 6.9 y 7.3 min. respectivamente (Fig. 1). Por este método el procesamiento también se acorta, ya que el primer extracto clorofórmico obtenido por el método de Romer es el que se emplea directamente para inyección, se evita por lo tanto la limpieza adicional del extracto que es necesaria para TLC. Sin embargo, debido al alto costo del equipo, el método de Cromatografía de Alta Presión en Fase Líquida no está todavía muy difundido (22).

FIG. No. 1



VIII. RESULTADOS

Para los propósitos de la investigación, el estudio se dividió en tres etapas:

1. Análisis de muestras con más de 6 meses de almacenamiento en la época seca.
2. Análisis de muestras recién cosechadas.
3. Análisis de las muestras del inciso dos, después de 2 meses de almacenamiento en la época lluviosa.

En la región donde se recolectaron las muestras es generalizada la utilización de fertilizantes para mejorar el rendimiento de la tierra y el uso de herbicidas para evitar el crecimiento de plantas indeseables. La cosecha es manual entre los campesinos del lugar; los productos son secados al sol en petates, láminas o en patios de cemento. Cuando se han secado lo suficiente, se limpian de basura, se desgranán y se guardan en graneros de lámina. Algunas personas no usan graneros para el maíz, sino lo guardan en la cocina en un lugar alto especialmente constuido y llamado "Tapanco". En este caso el maíz no se desgrana sino que se guarda en mazorca.

Generalmente solo el maíz y el maicillo que se almacenan por largo tiempo se tratan con insecticidas para prevenir el ataque por insectos. El más empleado en la región para este fin es el disulfuro de carbono en pastillas o líquido. El cálculo de la cantidad a emplear para un volumen determinado de granos se hace a criterio de cada agricultor. El disulfuro de carbono se coloca en pequeños frascos herméticamente cerrados con un agujerito en la parte superior que permite la salida de los vapores. El maíz almacenado en la cocina no se trata con disulfuro de carbono, pero cada 2 ó 3 meses se encienden fuegos grandes para detener con el calor cualquier inicio de infestación por insectos.

1. La primera serie de análisis se hizo con 45 muestras de maíz, frijol, maicillo, arroz, ajonjolí y café recolectadas durante el mes de julio de 1978 y con más de 6 meses de almacenamiento durante la época seca.

Mediante el examen físico de las muestras se encontró que solamente 3 de las 45 presentaban daño visible provocado por insectos (Tabla 5). El rango de humedad en este grupo fué de 7.3% a 17.6% con un valor promedio de 13.9%.

El análisis reportó que de las 45 muestras, 14 estaban contaminadas por aflatoxinas; siete estaban por encima de las 20 ppb que es el límite recomendado por la FDA, dos muestras se mantuvieron en el límite y 5 no llegaron a éste. El valor máximo encontrado fué de 37 ppb para una muestra de café y el mínimo fué de 5 ppb para dos muestras de ajonjolí y maicillo (Tabla 1). En todos los productos examinados se encontraron muestras positivas (Tabla 1).

2. Para la segunda serie de análisis se recolectaron 50 muestras de dos libras cada una, la mayoría de maíz y algunas de frijol y arroz, todas correspondientes a la cosecha de 1978. Las muestras se dividieron en dos; cincuenta se analizaron dentro de los 20 días después de la cosecha y los duplicados se almacenaron para la tercera etapa del estudio.

En este grupo el rango de la humedad de las muestras fué de 13.6% a 29.0% y el valor promedio fué de 20.6%.

El examen visual de las 50 muestras dió un total de 16 muestras (32%) con daño físico visible provocado por insectos, principalmente gusano de maíz y gorgojo. Ocho de las 50 muestras analizadas estaban contaminadas con aflatoxinas; tres sobrepasaron el límite de 20 ppb y las 5 restantes estaban por debajo del mismo. Los valores mínimo y máximo encontrados fueron de 9 ppb y 130 ppb respectivamente, correspondientes a muestras de maíz blanco (Tabla 2). Se encontraron muestras positivas de maíz y frijol; ninguna de las 3 muestras de arroz estaban contaminadas (Tabla 2).

3. La tercera etapa del estudio se hizo para observar el efecto del tiempo de almacenamiento en los productos expuestos sin la ayuda de agentes químicos, como se acostumbra en la región cuando se guardan por poco tiempo. Las muestras se almacenaron por espacio de dos meses, tiempo durante el cual se llevó un registro diario de la temperatura y la

humedad relativa del ambiente, factores importantes en el crecimiento de hongos. La temperatura máxima reportada fué de 37°C y la mínima de 20°C. La humedad relativa máxima fué de 95% y la mínima de 62%.

El examen visual de las 50 muestras nos dió un total de 35 muestras (70%) con daño visible provocado por insectos; es decir, que después de dos meses la incidencia de la contaminación por insectos se duplicó. La humedad de las muestras en esta etapa se mantuvo en un rango de 9.8% a 15.9% con un valor promedio de 14.0%.

Doce de las 50 muestras de esta tercera etapa presentaban contaminación por aflatoxinas; se confirmó la contaminación de las muestras positivas de la segunda etapa y cuatro más resultaron contaminadas.

Ocho muestras pasaron el límite de 20 ppb y 4 quedaron dentro del mismo. El valor máximo encontrado fué de 1650 ppb y el mínimo fué de 4 ppb para muestras de maíz blanco (Tabla 3). En esta etapa las 3 muestras de arroz se mantuvieron sin contaminación (Tabla 3).

En las tres etapas las aflatoxinas de mayor incidencia fueron la B1 y la B2, encontrándose muy pocas muestras contaminadas con G1 y G2.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Las muestras analizadas en la primera etapa del estudio contaban con más de 6 meses de almacenamiento durante la época seca, en las condiciones de temperatura y humedad relativa características de la zona suroriental del país. Las muestras se obtuvieron de silos, casas particulares y tiendas y el 60% de las mismas había sido tratado con disulfuro de carbono para prevenir el ataque por insectos.

En esta primera etapa se encontró que el 31% de las muestras estaba contaminado por aflatoxinas. Esto coincide con los resultados de Campos y Marzys que en 1977 encontraron un 26% de contaminación en muestras tomadas de la misma región durante la misma época del año (7). El valor más alto de aflatoxinas encontrado fué de 37 ppb para una muestra de café. Puede observarse que el grado de contaminación por aflatoxinas en este grupo no fué muy alto. La época seca de almacenamiento y la prevención del ataque de insectos mediante la fumigación con disulfuro de carbono, parecen confirmarse como factores determinantes en la reducción de las probabilidades de desarrollo de hongos.

En la segunda fase el 16% de las muestras analizadas resultó contaminado por aflatoxinas. Dieciseis muestras presentaban en mayor o menor grado daño físico visible causado por insectos, pero solamente 4 de éstas presentaban contaminación por aflatoxinas. La infestación por insectos pudo haberse producido antes de la cosecha, durante la recolección o en el tiempo comprendido entre ésta y el análisis.

El valor más alto de aflatoxinas encontrado en esta etapa fué de 130 ppb para una muestra de maíz blanco.

En la tercera etapa el número de muestras con daño visible por insec-tos se duplicó.

Después de dos meses de almacenamiento se confirmaron las contaminadas por aflatoxinas en la segunda etapa y adicionalmente 4 muestras más resultaron positivas. El valor más bajo fué de 4 ppb en una muestra de maíz blanco. En cuatro de las muestras confirmadas el incremento de la

contaminación por aflatoxinas fué notable, el valor más alto fué de 1650 ppb para una muestra de maíz blanco. Este valor máximo de 1650 ppb es más alto que los valores encontrados en estudios previos sobre contaminación por aflatoxinas publicados en Guatemala hasta la fecha. El incremento excesivo pudo deberse a una conjugación de todos los factores necesarios para la proliferación fungal; la muestra tenía un contenido de humedad de 15.0%, presentaba daño físico visible provocado por insectos, lo que deja el grano abierto a la infección y durante el almacenamiento la temperatura y la humedad relativa del ambiente fueron elevadas. Una comparación entre los niveles de contaminación de la segunda y tercera etapa se observa en la Tabla 4.

La mayoría de las muestras analizadas (60) eran de maíz y este número relativamente grande de muestras permite concluir que la susceptibilidad a la contaminación por aflatoxinas en maíz es grande. Sin embargo, aunque el número de muestras es limitado para los otros productos, es evidente que la contaminación puede ocurrir en todos.

En ninguna de las tres etapas del estudio se encontró una correlación entre la humedad de las muestras y el contenido de aflatoxinas. La razón puede ser que las humedades de las muestras contaminadas sobrepasaron casi todas la humedad crítica arriba de la cual el hongo puede desarrollarse. Esta humedad crítica varía de producto a producto (9), pero normalmente se considera como crítica una humedad del sustrato más alta que 14.0% (32).

Aunque en la última serie el daño por insectos fué considerable, solamente 10 de las 35 muestras dañadas fueron positivas en contenido de aflatoxinas. Esto nos indica que para determinar la contaminación deben considerarse todos los factores participantes en el proceso.

Si comparamos la incidencia de daño por insectos en las muestras no tratadas con insecticidas de la última etapa (35 muestras de 50) con la encontrada en las muestras con más de 6 meses de almacenamiento y tratadas con disulfuro de carbono (3 muestras positivas de 45), podemos darnos cuenta de que el empleo de este fumigante es efectivo como medida preventiva del ataque de insectos (Tabla 5).

En cuanto al uso de insecticidas es conveniente el conocimiento, no solamente de sus ventajas, sino también de los riesgos provocados por el empleo inadecuado de los mismos. El disulfuro de carbono se usa corrientemente en la región para el tratamiento de granos. El "Food Additive Regulation" de los Estados Unidos de América lo permite para la fumigación de molinos y en granos para la preparación de bebidas fermentadas, pero no existen tolerancias para los residuos (28).

El disulfuro de carbono es soluble en los constituyentes lípidos y aceites esenciales que pueden estar presentes en varios productos alimenticios. Este compuesto emite vapores muy tóxicos, pero no se tienen datos precisos sobre la velocidad de desaparición de los mismos (31). La inhalación de estos vapores por animales de laboratorio y por el hombre causa múltiples síntomas, especialmente en el Sistema Nervioso Central (SNC) y en el hígado (31). Es un veneno acumulativo cuyos efectos pueden manifestarse después de largo tiempo (31).

El empleo práctico de insecticidas para controlar la infestación por insectos en los productos almacenados tropieza con la misma dificultad que el uso de fungicidas, es decir, el peligro de que queden residuos químicos nocivos. En el área de estudio es corriente el empleo de disulfuro de carbono para prevenir el ataque de insectos en el maíz almacenado, aunque existen varios insecticidas que pueden utilizarse para el mismo propósito.

Un estudio realizado en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), demostró la efectividad del tratamiento de sacos de brin con malatión, para evitar la infestación de insectos en maíz Opaco-2, altamente susceptible al daño y proliferación de insectos. No se investigó la posible presencia de residuos en los granos tratados (15).

X. CONCLUSIONES:

1. El maíz, producto de mayor consumo de la población guatemalteca, es muy susceptible de contaminación por aflatoxinas antes o inmediatamente después de la cosecha.
2. El riesgo de ingerir productos contaminados por aflatoxinas es grande, sobre todo cuando la cosecha se hace durante la época lluviosa, bajo todas las condiciones favorables para el crecimiento de hongos.
3. El clima cálido y húmedo de la región costera de Guatemala, el secado defectuoso de los productos antes de almacenarse y el ataque por insectos, antes y/o después de la cosecha, son los factores que propician el crecimiento y desarrollo de hongos productores de toxinas.
4. Es necesaria la conjugación de los factores mencionados para que los hongos productores de toxinas sean capaces de elaborarlas.
5. El uso correcto de insecticidas en granos almacenados es útil, ya que protegen al grano del ataque de insectos y por consiguiente, de la invasión por hongos.

XI. RECOMENDACIONES

1. Divulgar, usando todos los medios de difusión, los conocimientos actuales sobre las aflatoxinas, microorganismos productores, con condiciones favorables para su desarrollo, factores que ayudan a su diseminación, productos susceptibles y riesgos de consumo de productos contaminados.
2. Enfatizar la importancia de observar medidas de prevención para disminuir el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas en alimentos, como un medio para evitar sus efectos nocivos en la salud.
3. Plantear el problema de las aflatoxinas, su actualidad y sus alcances a las instituciones agropecuarias y de salud, para que aunando esfuerzos, promuevan programas de orientación sobre técnicas de siembra, cosecha, secado y almacenamiento de productos alimenticios susceptibles de contaminación por aflatoxinas.
4. Informar ampliamente sobre los peligros del uso no controlado de los plaguicidas en productos almacenados, por los riesgos de los residuos en los alimentos que constituyen en sí mismos un problema de salud.
5. Recomendar que se integren al curso de Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, los conocimientos sobre la toxicidad de las micotoxinas y sobre técnicas para su detección e identificación.

XII. MEDIDAS DE PREVENCIÓN

Todo alimento expuesto al aire, en forma de materia prima o elaborado, puede ser receptor de las esporas aerivagantes de los hongos. Además, siendo el suelo el habitat principal de los hongos, todo producto agrícola puede contaminarse (9). Considerando las condiciones favorables para el crecimiento y el desarrollo de los hongos, es evidente que los productos alimenticios pueden contaminarse antes, durante o después de la cosecha, durante el transporte o el almacenamiento.

Este peligro sólo puede evitarse utilizando medios idóneos de prevención y control de la contaminación.

En nuestro medio todavía no se hace un control rutinario de aflatoxinas en los productos que circulan en el mercado y, generalmente, se ignora el peligro que representa el consumo de alimentos contaminados. Por esta razón se deben promover campañas de divulgación que informen a la población de esta amenaza y de la necesidad de poner en práctica las medidas preventivas mínimas que permitan, al menos, reducir los riesgos de la contaminación.

La conferencia mixta FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas, recomendó varias medidas de prevención, las cuales son factibles de llevar a la práctica en nuestro medio y se detallan a continuación (9):

1. Destruir malas hierbas, grama y residuos de la cosecha anterior que puedan servir como reservorio de hongos.
2. Reducir al mínimo el daño mecánico de los productos durante el cultivo, la cosecha y los procesos subsecuentes.
3. Usar, si es necesario, fungicidas aprobados para reforzar las medidas de prevención del enmohecimiento de los productos.

4. Limpieza cuidadosa del producto antes del secado y del almacenamiento para quitar todas las sustancias extrañas y los contaminantes que generalmente tienen más esporas de mohos que el mismo fruto.
5. No retardar la iniciación del secado del producto después de la cosecha, particularmente si fué cosechado con niveles altos de humedad. La demora en secar los productos hasta niveles de humedad inócuos, aumenta el peligro de ataque de mohos y de formación de micotoxinas.
6. Secar lo más rápido posible. Un secado prolongado con humedad ambiental elevada, es causa de infección por hongos.
7. No rehumedecer los frutos durante el secado, lo que puede suceder por dos motivos: insuficiente protección contra la lluvia durante el secado al sol, o que el vapor que se desprende de los frutos se condense en los plásticos protectores. Esta agua puede volver a humedecer los frutos y así prolongar el secado y aumentar el riesgo de enmohecimiento.
8. Secar los frutos hasta niveles de humedad inócuos antes de almacenarlos. Para almacenamiento prolongado de cereales, por ejemplo, este nivel no debe rebasar de 13%.
9. Las estructuras de almacenamiento deben estar secas y no permitir la entrada del agua, ni por filtración ni por afloramiento de agua del suelo.
10. En lo posible, conviene mantener la bodega a temperatura y humedad relativa constantes.
11. Siempre que sea posible, almacenar productos de alta calidad; lo ideal es que estén exentos de hongos, insectos y malos olores.
12. Tratar con insecticidas protectores las estructuras de almacenamiento y los cereales a granel , para controlar su infestación por insectos.

13. Conviene proceder, siempre que sea posible, al almacenamiento a baja temperatura, ya que el grado de contaminación está en relación directa con la temperatura.
14. Las condiciones de almacenamiento son aplicables también al transporte de los productos.

XIII. DETOXIFICACION

En países desarrollados se han puesto en práctica métodos para detoxificar productos contaminados con aflatoxinas. El inconveniente de estos métodos es su alto costo, pero ésto es consecuencia del alto nivel técnico requerido para ponerlos en práctica. Algunos de éstos son:

- Detoxificación con amonio. Se basa en el uso de amonio acuoso, cuyas propiedades alcalinas destruyen a las aflatoxinas. El producto obtenido después del tratamiento se usa solamente como alimento para animales (9).
- Dilución de piensos contaminados. Se han empleado también técnicas para rebajar la concentración de aflatoxinas en piensos contaminados y poder usarlos como alimento para animales. Deben tomarse en cuenta ciertas condiciones:
 - Pienso que no contienen más de 1-2 mg de aflatoxinas por Kg (1000-2000 ppb) pueden emplearse mezclándolos con piensos libres de aflatoxinas.
 - Los piensos diluidos de esta manera deben darse a los animales únicamente en el período anterior al sacrificio y nunca a animales jóvenes o reproductores.
 - Ganado con baja susceptibilidad a las aflatoxinas puede consumir piensos contaminados hasta en un 15% de la dieta total (32).

A pesar de todo, estas medidas resultan poco prácticas en gran escala y no siempre son totalmente eficaces. Por lo tanto, las medidas preventivas son el mejor método para evitar la contaminación de los productos alimenticios por hongos (32).

XIV. BIBLIOGRAFIA

1. Association Official Analytical Chemist. Washington, D. C. Official methods of analysis. 12th ed. Washington, D. C. pp. 466-467. 1975.
2. Barnes, J. M. y W. H. Butler. "Carcinogenic activity of aflatoxin to rats". Nature, 202: 1016. 1964.
3. Beacham, L. M. The scope and magnitude of work for the setting of international standards for contaminants and pollutants in foods. Jont FAO/WHO food Standards Programme, Codex Alimentarius Commission, 11 th Session, 1976. [Rome, Italy] FAO-WHO, 1974. pp. 25-30.
4. Butler, W. H. "Review of the toxicology of aflatoxin". En: Symposium on the control of mycotoxins. Goteborg, Sweeden, 21-22 August 1972. [London, Butter Worth & Co. Ltd., 1973] pp. 217-222.
5. Campbell, A. D. "Procedimientos empleados en la identificación de micotoxinas en los alimentos". En: Conferencia Interamericana sobre Toxi-infecciones de Origen Alimentario. Guatemala, 22-26 octubre, 1974. Editor: A. E. Olszyna Marzys. [Guatemala, INCAP, 1974] pp. 76-85. (INCAP L-6).
6. Campbell, T. C. y L. Stoloff. "Implication of mycotoxins for human health". J. Agr. Food. Chem., 22:1006-1015. 1974.
7. Campos Marit de, y A. e. Olszyna Marzys. "Aflatoxin contamination in grain and grains products during the dry season in Guatemala, C. A.". Bull. Environ. Contam. Toxicol., 22(3): 350-356. 1979.
8. Conferencia Mixta FAO/OMS/PNUMA sobre Micotoxinas. Nairobi, Kenya, 19-27 septiembre 1977. Aspectos sanitarios y toxicológicos de las micotoxinas. [Roma, FAO, 1977] 10 p. (Tema 4 del programa, MYC-4b).
9. _____. Prevención de la contaminación de alimentos y forrajes por micotoxinas. [Roma, FAO, 1977] 13 p. (Tema 5 del programa, MYC-5).
10. Federal Register, 39(236): 21 CRF Part 122, Friday, December 6, 1974 En: Campos, Marit de y A. E. Olszyna Marzys. "Aflatoxin contamination in grain and grains products during the dry season in Guatemala, C. A." Bull. Environ. Contam. Toxicol., 22(3): 350-356. 1979.

11. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Report of the Joint FAO/WHO/UNEP Conference on Mycotoxins. Nairobi, Kenya, 19-27 septiembre 1977. [Roma, FAO, 1977] pp. 4-14.
12. _____. pp. 22-33.
13. Garza, J. L. de la. Aflatoxinas en alimentos para puercos, conejos y aves en el área de Monterrey. Monterrey, México, Proveedora Técnica, S. A., 1977. 5p. (Boletín interno No. 3).
14. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Evaluación nutricional de la población de Centro América y Panamá; Guatemala [Editado por el] INCAP, Oficina de Investigaciones Internacionales de los Institutos Nacionales de E.E.U.U. [y] Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social [de Guatemala] Guatemala, 1969. pp70-71, 84.
15. _____. Informe anual, 1978. Guatemala, 1979. p.5
16. Jarvis, S. "The significance of mycotoxins in foods". Proc. Inst. Food Sc. Technol., 8:88-92. 1975.
17. Kaper, K. B.; D. I. Fennell y P. K. C. Austwick. The genus Aspergillus. Baltimore, Williams & Wilkins, 1965. p. 686.
18. Lillehoj, E. B. y C. W. Hesseltine. "Aflatoxin control during plant growth and harvest of corn". En: Conference on Mycotoxins in human and animal health. University of Maryland, University College, College Park, Maryland, october 4-8, 1976. Proceedings. [Park Forest South, Illinois, Pathotox Publishers, Inc., 1977] pp. 107-118.
19. _____. "Aspergillus flavus and aflatoxin in Iowa corn before harvest". Science, 193:495-496. 1976.
20. Martínez, M. L. "Prevalencia de hongos en granos de maíz de Guatemala". Turrialba, 20:311-319. 1970.
21. Pons, Walter A. y A. O. Franz. "High pressure liquid chromatographic determination of aflatoxins in peanut products". J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61(4):793-800. 1978.
22. Rodricks, J. V. "Hazards from nature aflatoxins". FDA Consumer, 12(4):16-19. 1978.
23. Romer, T. "Screening method for the detection of aflatoxins in mixed feeds and other agricultural commodities with subsequent confirmation and quantitative measurement of aflatoxins in positive samples". J. Assoc. Off. Anal. Chem., 58:500-506. 1975.

24. Schneider, S. "Micotoxinas en alimentos". En: Conferencia Interamericana sobre Toxi-infecciones de Origen Alimentario. Guatemala, 22-26 octubre 1974. Editor: A. E. Olszyna Marzys. Guatemala, INCAP, 1974. pp 89-96. (INCAP L-6).
25. Stoloff, L. "Aflatoxins-an overview". En: Conference on Mycotoxins in human and animal health. University of Maryland, University College, College Park, Maryland, october 4-8, 1976. Proceedings. Park Forest South, Illinois, Pathotox Publishers, Inc., 1977 pp. 7-25.
26. Tropical Products Institute. London. Methods of aflatoxin analysis. London. p.17. 1972.
27. Ulloa Sosa, M. y H. W. Schroeder. "Note on aflatoxin descomposition in the process of makin tortillas from corn". Cereal Chem., 46: 397-400. 1969.
28. U. S. Departament of Health Education and Welfare. Food aditives analytical manual. Food Additive Reg. 121.1133, 121.1152, Carbon Disulfide Maryland, 1973. 1 v. (paginación variada).
29. Vega, Naty. "Screening method for aflatoxins, zearalenone, ocratoxins and citrinin". En: Symposium 5th international on animal, plant and microbial toxins. San José Costa Rica, 8-13 August 1976. 7 p. (mimeografiado).
30. Velasco, J. "Fluorometric measurement of aflatoxin adsorbed on florisil in minicolumns". J. Assoc. Off. Anal. Chem., 58:757-763. 1975.
31. Vettorazzi, G. "Miscellaneous pesticides used in agriculture and public health". Residue Rev., 66:160. 1976.
32. Zintzen, H. El problema de las aflatoxinas. Montevideo, Uruguay, Roche International Ltd. Servicio Técnico, 1975. p. 11.

/ A N E X O S /

TABLA 1

CONTENIDO DE AFLATOXINAS EN GRANOS CON MAS DE SEIS MESES
DE ALMACENAMIENTO DURANTE LA EPOCA SECA
(ppb)

PRODUCTO	MUESTRAS ANALIZADAS POSITIVAS		MUESTRAS CON AFLATOXINAS				AFLATOXINAS ENCONTRADAS (en una o más muestras)
	(n)	(n)	< 5	6-20	(n) 21-100	Valor > 100 Máximo	
MAIZ*	18	3			3	30	B1, B2, G1, G2
FRIJOL NEGRO	4	4		4		20	B1, B2, G1
MAICILLO*	9	3	1	1	1	25	B1, B2
CAFE	4	2			2	37	B1
AJONJOLI	6	1	1			5	B1
ARROZ	4	1			1	30	B1, B2
TOTAL	45	14	2	5	7		
POSITIV./TOT.		31%	4%	11%	16%		

* Tratadas con bisulfuro de carbono.

TABLA 2

CONTENIDO DE AFLATOXINAS EN GRANOS ANALIZADOS
DENTRO DE 20 DIAS DESPUES DE LA COSECHA
(ppb)

PRODUCTO	MUESTRAS		MUESTRAS CON AFLATOXINAS				AFLATOXINAS ENCONTRADAS (en una ó más muestras)
	ANALIZADAS (n)	POSITIVAS (n)	≤ 5	6-20	(n) 21-100	Valor Máximo	
MAIZ	42	7		4	2	1 130	B1, B2, G1, G2
FRIJOL NEGRO	5	1		1		10	B1, B2, G1, G2
ARROZ	3	0					
TOTAL	50	8		5	2	1	
POSITIVAS/TOT.		16%		10%	4%	2%	

TABLA 3

CONTENIDO DE AFLATOXINAS EN LAS MUESTRAS DE LA TABLA 2 DESPUES DE 2 MESES
DE ALMACENAMIENTO DURANTE LA EPOCA LLUVIOSA
(ppb)

PRODUCTO	MUESTRAS ANALIZADAS POSITIVAS		MUESTRAS CON AFLATOXINAS				Valor Máximo	AFLATOXINAS ENCONTRADAS (en una ó más muestras)
	(n)	(n)	< 5	6-20	(n) 21-100	> 100		
MAIZ	42	10	3		1	6	1650	B1, B2, G1, G2
FRIJOL NEGRO	5	2		1	1		30	B1, B2, G1, G2
ARROZ	3	0						
TOTAL	50	12	3	1	2	6		
POSITIVAS/TOT.		24%	6%	2%	4%	12%		

TABLA 4

CONTENIDO DE AFLATOXINAS

COMPARACION ENTRE NIVELES ENCONTRADOS INMEDIATAMENTE DESPUES DE LA COSECHA
Y DESPUES DE 2 MESES DE ALMACENAMIENTO

PRODUCTO	INMEDIATAMENTE DESPUES DE COSECHA		DOS MESES DE ALMACENAMIENTO	
	POSITIVAS/TOTAL (n)	AFLATOXINAS, ppb MINIMO MAXIMO	POSITIVAS/TOTAL (n)	AFLATOXINAS, ppb MINIMO MAXIMO
MAIZ	7/42	9 130	10/42	4 1650
FRIJOL NEGRO	1/5	10	2/5	9 30
ARROZ	0/3		0/3	

TABLA 5

DAÑO POR INSECTOS EN GRANOS

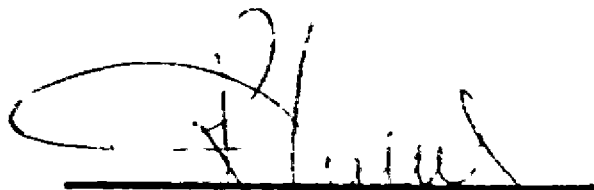
PRODUCTO	MUESTRAS DAÑADAS / TOTAL			MUESTRAS DAÑADAS/ MUESTRAS CON AFLATOXINAS		
	1oE*	2oE	3oE	1oE	2oE	3oE
MAIZ	2/18**	13/42	35/42	1/3	5/7	8/10
FRIJOL NEGRO	0/4	3/5	2/5	0/4	1/1	2/2
ARROZ	0/4	0/3	0/3	0/1	0/0	0/0
CAFE	0/4			0/2		
MAICILLO**	1/9			0/3		
AJONJOLI	0/6			0/1		
TOTAL	3/45 (7%)	16/50 (32%)	35/50 (70%)	1/14 (7%)	6/8 (75%)	10/12 (83%)

* E= ETAPA

** TRATADO CON BISULFURO DE CARBONO.


Prof. JAVIER CRESPO SANTOS


Ing. MARIT K. JOHANSEN DE CAMPOS
ASESOR


Lic. RODRIGO HERRERA
Director de la Escuela de
Química Farmacéutica.

Vo. Bo. :


Lic. LEONEL CARRILLO R.
DECANO

Guatemala, agosto de 1979.