

Valor nutritivo del maíz infectado con hongos en pollos y de tortilla de maíz fungoso en ratas¹

MARÍA LUISA MARTÍNEZ², LUIZ G. ELÍAS³, JULIO FRANCISCO
RODRÍGUEZ², ROBERTO JARQUÍN³ Y RICARDO BRESSANI⁴
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, C. A.

RESUMEN

Se describe un estudio cuyo propósito primordial fue determinar el efecto de varios hongos sobre el valor nutritivo del maíz. Para el caso, el cereal se inoculó e incubó después de su esterilización con cuatro hongos aislados de muestras de maíz procedentes de diferentes zonas de Guatemala. Los hongos sometidos a estudio fueron diversas especies de *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*. Se utilizó como dieta testigo, maíz sin inocular, pero sometido a esterilización. Se prepararon cinco dietas a base de harinas de semilla de algodón y de pescado: 4 de ellas incluían 49.5% de cada una de las porciones de maíz infectado con los hongos, y la quinta el mismo porcentaje del cereal control. Estas raciones se usaron para alimentar pollos de 3 días de edad por un período de 5 semanas. El maíz infectado produjo menor crecimiento en los animales, acentuándose este fenómeno conforme el tiempo de experimentación

1 Esta investigación se desarrolló con ayuda financiera de la Fundación W. K. Kellogg, con sede en Battle Creek, Michigan, E.U.A.

2 Los trabajos que aquí se dan a conocer constituyen parte de los trabajos de tesis elaborados por la señorita Martínez, previo a obtener el título de Ingeniero Agrónomo de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, y del señor Rodríguez, previo a obtener el título de Perito Agrónomo de la Escuela Nacional de Agricultura del mismo país. Ambos trabajaron en los laboratorios y demás instalaciones de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, como becarios de la Institución.

3, 4 Científicos y Jefe de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP, respectivamente.
Publicación INCAP E-419.

Recibido: 10-11-1969

se prolongaba. De los cuatro hongos sometidos a estudio, el *Aspergillus flavus* fue el que indujo el menor crecimiento. El consumo de alimento disminuyó también pero los índices de utilización del alimento y de la proteína fueron similares a los obtenidos con el grupo testigo. Esto sugiere que el crecimiento deficiente de los pollos se debió a la presencia de sustancias producidas por el hongo posiblemente tóxicas.

Se encontró que la inoculación de *A. flavus*, *A. versicolor*, *Penicillium* spp., *Fusarium roseum* y *F. moniliforme* alteraba la composición del grano, siendo el hallazgo más interesante el aumento en el contenido de proteínas, que en el caso del *Fusarium roseum* y del *A. flavus*, llegó a triplicarse. Los ensayos biológicos llevados a cabo revelaron que el uso de maíz infectado con hongos en la crianza de animales puede causar una pobre utilización del alimento, así como la muerte de los animales que lo consumen. Otro resultado digno de subrayar es el hecho indicativo de que el procedimiento usual de elaboración de tortillas en el área, usando hidróxido de calcio para la cocción del maíz, puede eliminar los efectos adversos causados por *A. flavus* en el maíz crudo.

INTRODUCCION

La contaminación ocasional de los alimentos, por hongos, representa una situación que posiblemente ha existido durante muchos años. Ello es muy probable en vista de la amplia distribución de los hongos, las oportunidades frecuentes de contaminación y condiciones favorables para que se desarrollen durante la cosecha, el almacenamiento y el manejo de los productos de la agricultura.

Sin embargo, en el pasado, el interés principal en el deterioro de los alimentos inducido por los hongos se relacionaba con las pérdidas económicas asociadas a la calidad física u otras características del alimento. El impacto de la contaminación de alimentos por hongos puede causar daños de mucha importancia económica. En 1960 Inglaterra perdió 100,000 pavos debido a que la harina de maní usada en su alimentación estaba contaminada con *Aspergillus flavus*, productor de micotoxinas de alta toxicidad (1-3).

El problema del deterioro del valor nutritivo de alimentos, sobre todo de los cereales, ha sido abordado por varios investigadores. Mitchell y colaboradores (4), por ejemplo, informaron que el sabor del maíz infectado por *Nigrospora* no acusaba alteraciones, pero que las calorías del grano eran menos digeribles que las del maíz sano. Por otra parte, Hunt *et al.* (5) manifestaron que el maíz infectado por hongos contenía mayores cantidades de niacina y de ácido pantoténico y que

no causaba efectos tóxicos en pollos alimentados con éste. Joffe (6) señala en uno de sus trabajos que los hongos de cereales almacenados por períodos prolongados producen toxinas que causan aleukia tóxica alimentaria en el hombre. Christensen y Kernkamp (7) dan cuenta de molestias digestivas en cerdos, resultantes del consumo de cebada infectada con especies de *Fusarium*. Resultados similares han sido informados por muchos otros investigadores (8-13) y el problema global ha sido también examinado (14, 15).

Martínez y colaboradores encontraron en un estudio (16) que el maíz en Guatemala acusaba una alta contaminación por hongos de varias especies. En vista de la importancia que dicho cereal tiene en muchos países latinoamericanos, tanto en la crianza de animales como para la nutrición humana, se decidió investigar: a) el efecto de los hongos en la utilización del maíz infectado con éstos, en pollos, y b) el efecto del proceso de cocción sobre el valor nutritivo del maíz contaminado por *Aspergillus flavus* para la elaboración de tortillas, forma en que dicho cereal se consume corrientemente en la región.

MATERIAL Y METODOS

A. Estudios en Pollos

1. Hongos

Los hongos que se emplearon en la inoculación del maíz fueron aislados de maíces guatemaltecos infectados (16). Después de su aislamiento en cepas puras se procedió a identificarlos, preparándose para el caso cantidades adecuadas de medio de cultivo de agar, sal y malta en las proporciones de 2, 10 y 2% para la preparación de suficiente inóculo. Los hongos usados en el estudio fueron: a) *Fusarium sp.*, b) *Penicillium spp.*, c) *Aspergillus niger*, y d) *Aspergillus flavus*.

2. Inoculación del maíz

Para la siembra del hongo en el maíz se prepararon suspensiones de las esporas del cultivo del hongo en agua destilada y esterilizada. Se quebrantaron alrededor de 20 libras de maíz amarillo para cada hongo, sometién dose al autoclave a una temperatura de 121°C y a 16 libras de presión por pulgada cuadrada durante 15 minutos, usando agua en la proporción de más o menos 40% del peso del maíz, para esterilizarlo.

Luego se inoculó el maíz con la suspensión de esporas de los diferentes hongos. Con propósitos de control se usó una cantidad igual de maíz esterilizado, pero sin inocular. Una vez quebrado, el maíz fue inoculado y se incubó por espacio de 12 días a temperaturas de 26 a 28°C. Después el grano se deshidrató y molió para facilitar su incorporación en la dieta. Con el fin de efectuar análisis químicos y establecer cambios significativos en cuanto a composición proximal, se recolectó una muestra de 100 g.

3. *Elaboración de las dietas*

La composición de las raciones utilizadas en esta investigación se indica en el Cuadro N° 1. La proteína de la dieta procedía de harina de algodón (38%) con un contenido proteínico de 50%, y para corregir posibles deficiencias de aminoácidos esenciales se suplementó con 8% de harina de pescado (sardina). Además, se agregó 4% de sales minerales (17), 0.5% de aceite de hígado de bacalao y 2 ml de una solución completa de vitaminas (18). El resto de la dieta contenía 49.5% de maíz infectado con los diferentes hongos, y la ración control, el mismo porcentaje de maíz, pero sin contaminar. Las raciones contenían de 28.0 a 29.7% de proteína y 2500 Kcal/kg.

4. *Ensayos biológicos*

Estas pruebas se llevaron a cabo en 100 pollos machos de la estirpe Indian River Hybro, clase "broiler", de 3 días de edad, los cuales fueron identificados mediante anillos metálicos numerados. Los animales se distribuyeron según su peso en 5 grupos de 20 pollos cada uno, siendo el peso inicial promedio, por grupo, de 50.5 gramos. Cada tratamiento fue replicado dos veces, asignando 10 pollos por réplica.

Los animales se alojaron en jaulas metálicas equipadas con sus respectivos termostatos para control adecuado de temperatura; el ensayo duró 5 semanas, período durante el cual se les suministró alimento y agua *ad libitum*. Cada 7 días se pesaron los pollos y el alimento con el fin de establecer el incremento ponderal, los índices de eficiencia de la proteína y de utilización del alimento, así como para determinar cualquier efecto adverso de la dieta sobre el crecimiento de los animales.

CUADRO N° 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS USADAS EN LOS ESTUDIOS
CON POLLOS

(expresada en términos de porcentaje)

Ingredientes	Dietas No.				
	1	2	3	4	5
Harina de algodón ¹	38	38	38	38	38
Harina de pescado ²	8	8	8	8	8
Minerales (Salmina) ³	4	4	4	4	4
Aceite de hígado de bacalao ⁴	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Maíz control	49.5	-	-	-	-
Maíz amarillo inoculado con <u>Fusarium</u> sp.	-	49.5	-	-	-
Maíz amarillo inoculado con <u>Penicillium</u> spp.	-	-	49.5	-	-
Maíz negro inoculado con <u>Aspergillus niger</u>	-	-	-	49.5	-
Maíz amarillo inoculado con <u>Aspergillus flavus</u>	-	-	-	-	49.5
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Solución de vitaminas ⁵ (ml)	2	2	2	2	2

¹ Producida por el método de pre-prensa solvente en la fábrica Borgonovo Hnos., Zacatecoluca, El Salvador (50% de proteína, 3.6 g/16 gN de lisina disponible y 0.060% de gospol libre).

² Harina de pescado preparada con sardina grande y pequeña de Guatemala.

³ Mezcla de minerales producida por la Compañía Riverside, ciudad de Guatemala. Contiene 33% de carbonato de calcio; 33% de harina de hueso; 33% de sal yodada y 1% de elementos menores.

⁴ Mead Johnson International, Evansville, Indiana, E.U.A.

⁵ Manna, L. & S. M. Hauge. J. Biol. Chem., 202: 91-96, 1953.

B. Estudios en Ratas

1. Preparación del material

Se depositaron 300 g de maíz amarillo entero en frascos de 16 onzas, agregándosele un exceso de agua destilada y esterilizándolo dos veces en períodos de 20 y 15 minutos, a 125°C y a 16 libras de presión/pulgada cuadrada, con un intervalo de 48 horas. Después de esterilizado se decantó el ex-

ceso de agua y se inoculó con una solución de esporas de *Aspergillus flavus*. La incubación se hizo a temperatura ambiente. A los 30 días se sacó el material y se sometió a secamiento en horno a la temperatura aproximada de 50°C. El maíz usado como dieta control se preparó en la misma fecha que el anterior, salvo que, según se dijo, no se sometió a inoculación. Además, otras muestras de maíz fueron inoculadas con *F. roseum*, *A. versicolor*, *Penicillium spp.* y *F. moniliforme*, las que después de 30 días de incubación fueron sometidas a análisis químico únicamente.

2. *Elaboración de las tortillas*

Estas fueron preparadas ciñéndose al método descrito por Bressani *et al.* (19). En el caso del maíz que había sido inoculado con *A. flavus*, la cantidad de hidróxido de calcio utilizada, y el período de cocción, fueron menores. La duración de este último dependió del tiempo que el pericarpio tardó en desprenderse.

3. *Preparación de las dietas*

Se elaboraron cuatro raciones diferentes, cuya composición se da a conocer en el Cuadro N° 2.

4. *Ensayos biológicos*

Se usaron seis grupos de ratas Wistar de la colonia animal del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), cada uno integrado por cuatro hembras y cuatro machos. En los cuatro primeros grupos las ratas de 22 días de edad tenían un peso inicial promedio de 48 g, y se les suministró las dietas Nos. 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Los otros dos grupos estuvieron constituidos por ratas de aproximadamente 66 días de edad y fueron alimentados con las dietas Nos. 1 y 2 que se describen en el Cuadro N° 2. En este caso, el peso inicial promedio fue de 162 g. Todos los grupos estuvieron sometidos a dichas dietas durante un período de seis semanas. A los grupos 1, 2, 3 y 4 se les mantuvo, durante 4 semanas más, con una dieta de caseína cuya composición se indica en el Cuadro N° 3. El propósito de esta medida fue examinar los hígados para establecer trastornos patológicos, los cuales toman algún tiempo en aparecer.

CUADRO N° 2

COMPOSICION DE LAS DIETAS EMPLEADAS EN LOS ESTUDIOS
CON RATAS

(expresada en términos de porcentaje)

Ingredientes	Dietas No.			
	1	2	3	4
Maíz esterilizado ¹	80.0	-	-	-
Maíz inoculado con <i>Aspergillus flavus</i>	-	80	-	-
Tortillas de maíz esterilizado	-	-	80	-
Tortillas de maíz con <i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	80
Minerales ²	4.0	4.0	4.0	4.0
Aceite de semilla de algodón	5.0	5.0	5.0	5.0
Aceite de hígado de bacalao ³	1.0	1.0	1.0	1.0
Caseína libre de vitaminas	10.0	10.0	10.0	10.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0
Solución de vitaminas ⁴ (ml)	5	5	5	5

¹ Maíz amarillo.² Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. *J. Biol. Chem.*, 138: 459-466, 1941. La mezcla de minerales fue obtenida de Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.³ Mead Johnson International, Evansville, Indiana, E.U.A.⁴ Manna, L. & S. M. Hauge. *J. Biol. Chem.*, 202: 91-96, 1953.5. *Análisis químicos*

El maíz utilizado en la preparación de las raciones de ambos estudios fue analizado para determinar su contenido de humedad, grasa, fibra cruda, ceniza, nitrógeno y proteína, empleando para el caso los métodos de la A.O.A.C. (20).

RESULTADOS

A. *Análisis Químico del Maíz*

Los análisis químicos de las muestras de maíz infectado con cada uno de los cuatro hongos, así como del cereal control usado en el estudio en pollos, constan en el Cuadro N° 4. Según el examen de los datos, éstos no señalan mayores cam-

CUADRO N° 3

COMPOSICION DE LA DIETA SUPLEMENTARIA

Ingredientes	%
Caseína	20.0
Aceite de semilla de algodón	5.0
Aceite de hígado de bacalao ¹	1.0
Minerales ²	4.0
Glucosa	20.0
Almidón de maíz	49.9
Vitaminas (Dohyfral ³ para pollos)	0.1
Total	100.0

¹ Mead Johnson International, Evansville, Indiana, E.U.A.

² Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. *J. Biol. Chem.*, 138: 459-466, 1941. La mezcla de minerales fue obtenida de Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio, E.U.A.

³ Producto comercial Phillip-Dophar, Holanda.

bios en los componentes investigados, salvo el posible aumento en cuanto al contenido de grasa que acusaron todos los maíces, exceptuando el infectado con *A. flavus*. En el mismo Cuadro también pueden apreciarse los cambios observados en el contenido de grasa, fibra cruda, proteína y ceniza que produjeron los hongos *Fusarium roseum*, *Aspergillus flavus*, *A. versicolor*, *Penicillium spp.* y *F. moniliforme* con que se inocularon varias muestras de maíz. Los cinco hongos sometidos a estudio incrementaron el contenido de las sustancias químicas antes mencionadas en el maíz. El dato más interesante es el correspondiente a proteína, que, como se ve, aumentó tres veces o por lo menos se duplicó. La fibra cruda alcanzó de 4 a 8 veces su valor original.

CUADRO N° 4

COMPOSICION DE LOS MAICES INOCULADOS CON DIFERENTES HONGOS¹

(expresada en términos de porcentaje)

Material ²	Humedad	Extracto etéreo	Fibra cruda	Proteína	Ceniza
<u>Maíz usado en dietas para pollos</u>					
Control	13.4	4.0	2.1	11.0	1.4
Infectado con <u>Fusarium sp.</u> ³	12.5	5.6	3.4	10.1	1.3
Infectado con <u>Penicillium spp.</u>	10.6	5.1	3.1	10.1	1.0
Infectado con <u>Aspergillus niger</u>	12.5	5.0	2.9	10.1	1.2
Infectado con <u>Aspergillus flavus</u>	12.2	3.6	3.5	10.1	1.1
<u>Otras muestras</u>					
Control ⁴	14.4	4.1	2.3	6.8	1.20
Esterilizado ⁴	13.2	4.0	2.0	7.0	1.10
Inoculado con:					
<u>Fusarium roseum</u> ⁵	11.7	5.7	26.7	26.7	3.87
<u>Aspergillus flavus</u> ^{4,6}	11.1	5.1	15.9	21.4	4.15
<u>Aspergillus versicolor</u> ⁶	10.8	4.2	17.9	19.2	2.96
<u>Penicillium spp.</u> ⁶	12.0	5.1	17.9	17.5	3.82
<u>Fusarium moniliforme</u> ⁶	11.2	6.0	8.2	16.3	2.33

¹ Valores dados en base seca.² Maíz amarillo molido.³ De 12 días de desarrollo.⁴ Usado en dietas para ratas.⁵ De 6 meses de desarrollo.⁶ De 30 días de desarrollo.

CUADRO N° 5
CRECIMIENTO DE POLLOS ALIMENTADOS CON MAIZ INFECTADO
CON DIFERENTES HONGOS

Tratamiento	Aumento ponderal ¹ g	Alimento consumido g	Indice de utilización del alimento	Indice de eficiencia proteica	Mortalidad
Control	695	1272	1.83	1.84	1/20*
<u>Fusarium sp.</u>	661	1234	1.86	1.91	0/20
<u>Penicillium spp.</u>	603	1181	1.95	1.75	1/20**
<u>Aspergillus niger</u>	612	1164	1.90	1.85	1/20*
<u>Aspergillus flavus</u>	530	1009	1.90	1.85	2/20*

¹ Peso promedio inicial: 50 g. Duración del estudio: 5 semanas.

* Ocurrida durante los primeros 15 días del estudio.

** Ocurrida durante la última semana del estudio.

CUADRO N° 6
EFFECTO DEL MAIZ INOCULADO CON ASPERGILLUS FLAVUS
UTILIZADO COMO ALIMENTO EN LA ELABORACION DE
TORTILLAS, SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS RATAS

Tratamiento	Aumento ponderal ² g	Alimento consumido g	Indice de utilización del alimento	Mortalidad
<u>Ratas jóvenes</u>				
Maíz control (esterilizado) ¹	228	719	3.2	0/8
Maíz con <u>Aspergillus flavus</u>	24*	211	8.8	7/8
Tortillas control (con maíz esterilizado)	221	708	3.2	0/8
Tortillas de maíz con <u>Aspergillus flavus</u>	186	651	3.5	0/8
<u>Ratas adultas</u>				
Maíz control (esterilizado)	132	701	5.3	0/8
Maíz inoculado con <u>Aspergillus flavus</u>	27**	260	--	6/8

¹ Maíz amarillo. En cada grupo se usaron 8 ratas: 4 hembras y 4 machos. Los grupos del 1 al 4 estaban constituidos por ratas de cuatro semanas de edad. Los grupos 5 y 6 eran ratas adultas de más o menos 10 semanas de edad. El maíz inoculado con Aspergillus flavus tenía 1 mes de incubación.

² Seis semanas.

* Este dato corresponde a la única rata sobreviviente.

** Promedio de las dos ratas sobrevivientes.

B. Ensayos Biológicos

1. En pollos

Los resultados obtenidos en las pruebas en pollos se presentan en el Cuadro N^o 5. Todos los hongos, según se nota, indujeron un menor ritmo de crecimiento en los animales, siendo mayor el efecto en el caso del maíz infectado con *A. flavus*, luego con *Penicillium spp.*, *A. niger* y, finalmente, con *Fusarium sp.* Pudo notarse que, conforme el experimento avanzaba, las diferencias entre el grupo control y los experimentales se acentuaban, especialmente en el caso del maíz infectado con *A. flavus*.

El consumo promedio de alimento guarda relación con los incrementos ponderales, habiendo ingerido cantidades menores de ración los pollos que consumieron maíz infectado con *A. flavus*, *A. niger* y *Penicillium spp.* Este paralelismo entre los aumentos en peso y el alimento ingerido se considera el factor responsable de que el índice de utilización del alimento, el cual fue relativamente bueno, no hubiese sido alterado. El índice de utilización de la proteína fue similar para todos los grupos, con un valor ligeramente inferior para el grupo de aves alimentadas con maíz inoculado con *Penicillium spp.* y ligeramente superior para los que consumieron la ración preparada con maíz infectado con *Fusarium sp.*

La mortalidad fue relativamente baja, habiéndose observado la muerte de 1 a 2 pollos al inicio del estudio en los grupos control, y en los alimentados con maíz infectado con *A. niger* y *A. flavus*, mientras que en el grupo que recibió maíz inoculado con el hongo *Penicillium* solamente murió un animal al final del estudio.

Durante el ensayo se observó que en el caso de los cuatro tratamientos aplicados, varios pollos desarrollaron perosis, siendo ésta más notoria en los grupos cuya ración contenía *Penicillium spp.* y *A. niger*. Pudo apreciarse, asimismo, que los animales de todos los grupos acusaron diarrea moderada a partir de la tercera semana.

2. En ratas

El Cuadro N^o 6 muestra el crecimiento de los diferentes grupos de ratas, la ración que ingirieron, el índice de utilización del alimento y la mortalidad observada.

Las ratas jóvenes alimentadas con maíz esterilizado o con

tortillas preparadas con éste acusaron un crecimiento normal, ingirieron bien el alimento y no se registraron entre ellas casos de mortalidad. El índice de utilización del alimento fue similar para los dos grupos. Las ratas jóvenes alimentadas con maíz inoculado con *A. flavus* disminuyeron de peso, ingirieron poco alimento y 4 a 10 días después de iniciado el experimento murieron siete de ocho animales. Las ratas jóvenes que consumieron tortillas a base de maíz inoculado con *A. flavus* crecieron normalmente, no obstante que su incremento ponderal y consumo de alimento fueron menores que las que recibieron la dieta control a base de tortillas con maíz esterilizado. En este grupo no se registraron casos de mortalidad (Gráficas 1 y 2).

Las ratas adultas alimentadas con la ración preparada con maíz esterilizado crecieron menos que las ratas jóvenes sometidas a igual tratamiento, a causa de su edad. No hubo problemas en la ingestión de la dieta y el índice de utilización del alimento fue ligeramente mayor en este grupo que en el de ratas jóvenes alimentadas con la misma dieta. Tampoco se registraron casos de mortalidad. Las ratas adultas que consumieron la ración de maíz inoculado con *A. flavus* perdieron peso, ingirieron poco alimento y seis de ocho ratas murieron en períodos de 14 a 32 días a partir del inicio del experimento. Las ratas hembras de los grupos alimentados con la dieta de maíz inoculado con *A. flavus* acusaron resistencia a las toxinas producidas por el hongo. En los grupos de ratas jóvenes, los machos murieron a los 3 ó 4 días de comenzarse el ensayo, mientras que entre las hembras esa mortalidad ocurrió del 4º al 10º día. Las ratas macho adultas murieron del 14º al 15º día y las hembras del 30º al 32º día. Los animales sobrevivientes de ambos grupos eran hembras (Gráficas 3 y 4).

Los síntomas pre-mortem fueron nerviosidad, incoordinación en los movimientos, falta de equilibrio, decaimiento, heces y orina oscuras y pelo hirsuto. El examen microscópico post-mortem mostró mucosas externas ligeramente anémicas, sangre pálida y fluida, riñones de volumen levemente aumentado y de color rojo castaño; la vejiga urinaria llena de orina oscura (el examen de laboratorio a que se sometieron reveló presencia de hemoglobina); el estómago acusó nódulos pequeños de 2 mm de diámetro, en la región cardíaca, con un

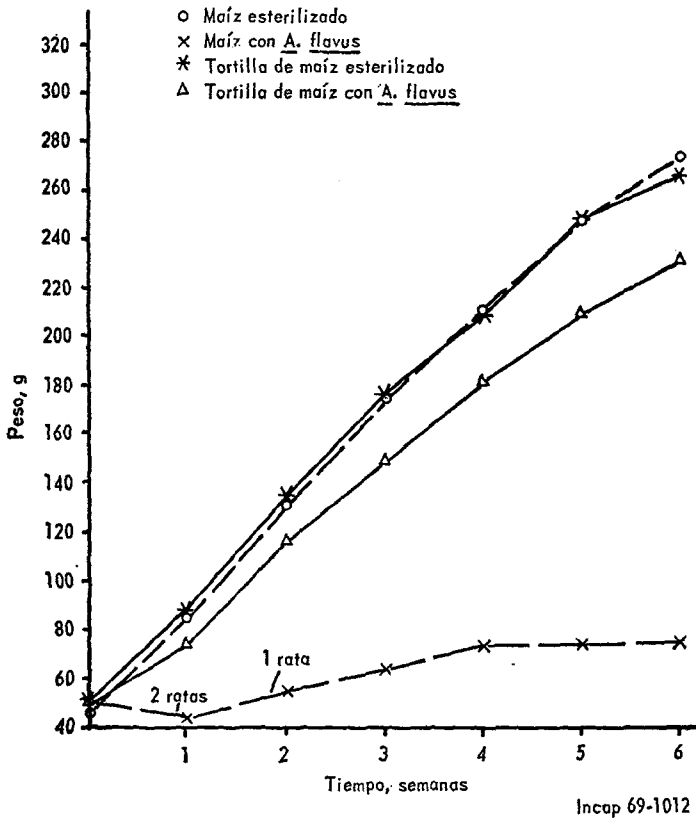


Figura 1
 Aumento ponderal de las ratas incluidas en el ensayo biológico.

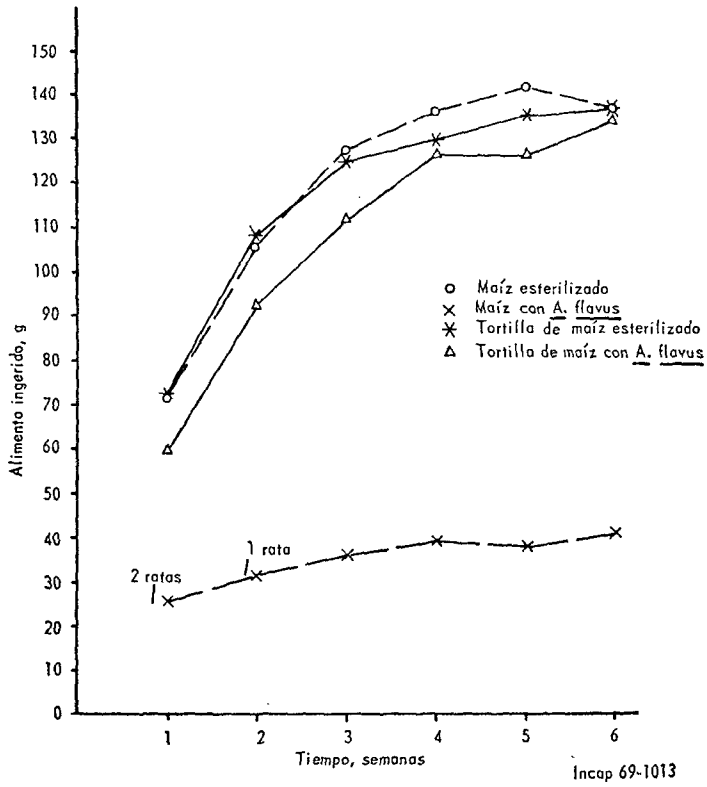


Figura 2
Alimento ingerido por las ratas.

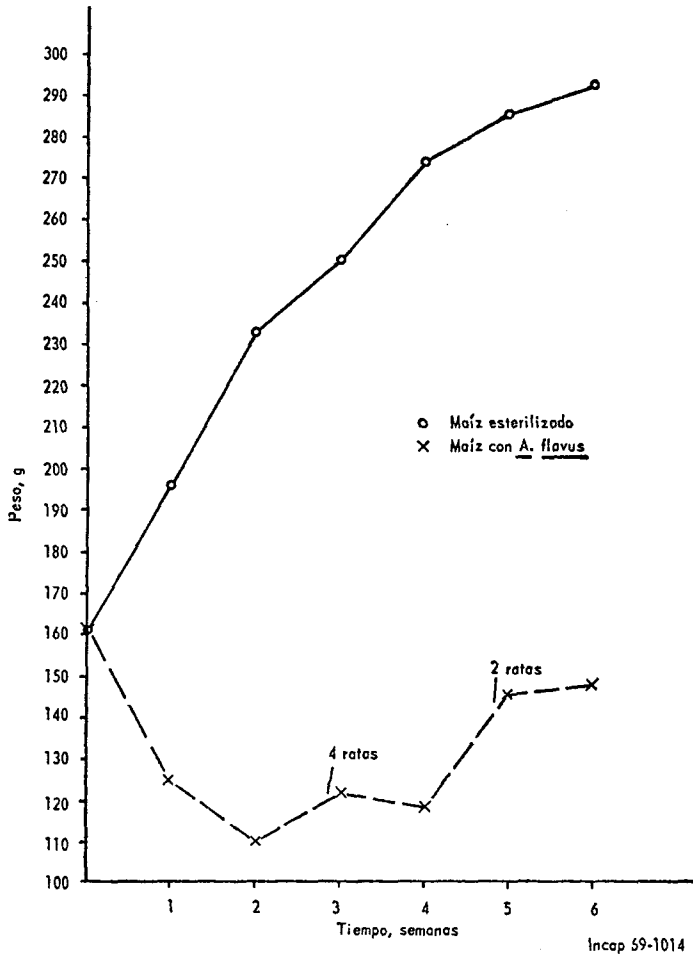


Figura 3
Aumento ponderal de las ratas adultas.

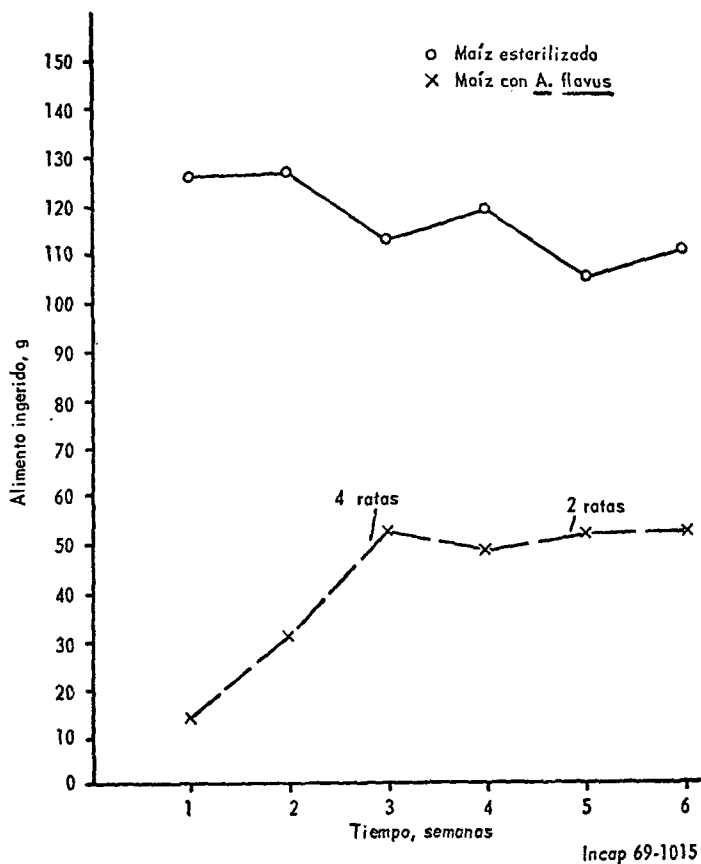


Figura 4
Alimento ingerido por las ratas adultas.

foco pequeño simulativo de úlcera, y en la región glandular se constataron grandes hemorragias de tipo sufusión; los intestinos se encontraban llenos de heces de color obscuro (el examen de laboratorio confirmó la presencia de sangre); el hígado estaba ligeramente aumentado de volumen y mostraba áreas con puntuaciones rojizas. El sistema circulatorio y demás órganos se encontraban normales. El examen microscópico del hígado mostró áreas pequeñas de degeneración distribuidas difusamente en el parénquima hepático, con desaparición de la masa nuclear, hiperromasia y algunas cariorrexis. El citoplasma de las células afectadas era usualmente granular y acidófilo y algunas de ellas contenían vacuolas. Hubo congestión de la vena centro-lobulillar y cierto grado de desorganización de las trabéculas hepáticas. La degeneración hepática aparentemente era de localización periacinar y más frecuente en la superficie del órgano. Algunos cortes revelaron necrosis con formación de fibrina en la superficie. El riñón tenía congestión severa de todos los glomérulos renales, con extravasación de los glóbulos rojos. Las células tubulares mostraban aumento de volumen, citoplasma granular y un poco acidófilo. Algunas células próximas a los glomérulos acusaban degeneración nuclear. El estómago en general mostraba destrucción de la mucosa gástrica; en algunos casos la necrosis era superficial y en otros ésta afectaba toda la mucosa, incluso la submucosa. Dichas lesiones, sin embargo, eran focales y se acompañaban de hemorragia intensa y acúmulos bacterianos o bien de formación de fibrina. También se observaron hemorragias en diversas áreas de la mucosa y submucosa normales. El corazón, los pulmones y el cerebro aparentemente estaban normales.

Los grupos de ratas jóvenes Nos. 1, 2, 3 y 4, que habían estado bajo experimentación durante 6 semanas y que luego se sometieron a la dieta suplementaria durante 4 semanas más, se sacrificaron al final del ensayo. Las ratas que recibieron dietas a base de maíz esterilizado y tortillas de maíz esterilizado se encontraron normales al practicárseles la necropsia. Los animales alimentados a base de tortillas de maíz inoculado con *A. flavus* no presentaban ninguna anomalía a excepción de una rata que mostró degeneración hepática en el lóbulo accesorio, caracterizada por una coloración más pálida y bastante más ostensible que el parénquima hepático normal

con maíz inoculado con *A. flavus* mostró enrojecimiento de la mucosa del estómago con pequeña deposición de fibrina en varias áreas de zona fúndica. El hígado acusaba degeneración del lóbulo accesorio, manifestando un área más pálida y seca que el tejido normal. La mucosa del estómago se presentaba pálida, engrosada y endurecida, aparentemente con formación de conectivo, dándole así una apariencia levemente corrugada.

DISCUSION

Los resultados del estudio señalan que la presencia de hongos en alimentos como el maíz puede inducir retardo en el crecimiento y desarrollo de las aves que lo consumen. Sin embargo, a juzgar por los índices de utilización de la proteína y del alimento, el valor nutritivo del grano no disminuye. A juicio de los autores, la razón de esta discrepancia radica en el hecho de que la presencia del hongo hizo que el consumo del alimento disminuyera, y esto, a su vez, se tradujo en un aumento ponderal inferior. Cabe suponer que los animales consumieron menos alimento porque el hongo hubiese alterado el sabor de la dieta, pero es posible que ese menor consumo haya sido más bien un síntoma del inicio de efectos patológicos adversos del hongo o de compuestos producidos por éste. Al principio del estudio las diferencias entre los grupos experimentales y el utilizado como control fueron relativamente pequeñas y carentes de significado, pero a partir de la tercera semana estas diferencias fueron aumentando, en especial en el caso de los animales que recibieron la dieta con maíz infectado por *A. flavus*. Es muy posible, pues, que, de haberse prolongado el experimento unas semanas más, los efectos habrían sido más notorios.

Estos datos sugieren que el efecto del hongo o de compuestos producidos por éste son de índole acumulativa, necesitando más tiempo o mayores concentraciones para que se suscite un efecto más rápido. También es probable que no se hayan observado más efectos de los diferentes hongos, por el hecho de que las raciones contenían cantidades relativamente altas de proteína de buena calidad. Bien puede ser que al usar niveles proteicos inferiores los efectos adversos del hongo sean más rápidos y notorios que los observados en el presente estudio. Se ha indicado que el uso de niveles altos de proteína

de buena calidad protege a los animales en contra de los efectos tóxicos del gosispol (21, 22).

El análisis químico del maíz inoculado con *A. flavus*, *A. versicolor*, *Penicillium spp.*, *F. moniliforme* y *F. roseum* revela que el desarrollo de estos hongos en el maíz resulta en cambios en composición química de la mezcla hongo-maíz en comparación con la composición química del maíz sin hongo. En el caso del *A. flavus* y del *A. versicolor*, la proteína había sido triplicada. Es probable que los cambios en composición química representen solamente una pérdida de carbohidratos utilizados por el hongo para su metabolismo, lo cual se traduciría en aumentos en los otros componentes orgánicos analizados y en una redistribución de los elementos entre el maíz y el hongo. Sería de interés confirmar estos datos y determinar si ocurre un efecto suplementario entre los materiales residuales en el maíz y los sintetizados por el hongo. Se sabe que las proteínas unicelulares pueden ser buenos suplementos para los cereales (23). Sin embargo, habrá que estudiar antes el contenido de aminoácidos de la proteína sintetizada por el hongo, su digestibilidad y grado de asimilación, ya que gran parte del nitrógeno estaría presente en la quitina del hongo. Otro factor importante que debe tenerse en cuenta es el contenido de fibra cruda, el cual aumenta grandemente; en el caso del *A. flavus* por ejemplo, se produjo un incremento de 7 veces. Este aumento en fibra cruda puede explicarse en base a la producción de quitina por el hongo. Cabe también considerar la posibilidad de que los cambios observados se hubiesen debido a la utilización de carbohidratos por parte de los hongos. No obstante, la composición química del maíz usado en el estudio en pollos no sufrió alteraciones por la presencia del hongo. Bien puede ser que esto se haya debido al tiempo de incubación, que fue de 12 días en el caso de las aves y de 30 días en el de las ratas.

Habría que estudiar también el contenido de vitaminas, pues Lily y Barnett (24) han expresado que los hongos absorben eficientemente las vitaminas del sustrato en que crecen, lo que tendría que demostrarse en el caso del maíz inoculado con los citados hongos. Estos estudios ofrecen una buena perspectiva, ya que, de ser así, los cereales que en la actualidad constituyen una de las mayores fuentes mundiales de

abastecimiento de proteína podrían suplementarse con productos a base de hongos.

Los resultados descritos también sugieren la posibilidad de utilizar hongos como agentes de transformación de alimentos de poco valor nutritivo en otros de mejor valor nutricional. En este caso, sin embargo, convendría considerar varios factores, entre ellos los siguientes: el efecto del alto contenido de fibra cruda; si la proteína elaborada es asimilable por los seres humanos y por los animales; si hay producción de metabolitos dañinos y, en caso afirmativo, la forma en que deberían ser eliminados. Tendría que determinarse también las condiciones óptimas para el desarrollo de dichos hongos; acortar el tiempo de su cultivo; estudiar la eficiencia de transformación que tienen, e investigar qué parte del hongo (micelio o esporas) realiza mejor la transformación y la clase de enzimas producidas. Sólo mediante el estudio de todos estos factores podrá establecerse si los hongos pueden utilizarse o no en la elaboración de alimentos de mejor valor nutritivo.

El problema principal que presenta la utilización de hongos, como alimento, es la producción de toxinas. El *A. flavus*, por ejemplo, produce aflatoxinas que se consideran como uno de los agentes carcinógenos más potentes hasta hoy conocidos; además son muy resistentes al calor (25-30). Pero el problema de las toxinas podría eliminarse si se encontraran procesos químicos o físicos capaces de destruirlas o extraerlas (31-35).

Las ratas alimentadas con dietas a base de maíz esterilizado y de tortillas de maíz, también esterilizado, tuvieron un crecimiento y una ingestión de alimento normales. Las ratas cuyas raciones se elaboraron a base de tortillas de maíz inoculado con *A. flavus* crecieron menos que las del grupo control (tortillas), pero también ingirieron cantidades inferiores de comida. Los índices de utilización del alimento en estos grupos fueron semejantes y ninguno de los animales que los integraban acusó síntomas patológicos.

Los animales que recibieron la dieta a base de maíz inoculado con *A. flavus* perdieron peso, ingirieron poco alimento y la mayoría murieron en un plazo relativamente corto. Las hembras y las ratas adultas mostraron cierta resistencia que, aparentemente, aumentó con el tiempo. Resultados similares han sido informados en cerdos (7). Todas las ratas sometidas a dicha dieta mostraron trastornos nerviosos, falta de equi-

librio, incoordinación en sus movimientos, decaimiento y presencia de sangre en la orina y heces. Las necropsias practicadas en estos animales revelaron que aquellos que morían rápidamente acusaban daños muy notorios en el estómago e intestinos. Las ratas cuya vida se prolongó por períodos más largos mostraban —además de los daños descritos— algunas alteraciones en el hígado y en los riñones. Únicamente la rata que sobrevivió al tratamiento y luego fue sometida a una dieta suplementaria mostró tumores muy evidentes en el hígado. Los estudios histopatológicos confirmaron daños más específicos.

Es evidente que el proceso de elaboración de las tortillas destruye los factores tóxicos producidos por *A. flavus*, destrucción que probablemente se deba al empleo de hidróxido de calcio, a la temperatura, a la exposición a la luz y a algunos otros factores. Sin embargo, para establecer a ciencia cierta el porcentaje de compuestos tóxicos destruidos o si únicamente hubo una transformación química que pudiera traducirse en algunos problemas posteriores, se requiere mayores estudios al respecto. A pesar de que en esta investigación se trató de determinar la cantidad de aflatoxinas presentes en el material usado, no fue posible hacerlo en vista de que no se logró obtener una separación clara y definida de las diferentes toxinas en gel de sílice.

Aparentemente, la presencia de factores tóxicos producidos por hongos en el maíz no constituye un peligro cuando éste se consume en forma de tortillas. No obstante, puede ocasionar grandes problemas en aquellos casos en que el maíz se utiliza en comidas a base del grano tierno o de harinas, y en la elaboración de raciones para animales.

RECONOCIMIENTO

Los autores del presente trabajo agradecen muy sinceramente la valiosa colaboración de los Dres. Luis Felipe Rosales y Francisco Vásquez, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, quienes llevaron a cabo el estudio patológico de los animales.

SUMMARY

Studies of the nutritive value of maize, raw and cooked, contaminated with fungi, in chicks and rats

This paper describes the results of studies performed to determine the effect of fungi infection on the nutritive value of corn.

Healthy corn kernels were inoculated after sterilization with fungi previously isolated and identified from Guatemalan corn kernels. The fungi were *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*.

After appropriate incubation time, the infected kernels were dried, ground and added to a basal diet in an amount representing 49.5% of its weight. Healthy corn flour was used as control. The diets were then fed to baby chicks for a 5-week period. Infected grain caused lower weight gains which became more pronounced with respect to the time of the experiment. *Aspergillus flavus* caused the lowest weight gains. Feed intake was lower for diets containing infected corn, but no changes were observed in feed and protein utilization.

In other studies, corn infected with *Aspergillus flavus* was made into tortilla. This material as well as the control corn and infected corn, were fed to weanling rats. Mortality was high when the rats consumed infected corn, but not from the tortillas made from such corn, suggesting that the alkaline cooking process eliminated the toxins produced by *A. flavus*.

The inoculation and incubation of corn with *A. flavus*, *A. versicolor*, *Penicillium* spp, *Fusarium roseum* and *F. moniliforme*, changed the composition of corn, increasing total protein content particularly by *A. flavus*, and *F. roseum*.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Allcroft, R. & R. B. A. Carnaghan.—Groundnut toxicity. *Aspergillus flavus* toxin (aflatoxin) in animal products: Preliminary communication. *Vet. Rec.*, 74: 863-864, 1962.
- (2) Allcroft, R. & R. B. A. Carnaghan.—Groundnut toxicity: an examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. *Vet. Rec.*, 75: 259-263, 1963.
- (3) Allcroft, R., H. Rogers, G. Lewis, J. Nabney & P. E. Best.—Metabolism of aflatoxin in sheep: excretion of the 'milk toxin'. *Nature*, 209: 154-155, 1966.
- (4) Mitchell, H. H., J. R. Beadles, B. Koehler & G. H. Dungan.—Impairment in nutritive value of corn grain damaged by *Nigrospora oryzae*. *J. Animal Sci.*, 6: 352-358, 1947.
- (5) Hunt, C. H., R. C. Thomas & R. M. Bethke.—The niacin and pantothenic acid content of normal and moldy corn. *Ohio Agric. Expt. Station Bull.* 705, 69th Annual Report, 1951.
- (6) Joffe, A. Z.—Toxin production by cereal fungi causing toxic alimentary alekia in man. En: *Mycotoxins in foodstuffs*. Proc. of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology.

- March 1964. G. N. Wogan (ed.), Cambridge, Mass., The M.I.T. Press, 1965. p. 77-85.
- (7) Christensen, C. M. & H. C. H. Kernkamp.—Studies on the toxicity of blighted barley to swine. *Minn. Agric. Expt. Station Bull.*, 113, 1936.
 - (8) Christensen, C. M.—*Los hongos y el hombre. Introducción al estudio de los hongos.* Traducido al español por C. Gerhard Ottenddaelder. México. Editorial Interamericana, S. A., 1964.
 - (9) Bailey, W. S. & A. H. Groth, Jr.—The relationship of hepatitis X of dogs and moldy corn poisoning of swine. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 134: 514-516, 1959.
 - (10) Brester, H. E., L. H. Schwarte & C. H. Reddy.—Further studies on moldy corn poisoning (leuco encephalomalacia) in horses. *Vet. Med.*, 35: 636-639, 1940.
 - (11) Burnside, J. E., W. L. Sippel, J. Forgacs, W. T. Carll, M. B. Atwood & E. R. Doll.—A disease of swine and cattle caused by eating moldy corn. 2. Experimental production with pure cultures of molds. *Amer. J. Vet. Res.*, 18: 817-824, 1957.
 - (12) Forgacs, J.—Stachybotryotoxicosis and moldy corn toxicosis. En: *Mycotoxins in foodstuffs.* Proc. of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology. March 1964. G. N. Wogan (ed.), Cambridge, Mass., The M.I.T. Press, 1965, p. 87-104.
 - (13) Christensen, C. M., G. H. Nelson, C. J. Mirocha, F. Bates & C. E. Dorworth. Toxicity to rats of corn invaded by *Chaetomium globosum*. *Applied Microbiol.*, 14: 774-777, 1966.
 - (14) Butler, W. H.—Liver injury and aflatoxin. En: *Mycotoxins in foodstuffs.* Proc. of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology. March 1964. G. N. Wogan (ed.), Cambridge, Mass., The M.I.T. Press, 1965. p. 175-186.
 - (15) Wogan, G. N. (ed.).—*Mycotoxins in foodstuffs.* Proc. of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology. March 1964. Cambridge, Mass., The M.I.T. Press, 1965.
 - (16) Martínez, M. L., E. Schieber, R. Gómez-Brenes & R. Bressani.—Prevalencia de hongos en granos de maíz (*Zea mays*, L.) de Guatemala. Manuscrito en preparación.
 - (17) Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart.—Choline in the nutrition of chicks. *J. Biol. Chem.*, 138: 459-466, 1941.
 - (18) Manna, L. & S. M. Hauge.—A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid. *J. Biol. Chem.*, 202: 91-96, 1953.
 - (19) Bressani, R., R. Paz y Paz & N. S. Scrimshaw.—Corn nutrient losses. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. *J. Agric. Food Chem.*, 6: 770-774, 1958.
 - (20) Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists.* 9th ed., Washington, D. C., 1960.
 - (21) Hale, F. & C. M. Lyman.—Effect of protein level in the ration on gossypol tolerance in growing-fattening pigs. *J. Animal Sci.*, 16: 364-369, 1957.

- (22) Phelps, R. A.—Cottonseed meal for poultry: from research to practical application. *World's Poultry Sci. J.*, 22: 86-112, 1966.
- (23) Bressani, R.—Use of yeast in human foods. En: **Single-cell protein**. R. I. Mateles & S. R. Tannenbaum (eds.), Cambridge, Mass., The M.I.T. Press, 1968. p. 90-121.
- (24) Lilly, V. G. & H. L. Barnett.—*Physiology of the Fungi*. New York, McGraw Hill Book Co., Inc., 1951.
- (25) Barnes, J. M. & W. H. Butler.—Carcinogenic activity of aflatoxin to rats. *Nature*, 202: 1016, 1964.
- (26) Pomeranz, Y.—Formation of toxic compounds in storage-damaged foods and feedstuffs. *Cereal Sci. Today*, 9: 93-94, 96, 150, 1964.
- (27) Wogan, G. N.—Experimental toxicity and carcinogenicity of aflatoxins. En: **Mycotoxins in foodstuffs**. Proc. of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology. March 1964. G. N. Wogan (ed.), Cambridge, Mass., The M.I.T. Press, 1965. p. 163-173.
- (28) Wilson, B. J. & C. H. Wilson.—Toxin from *Aspergillus flavus*: production on food materials of a substance causing tremors in mice. *Science*, 144: 177-178, 1964.
- (29) Theron, J. J., N. Liebenberg & H. J. B. Joubert.—Histochemistry and electron microscopy of acute liver lesions induced by aflatoxin B₁ in ducklings. *Nature*, 206: 908-909, 1965.
- (30) Butler, W. H. & J. M. Barnes.—Carcinoma of the glandular stomach in rats given diets containing aflatoxin. *Nature*, 209: 90, 1966.
- (31) Andrellos, P. J., A. C. Beckwith & R. M. Eppley.—Photochemical changes of aflatoxin B₁. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 50: 346-350, 1967.
- (32) Fischbach, H. & A. D. Campbell.—Note on detoxification of the aflatoxins. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 48: 28, 1965.
- (33) Goldblatt, L. A.—Removal of aflatoxin from peanut products with acetone-hexane-water solvent. En: **Mycotoxins in foodstuffs**. Proc. of a Symposium held at the Massachusetts Institute of Technology. March 1964. G. N. Wogan (ed.), Cambridge, Mass., The M.I.T. Press, 1965. p. 261-263.
- (34) Jayaraman, A., V. Sreenivasamurthy & H. A. B. Parpia.—Extraction of aflatoxin from peanut products by dialysis. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 48: 1256-1260, 1965.
- (35) Sreenivasamurthy, V., H. A. B. Parpia, S. Srikantia & A. Shankar Murti.—Detoxification of aflatoxin in peanut meal by hydrogen peroxide. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, 50: 350-354, 1967.