

Incidencia de toxinas de *Fusarium* en el maíz y productos de la molienda

Adriana Saubois¹, Marcelo C. Nepote², Juan C. Basílico³

Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral.
Santiago del Estero 2829. 3000 Santa Fe. República Argentina.

RESUMEN. Se estudió la incidencia de toxinas de *Fusarium* (tricotecenos y zearalenona) en 100 muestras de grano entero y su distribución en los subproductos (provenientes de 32 muestras de grano entero) de la molienda húmeda del maíz originario del centro y norte de la provincia de Santa Fe, República de Argentina. El análisis de las micotoxinas se llevó a cabo por cromatografía en capa delgada.

El 33% de las muestras de grano entero resultaron contaminadas con deoxinivalenol (DON) en un rango entre trazas y 1,200 µg/Kg. El 15% de las muestras contenían toxina T-2 entre 900 y 2,400 µg/Kg. Zearalenona fue detectada solamente en una muestra en nivel de trazas. Diacetoxiscirpenol (DAS), nivaleno (NIV) y neosolaniol (NS) fueron encontrados en un bajo porcentaje de muestras (7%). El 7% de las muestras presentó contaminación con más de una micotoxina.

Cabe destacar que DON fue encontrado contaminando sólo aquellos subproductos destinados al consumo humano. En cambio toxina T-2 fue detectada tanto en subproductos destinados al consumo humano como vegetal.

INTRODUCCION

Es sabido desde 1961 que algunos hongos producen metabolitos secundarios tóxicos, micotoxinas, cuando contaminan diversos alimentos destinados al consumo humano y animal. Las micotoxicosis son las enfermedades que resultan de la ingestión de dichas sustancias y, por tanto, representan un serio problema en salud pública y animal (1,2)

El género fúngico *Fusarium*, y principalmente sus toxinas zearalenona y tricotecenos, aparecen predominante

SUMMARY. Corn and grinding by-products incidence of *Fusarium* toxins. The incidence of *Fusarium* toxins-tricothecenes and zearalenone in 100 samples of whole grains as well as their distribution in the by-products (arising of 32 whole corn samples) of the wet-grinding of corn were studied, the samples coming from the central and northern areas of the Santa Fe Province, Argentina. The analyses were carried out by thin-layer chromatography. A 33% of the samples was found to be contaminated by deoxynivalenol (DON), its amount ranging from traces to 1,200 µg/Kg; 15% of the samples contained T-2 toxin from 900 to 2,400 µg/Kg and only traces of zearalenone were detected in one sample. Only few samples (7%) included diacetoxiscirpenol (DAS), nivaleno (NIV) and neosolaniol (NS) and 7% of the samples evidenced contamination by more than one mycotoxin. It is worth noticing that DON was found to be contaminating only those by-products destined to human consumption. Conversely, T-2 toxin was found in by-products destined to both human and animal consumption.

durante las fases de crecimiento de muchos cereales, de donde han sido aislados con frecuencia (3,4). Dentro de los 12, 13 -epoxitricotecenos que han sido encontrados en la naturaleza podemos citar como más relevantes a deoxinivalenol (DON), comúnmente llamado vomitoxina, toxina T-2, diacetoxiscirpenol (DAS), nivalenol (NIV) y neosolaniol (NS) (5,6,7).

El consumo de cereales contaminados con tricotecenos puede causar disturbios del sistema digestivo e inflamación de la mucosa intestinal con producción de vómito y/o diarrea. También pueden tener lugar alteraciones del sistema hematopoyético y, como consecuencia, hemorragias. El brote más importante de esta enfermedad se registró en la URSS entre 1942 y 1947: Aleucia Tóxica Alimentaria (ATA) (8,9). Por otra parte, zearalenona causa un síndrome estrogénico en cerdos como infertilidad en ganado y sólo existen informes casuales sobre efectos adversos en el hombre (1,3,10).

1. Miembro del Departamento de Bioingeniería de la Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral +.
2. Miembro del Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral +.
3. Director del Departamento de Bioingeniería, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral +.
+ Santiago del Estero 2829. 3000 Santa Fe. República Argentina.

Las toxinas de *Fusarium* han sido detectadas principalmente en maíz. Los granos de este cereal se encuentran entre los más susceptibles al ataque por parte del hongo (2,3). En nuestro país, una fracción importante de producción de maíz se destina a la fabricación de alimentos que son consumidos especialmente por los niños (11,12). Cabe recordar que tanto zearalenona como los tricotecenos no se destruyen durante la cocción normal de los alimentos (13). Además, existe el riesgo de que estas micotoxinas potencien su acción por efecto sinérgico con otras o con ciertos aditivos alimentarios (14).

Si bien se ha producido un aumento considerable de datos registrados sobre la presencia de toxinas de *Fusarium* en alimentos y piensos en los últimos 10 años, el Programa Conjunto Internacional FAO/OMS/PNUMA recomienda continuar con tales estudios con el propósito de determinar las proporciones de micotoxinas que derivan hacia los productos (15). El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar la incidencia de tricotecenos y zearalenona en maíz proveniente del centro y norte de la provincia de Santa Fe, República Argentina, como así también su distribución en los subproductos derivados de la molienda húmeda.

El área muestreada en el presente trabajo se caracteriza por un clima de estepa, con temperatura media anual superior a los 18.°C en la zona norte y de 18°C en la zona central, registrándose una humedad ambiental promedio de 65%, con intensas precipitaciones en primavera y fines de otoño.

MATERIALES Y METODOS

Muestras: Se analizaron 100 muestras de maíz (grano entero) proveniente de la zona norte y centro de la provincia de Santa Fe (República Argentina) y los correspondientes subproductos (en aquellos casos que el grano entero resultó contaminado con toxina T-2 y DON) de la molienda húmeda, obtenidos en un molino harinero de la ciudad de Santa Fe.

Los subproductos estudiados fueron maíz pisado, afrechillo y harina. El maíz pisado (o quebrados) y el afrechillo (cascarilla o salvado que envuelve al grano) son los productos obtenidos luego de haber sido tratado el grano con vapor de agua y quebrado por acción mecánica en la "mazamorrera". En un paso posterior, ambos se separan a través de un cernidor. La harina se obtiene por molienda del maíz pisado o quebrado.

Las muestras de maíz entero fueron tomadas antes del ingreso a la mazamorrera; las de afrechillo (destinado a la formulación de piensos) y de maíz pisado fueron tomadas a la salida de los cernidores. Las muestras de harina (destinada al consumo humano) fueron tomadas luego de la etapa de molienda, al final del proceso.

Período de muestreo:

El muestreo se llevó a cabo entre abril de 1987 y mayo

de 1989.

Método de muestreo:

Se realizó según las normas propuestas por la Junta Nacional de Granos de la República Argentina (16) y las Normas Panamericanas COPANT (17). El equipamiento necesario y planes de muestreo se describen en dichas normas y en el informe de Jewers y col. (18). La toma de muestras se llevó a cabo en flujo, sumando cantidades pequeñas hasta completar 10 kg en grano entero y 2 kg en los subproductos. El contenido de micotoxinas se determinó sobre submuestras de 50 g.

Metodología analítica:

El aislamiento, identificación y cuantificación de toxinas de *Fusarium* se llevó a cabo empleando las siguientes técnicas por cromatografía en capa delgada.

- Para zearalenona, técnica de BF modificado (19).
- Para DON, técnica de Trucksess y col (20).
- Para el análisis de tricotecenos distintos de DON (NIV, DAS, toxina T-2 y NS) se empleó la técnica de Kamimura y col (21).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se consignan los datos de incidencia de tricotecenos y zearalenona en maíz entero. Un significativo porcentaje de muestras contenían DON (33% de las muestras de grano entero). Estos resultados coinciden con los datos aportados por distintos países, en donde DON es la micotoxina de *Fusarium* aislada con mayor frecuencia de maíz (5,22,23). Toxina T-2 se encontró en el 15% de las muestras de grano entero, coincidiendo con lo observado por Stahr y col. (24). En menor proporción se encontraron NIV (5% de las muestras de grano entero) y DAS (2% de las muestras de grano entero) y en sólo una muestra se detectó NS en cantidad de trazas.

Con respecto al nivel en que se encontró DON en grano entero, el promedio fue de 390 µg/Kg, con sólo 2 muestras conteniendo 1,000 y 1,200 µg/Kg, respectivamente.

Son muy pocos los países que han fijado límites de tolerancia a los residuos de esta micotoxina. EEUU, Canadá, Japón y URSS establecieron tolerancias, especialmente para trigo sin procesar, entre 1,200 y 2,000 µg/Kg (15). En EEUU, las partidas de granos conteniendo más de 1,000 ppm de DON se destinan al consumo animal y la materia prima utilizada para elaborar alimentos infantiles debe estar exenta de tricotecenos (25). Sería de fundamental importancia que nuestro país contara con una legislación para fijar límites de tolerancia de estas toxinas en los cereales y poder determinar el destino de los mismos según el nivel de contaminación. El nivel promedio de contaminación con toxinas T-2 fue de 1,090 µg/Kg, valor considerablemente inferior a los registrados por otros países (15).

TABLA 1
INCIDENCIA DE TRICOTECENOS Y ZEARALENONA EN GRANO ENTERO DE MAIZ

Toxinas Detectadas	Rango de Contaminación ($\mu\text{g/Kg}$)	Nº de Muestras Contaminadas
Deoxinivalenol	tr - 700	28
Toxina T - 2	900 - 1,500	10
Diacetoxiscirpenol	400	1
Deoxinivalenol + Nivalenol	350 - 1,000 tr - 500	2
Zearalenona + Toxina T - 2	tr 1,000	1
Deoxinivalenol + Nivalenol + Toxina T - 2	250 - 1,200 300 - 400 950 - 2,400	3
Toxina T - 2 + Diacetoxiscirpenol + Neosolaniol	1,500 450 tr	1
No contaminadas	--	54
TOTAL		100

tr: trazas

De acuerdo con la bibliografía (5,15), en otros países se registran con frecuencia DON y NIV simultáneamente en cereales. En el presente estudio, sólo el 5% de las muestras de granos entero presentaron DON+NIV, este último en cantidades que no superaban los 500 $\mu\text{g/Kg}$ de muestra.

En la (Tabla 2) se consignan los rangos de contaminación con DON y toxinas T-2 de los distintos subproductos del proceso de molienda. Se estudió DON en los subproductos de 17 muestras de grano entero y toxina T-2 en los correspondientes a 15 muestras de grano entero, DON fue detectado en maíz pisado y harina, destinados ambos al consumo humano, no detectándose en afrechillo, destinado fundamentalmente a la formulación de piensos. Toxina T-2, en cambio, fue encontrada contaminando todos los subproductos.

Teniendo en cuenta estos datos preliminares sobre la contaminación de maíz entero y procesado, donde se observa prevalentemente la presencia de DON y toxina T-2, sería conveniente continuar con el estudio de incidencia de estas micotoxinas para evaluar el real riesgo toxicológico que su presencia implica en la dieta humana y animal.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido subsidiado por el Programa Nacional de Investigaciones en Tecnología de Alimentos (PNITA) de la Secretaría de Ciencia y Técnicas (SECYT) de la República Argentina, a través del Subprograma Micotoxinas.

TABLA 2
DISTRIBUCION DE DON Y TOXINA T-2 EN LOS DISTINTOS SUBPRODUCTOS DE LA MOLIENDA HUMEDA DEL MAIZ

Toxina	Rango de Contaminación (µg/kg)			
	Grano entero	Maíz Pisado	Afrechillo	Harina
Deoxinivalenol	300-1,200	250-75	0	250-750
Toxina T-2	900-1,500	400-1,100	0-550	0-950

REFERENCIAS

- OMS PNUMA: Criterios de Salud Ambiental 11: Micotoxinas. Publicación Científica N° 453, OPS (Ed.). Washington, D.C. E.U.A., 1983.
- De Campos, M. Relación entre micotoxinas y alimentación en países en desarrollo. En: Segunda Conferencia Internacional Conjunta PAO/OMS/PNUMA sobre Micotoxinas. Tema 4 del Programa (MYC 87/4.2). Tailandia, 1987, p.2.
- Smith, JE & Moss, MO. Mycotoxins. Formation, Analysis and significance. Great Britain, John Wiley & Sons Ltd., 1985, p. 50-82.
- Treholm, HL. Fusarium toxins in field corn. I. Time course of fungal growth and production of DON and other mycotoxins. Can J Bot 61: 3080-3087, 1983.
- Ueno, Y. Trichothecenes as environmental toxicants, Korean J. of Toxicology 1 (1): 1-15, 1985.
- Scott, PM & Aibara, K (Chairmen). Food and Feed Mycology in Relation to Mycotoxicoses and Food Hygiene. En: Toxicogenic Fungi-Their Toxins and Health Hazard. H. Kurata and Y Ueno (Eds.) Tokyo, Kodansha Ltd. Elsevier, 1984, p. 151-230.
- Busby, WF & Wogan GN. Trichothecenes. En: Mycotoxins and N-Nitroso Compounds: Environmental Risks. Vol II. N.C. Shank (Ed.). Boca Raton, Florida, CRC Press, Inc., 1987, p. 29-45.
- Ueno, Y; Sato, N, Ishii, K; Sakai, K & Enomoto, M. Toxicological Approaches to the Metabolites of Fusaria. Japan J Exp Med 42(5): 461-472, 1972.
- Ueno, Y. Trichothecenes. Chemical, Biological and Toxicological Aspects. Tokyo, Kodansha Ltd., 1983.
- FAO. Directrices para la Vigilancia de las Micotoxinas. Serie Inspección de los alimentos N° 4. En colab. con el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, 1979.
- Programa Nacional de Investigaciones en Tecnología de Alimentos (PNITA). Micotoxinas. Panorama Actual en la República Argentina. Secretaría de Ciencia y Técnica, Buenos Aires, Argentina, 1988.
- Junta Nacional de Granos. Anuario 1987, Secretaría de Agricultura, ganadería y Pesca. Ministerio de Economía, Buenos Aires, Argentina, 1988.
- Estudio FAO: Alimentación y Nutrición. 10. Prevención de las Micotoxinas. Preparado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma 1979.
- Lindenfelser, LA.; Lillehoj, EB & Burmeister, HE. Aflatoxin and Trichothecene Toxins Skin Tumor Induction and Synergistic Acute Toxicity in White Mice. J Natl Canc Inst 52 (1): 113-116, 1974.
- Jelinek, CF. Distribución de las micotoxinas: Análisis de los datos mundiales sobre productos básicos, incluidos los datos del Programa Conjunto Internacional FAO/OMS/PNUMA sobre Vigilancia de la Contaminación de los Alimentos. Tema 5 del Programa (MYC 87/5). Tailandia, 1987.
- Junta Nacional de Granos. Resolución N° 26.120/84. Método de Muestreo de Granos. Buenos Aires, Argentina.
- Norma Panamericana COPANT 989/78.
- Jewers, K. Problemas relacionados con la toma de muestras de los envíos para la determinación del contenido en micotoxinas y con la interpretación de los resultados. En: Segunda Conferencia Internacional Mixta FAO/OMS/PNUMA sobre Micotoxinas. Tema 7 del Programa (MYC 87/7.1). Tailandia, 1987.
- Instituto Argentino de Racionalización de Materiales (IRAM). Método de Determinación de Aflatoxinas y Zearalenona en Maíz y Maní. Norma 14.803, 1989.
- Trucksess, MW; Nesheim, S & Eppley, RM. Thin Layer Determination of Deoxynivalenol in Wheat and Corn. J.A.O.A.C. 67 (1) 40-43. 1984.
- Kamimura, H; Nishijima, M Yasuda, K; Saito, K; Ibe, A.; Nagayama, T; Ushiyama, H. & Naoi, Y. Simultaneous Detec-

- tion of Several Fusarium Mycotoxins in Cereals, Grains, and Foodstuffs. *J.A.O.A.C.* 64 (5): 1067-1073, 1981
22. Ueno, Y. Contamination of Foodstuffs by Trichothecene Mycotoxins. *Eisei Kagaku* 30 (5): 251-256, 1984.
 23. Snyder, AP. Qualitative, Quantitative and Technological Aspects of the Trichothecene Mycotoxins. *J Food Protect.* 49 (7): 544-569, 1986.
 24. Stahr, HM; Ross, PF & Obioha, W. Some Mycotoxins Levels in Farm-Stored Corn *Agric Food Chem* 29: 207, 1981
 25. Pacín, A. Micotoxicosis por tricotecenos en la población humana: Un problema de actualidad. *Rev Hosp Niños B. Aires* 30 (127): 45-51, 1988.