

Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México)

María de Lourdes Robledo¹, Sonia Marín² y Antonio J. Ramos²

¹Dirección de Investigación Científica, Universidad Autónoma de Nayarit, Ciudad de la Cultura "Amado Nervo", Tepic, Nayarit, México; ²Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad de Lleida, CeRTA, Lleida, España

Resumen

Se estudió la presencia de micotoxinas en maíz forrajero (zearalenona, fumonisina B₁, toxina T-2 y diacetoxiscirpenol) y café verde (ocratoxina A) procedente del estado de Nayarit (México). Todas las muestras de maíz analizadas presentaron contaminación por fumonisina B₁ con una concentración promedio de 2.541 µg/kg. Un 15% de las muestras contenían zearalenona, con un promedio de 1.610 µg/kg. De los tricotecenos estudiados, sólo una muestra presentó contaminación por toxina T-2 (7 µg/kg), no habiéndose detectado diacetoxiscirpenol en ninguna de las muestras. En un 67% de las muestras de café verde analizadas se encontró contaminación por ocratoxina A, con un promedio de 30,1 µg/kg. Este trabajo es el primer estudio sobre micotoxinas que se realiza en el estado de Nayarit y ha puesto de manifiesto que la contaminación por micotoxinas es un problema real en los dos productos agrícolas estudiados.

Palabras clave

Zearalenona, Fumonisina, Toxina T-2, Diacetoxiscirpenol, Ocratoxina, Maíz forrajero, Café verde, Nayarit

Natural contamination with mycotoxins in forage maize and green coffee in Nayarit State (Mexico)

Summary

The presence of mycotoxins in forage maize (zearalenone, fumonisin B₁, T-2 toxin and diacetoxyscirpenol) and green coffee (ochratoxin A) from Nayarit State (Mexico) has been studied. All maize samples analyzed showed fumonisin B₁ contamination, with an average concentration of 2,541 µg/kg. Fifteen percent of the samples contained zearalenone, with an average concentration of 1,610 µg/kg. Only one sample showed T-2 toxin contamination (7 µg/kg), and no diacetoxyscirpenol was detected. Sixty-seven per cent of green coffee samples were contaminated with ochratoxin A, with an average concentration of 30.1 µg/kg. This is the first study about mycotoxins developed in Nayarit and it has shown that mycotoxin contamination is a real problem in both foodstuffs studied.

Key words

Zearalenone, Fumonisin, T-2 toxin, Diacetoxyscirpenol, Ochratoxin, Forage maize, Green coffee, Nayarit

Las micotoxinas son un grupo muy amplio de metabolitos secundarios de origen fúngico caracterizados por presentar una elevada toxicidad tanto para el hombre como para los animales, toxicidad que puede variar desde el desarrollo de actividades carcinógenas, teratógenas o mutágenas, hasta la producción de desórdenes de tipo hormonal o inmunosupresor, dependiendo de la micotoxina considerada [1].

Sin ninguna duda, las aflatoxinas son las micotoxinas que han sido más profundamente estudiadas en todo el mundo. En México se han realizado diversos estudios sobre la presencia de estas toxinas en maíz destinado al consumo animal o humano [2-5], así como sobre la influencia del proceso de nixtamalización en la presencia de estas micotoxinas en tortillas preparadas a partir de harina de maíz contaminado [6-7].

Sin embargo, la presencia de otras micotoxinas diferentes de las aflatoxinas en productos agrícolas proce-

Dirección para correspondencia:

Dr. Antonio J. Ramos Girona
Departamento de Tecnología de Alimentos
Universidad de Lleida
Avda. Rovira Roure, 177
25198 Lleida, España
Tel.: +34 973 702811;
Fax: +34 973 702596
E-mail: ajramos@tecal.udl.es

Aceptado para publicación el 18 de Junio de 2001

dentes del mercado mexicano es un hecho muy poco estudiado [3,8]. De entre las micotoxinas que actualmente están causando una mayor preocupación tanto a los investigadores como a los organismos responsables de velar por la salud pública destacan las micotoxinas producidas por mohos del género *Fusarium* (como las fumonisinas, tricotecenos y zearalenona) y las ocratoxinas, producidas por mohos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*.

El Estado de Nayarit posee una extensión territorial de 27.864,8 km², distribuidos en 20 municipios. Se encuentra localizado al oeste de la República Mexicana y colinda con los estados de Sinaloa, Durango, Zacatecas y Jalisco. Cuenta con 289 km de litoral hacia el Océano Pacífico y aproximadamente 436.678 Ha de tierras de cultivo y 376.316 Ha de pastizales [9]. El clima que predomina en la mayor parte del estado es cálido, con una media anual que oscila entre 27-28 °C y una precipitación media anual mayor de 1.200 mm, excepto en las partes altas de la sierra donde el clima es templado, con una media anual de 18 °C y precipitaciones medias anuales superiores a 1.200 mm. En cuanto a la actividad agrícola, predomina el frijol y el maíz como cultivos básicos, mientras que el café, la caña de azúcar y el tabaco son los principales cultivos industriales [10]. El maíz se produce en todo el Estado, mientras que el café se cultiva exclusivamente en la costa sur y en el centro del Estado.

En el mundo, México es uno de los países más consumidores de maíz, con una producción total de 10,2 millones de toneladas anuales para consumo humano y 5 millones para consumo animal e industrias no relacionadas con productos alimenticios. En Nayarit, la producción media estatal de maíz supera a la media nacional (1,6 Tm/Ha) en un 56% [11]. Por otra parte, un 70% del café producido en México se destina al mercado internacional, siendo México el cuarto país productor de café a nivel mundial, después de Brasil, Colombia e Indonesia [12].

El objetivo de este estudio reside en la evaluación de la contaminación por toxinas de *Fusarium* (zearalenona, fumonisina B₁, toxina T-2 y diacetoxiscirpenol) en maíz forrajero procedente del mercado nayarita, así como la contaminación por ocratoxina A de granos de café verde de la misma procedencia.

Para el análisis de la contaminación del maíz forrajero se realizó, durante la cosecha de 1999, un muestreo en 20 poblaciones del Estado de Nayarit, mientras que las muestras de café verde procedieron de las cosechas de 1998 y 1999 de 21 poblaciones diferentes. En ambos casos se tomó una única muestra procedente de los comercios de cada población.

El análisis de fumonisina B₁ (FB₁) se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) usando una modificación del método de Sephard *et al.* [13] descrito por Sanchis *et al.* [14]. Los análisis de zearalenona (ZEA; método 976.22) y ocratoxina A (OA; método 975.38) se realizaron siguiendo la metodología descrita en el AOAC Book of Methods [15].

La extracción y purificación de las muestras para el análisis de la toxina T-2 y del diacetoxiscirpenol (DAS) se realizó según el método propuesto por Rosen y Rosen [16]. El análisis cromatográfico de los extractos obtenidos se llevó a cabo, en el caso de la toxina T-2, mediante cromatografía de capa fina (TLC) monodimensional, siguiendo la metodología descrita por Ueno *et al.* [17]. El análisis del DAS se realizó mediante TLC bidimensional, usando cloroformo-acetona (3+2) [18] para el primer desarrollo, y cloroformo-etanol-acetato de etilo (90+5+5) [17] para el segundo. La confirmación del DAS se realizó con ácido cromotrópico, según Baxter *et al.* [19].

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos en la determinación de micotoxinas de *Fusarium* en maíz forrajero. La tabla 2 ofrece los resultados concernientes a la presencia de ocratoxina A en café verde nayarita.

Tabla 1. Presencia de toxinas de *Fusarium* en maíz forrajero procedente del estado de Nayarit (México).

Población	Fumonisinina B ₁ (µg/kg)	Toxina T-2 (µg/kg)	Zearalenona (µg/kg)	DAS (µg/kg)
Acaponeta	363	N.D.	N.D.	N.D.
Ahuacatlán	866	N.D.	2.041	N.D.
Amatlán de Cañas	269	N.D.	N.D.	N.D.
Bahía de Banderas	308	N.D.	N.D.	N.D.
Compostela	5.603	N.D.	1.429	N.D.
El Nayar	985	N.D.	N.D.	N.D.
Huajicori	5.388	N.D.	N.D.	N.D.
Ixtlán del Río	1.273	N.D.	N.D.	N.D.
Jala	1.160	N.D.	N.D.	N.D.
Jalisco	2.798	N.D.	1.361	N.D.
La Yesca	5.125	N.D.	N.D.	N.D.
Rosamorada	852	N.D.	N.D.	N.D.
Ruiz	751	7	N.D.	N.D.
Santa María del Oro	3.975	N.D.	N.D.	N.D.
Santiago Ixcuintla	4.151	N.D.	N.D.	N.D.
San Blas	1.338	N.D.	N.D.	N.D.
San Pedro Lagunillas	5.700	N.D.	N.D.	N.D.
Tecuala	6.627	N.D.	N.D.	N.D.
Tepic	2.511	N.D.	N.D.	N.D.
Tuxpan	776	N.D.	N.D.	N.D.
Media de las muestras positivas	2.541	7	1.610	---
Porcentaje de muestras positivas	100%	5%	15%	0%

N.D.: No detectado

Tabla 2. Presencia de ocratoxina A en café verde procedente del estado de Nayarit (México).

Población	Ocratoxina A (µg/kg)
Adolfo López Mateos	20,6
Altavista	N.D.
Atonalisco	18,3
Camichin de Jauja	60,0
Carrizal	20,5
Cuarenteño	25,0
Cumbres de Huicicila	62,5
El Cora	N.D.
Francisco I. Madero	16,6
Jalcocotán	N.D.
La Lima	16,6
La Yerba	N.D.
Malinal	30,0
Mazatán	50,0
Mecatán	N.D.
Mezcales	18,3
Palapitas	N.D.
Tepozal	N.D.
Tezterazo	18,3
Venustiano Carranza	27,5
Vizcarra	36,7
Media de las muestras positivas	30,1
Porcentaje de muestras positivas	67%

N.D.: No detectado

Los resultados indicaron que, dentro de las toxinas de *Fusarium* estudiadas, es sin duda la FB₁ la micotoxina que se encuentra en mayor número de muestras y en mayor concentración, hallándose en el 100% de las mues-

tras de maíz analizadas, en un intervalo de 269-6.627 µg/kg, con una concentración promedio de 2.541 µg/kg. Este hecho es preocupante si se tiene en cuenta que se ha sugerido que la fumonisina es una posible causa de la mayor incidencia de individuos con defectos en el tubo neural entre la población que vive en la frontera entre México y Texas [20]. Teniendo en cuenta que esta toxina queda como residuo en los tejidos, la ingestión por los animales de maíz forrajero contaminado por este metabolito tóxico puede conducir, mediante la ingestión de carne contaminada, a su presencia en la alimentación humana [21]. Por otra parte, la existencia de fumonisinas en maíz destinado a consumo humano ya ha sido demostrada, habiéndose encontrado presencia de FB₁ en tortillas de maíz mexicano, con una concentración que alcanzaba un promedio de 0,79 mg/kg [22].

Con respecto a la ZEA, esta toxina se encontró presente en un 15% de las muestras analizadas, en una concentración que varió entre 1.361-2.041 µg/kg, con un promedio de 1.610 µg/kg. Al igual que ocurre con las fumonisinas, la presencia de esta toxina en granos destinados a la alimentación animal, además de influir negativamente sobre la salud de los animales, especialmente en la de los cerdos debido a su elevado efecto estrogénico, puede conllevar la presencia de estas toxinas en la alimentación humana con la carne contaminada [23]. En el ámbito de la alimentación humana, en México diversos estudios han puesto de manifiesto la presencia de ZEA en tortillas de maíz [3], así como su resistencia al proceso de preparación de la tortilla [8].

En lo que se refiere a los tricotecnos estudiados, las muestras positivas fueron tan sólo un 5% para la toxina T-2 (una única muestra contaminada, con 7 µg/kg), y no se detectó DAS en ninguna de las muestras analizadas.

Un 67% de las muestras de café verde analizadas mostraron contaminación por OA, en un intervalo situado entre 16,6-62,5 µg/kg, con un promedio de 30,1 µg/kg, cifras similares a las ofrecidas por la bibliografía en café verde de diversas procedencias [24]. Nayarit, por su ubicación geográfica, presenta características específicas que lo distinguen del resto de estados mexicanos productores de café, destacando en la producción los municipios de

Compostela, San Blas y Jalisco. Por su posición en el extremo noroeste de la franja que este cultivo abarca en el país, queda expuesta a condiciones climatológicas tales como la distribución concentrada de lluvias, existencia de periodos de sequía que coinciden con la época de floración, y altas temperaturas, condiciones todas que pueden favorecer el ataque de mohos productores de micotoxinas, tanto en el campo como durante los prolongados periodos de almacenamiento.

Hasta la fecha, en México no se ha publicado ningún estudio sobre la presencia de esta toxina en café verde, siendo los resultados obtenidos ligeramente superiores a los observados en otros países importantes por su producción cafetalera, como Colombia, Brasil, Zaire o Tanzania [25]. Hay que hacer constar que el tostado del café no es un proceso que asegure la total destrucción de esta toxina [24], habiéndose incluso demostrado que tratamientos de 200 °C durante 20 min no consiguen reducir una concentración inicial de 114 µg OA/kg café verde en más de un 12 % [26].

A la vista de los resultados ofrecidos en este estudio preliminar, parece interesante que en México se elaboren programas para el control de las micotoxinas estudiadas, de igual forma a como ya se ha hecho para el control de las aflatoxinas en maíz [27], que puedan conducir a un mayor conocimiento de la problemática originada por estos compuestos tóxicos en el país y a la promulgación de una legislación reguladora.

Es importante destacar que este trabajo es el primer estudio sobre micotoxinas que se realiza en el estado de Nayarit y, hasta donde es conocido, el primer estudio realizado para determinar si existe DAS en maíz mexicano y OA en café verde del mismo país. En él se ha puesto de manifiesto que la contaminación por micotoxinas es un problema real en los dos productos agrícolas estudiados, lo que sugiere que habría que intensificar el estudio de estos metabolitos fúngicos, ampliando el muestreo y la variedad de productos estudiados.

M.L. Robledo y A.J. Ramos agradecen la concesión de sendas becas por parte de la Agencia Española de Cooperación Internacional, para la participación en el Programa de Cooperación Interuniversitaria para profesores universitarios. Este trabajo ha sido subvencionado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, CICYT AL198-0509-C04-01 y el Ayuntamiento de Lleida. Asimismo se agradece a R. Verde, M.D. Villalobos, A. López, A. Zavala y B. Zúñiga, por su ayuda en la recolección de las muestras y su procesamiento.

Bibliografía

- Betina V. Mycotoxins. Chemical, biological and environmental aspects. Amsterdam, Elsevier, 1989.
- Torreblanca RA, Bourges RH, Morales J. Aflatoxin in maize and tortillas in Mexico. En: Zuber MS, Lillehoj EB, Renfro BL (Eds.) Aflatoxin in maize. Mexico, CIMMYT, 1987: 310-317.
- Carvajal M, Campos L, Pereda P, Valencia G, Irvin TR, Donnelly KC. Mycotoxins of "tortillas", its carcinogenic and cytotoxic effects. Proceedings of the Japanese Association of Mycotoxicology 1988; Suppl. 1: 242-243.
- Torres E, Acuna K, Naccha LR, Montoya R, Castellon JP. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, Mexico. Food Add Contam 1995; 12: 383-386.
- Carvajal M, Arroyo G. Management of aflatoxin contaminated maize in Tamaulipas, Mexico. J Agric Food Chem 1997; 45: 1301-1305.
- Carvajal M, Rosiles MR, Abbas HK, Mirocha CJ. Mycotoxin carryover from grain to tortillas in Mexico. En: Zuber MS, Lillehoj EB, Renfro BL (Eds.) Aflatoxin in maize. Mexico, CIMMYT, 1987: 318-319.
- Guzmán de Peña D, Trudel L, Wogan GN. Corn "nixtamalización" and the fate of radiolabelled aflatoxin B₁ in the tortilla making process. Bull Environ Contam Toxicol 1995; 55: 858-864.
- Abbas HK, Mirocha CJ, Rosiles R, Carvajal M. Decomposition of zearalenone and deoxynivalenol in the process of making tortillas from corn. Cereal Chem 1988; 65: 15-19.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Síntesis geográfica de Nayarit. Coordinación General de los Servicios Nacionales de Estadística, Geografía e Informática, México, 1997.
- Gobierno del Estado de Nayarit. Plan Estatal de Desarrollo 2000-2005, Nayarit, México, 2000.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Cuadernillo Estadístico. México, 1997.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Coordinación de Información. Sector agropecuario. Consejo Mexicano del café, 1999.
- Shephard GS, Sydenham EW, Thiel PG, Gelderblom WCA. Quantitative determination of fumonisin B₁ and B₂ by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. J Liq Chromatogr 1990; 13: 2077-2087.
- Sanchis V, Abadias M, Oncins L, Sala N, Viñas I, Canela R. Occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in corn-based products from the Spanish market. Appl Environ Microbiol 1994; 60: 2147-2148.
- Association of Official Analytical Chemists, Book of Methods, 16th ed. Arlington, Virginia AOAC, 1995.

16. Rosen RT, Rosen JD. Quantification and confirmation of four *Fusarium* mycotoxins in corn by gas chromatography-mass spectrometry-selected ion monitoring. *J Chromatogr* 1984; 32: 223-230.
17. Ueno Y, Sato N, Ishii K, Sakai K, Tsunoda H, Enomoto M. Biological and chemical detection of trichothecene mycotoxins of *Fusarium* species. *Appl Microbiol* 1973; 25: 699-704.
18. Takitani S, Asabe Y, Kato T, Suzuki M, Ueno Y. Spectrodensitometric determination of trichothecene mycotoxins with 4-(*p*-nitrobenzyl)pyridine on silica gel thin-layer chromatograms. *J Chromatogr* 1979; 172: 335-342.
19. Baxter JA, Terhune SJ, Qureshi SA. Use of chromotropic acid for improved thin-layer chromatographic visualization of trichothecene mycotoxins. *J Chromatogr* 1983; 261: 130-133.
20. Stack ME. Analysis of fumonisin B₁ and its hydrolysis product in tortillas. *J AOAC International* 1998; 81: 737-740.
21. Prelusky DB, Miller JD, Trenholm HL. Disposition of 14C-derived residues in tissues of pigs fed radiolabelled fumonisin B₁. *Food Add Contam* 1996; 13: 155-162.
22. Dombrink-Kurtzman MA, Dvorak TJ. Fumonisin content in masa and tortillas from Mexico. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 622-627.
23. El-Hoshy SM. Occurrence of zearalenone in milk, meat and their products with emphasis on influence of heat treatments on its level. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 1999; 50: 140-143.
24. Studer-Rohr I, Dietrich DR, Schlatter J, Schlatter C. Ochratoxin A and coffee. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg* 1994; 85: 719-727.
25. Studer-Rohr I, Dietrich DR, Schlatter J, Schlatter C. The occurrence of ochratoxin A in coffee. *Food Chem Toxic* 1995; 33: 341-355.
26. Tsubouchi H, Yamamoto K, Hisada K, Sakabe Y, Udagawa, S. Effect of roasting on ochratoxin A level in green coffee beans inoculated with *Aspergillus ochraceus*. *Mycopathologia* 1987; 97: 111-115.
27. Juan-Lopez M, Carvajal M, Iturarte B. Supervising programme of aflatoxins in Mexican corn. *Food Add Contam* 1995; 12: 297-312.