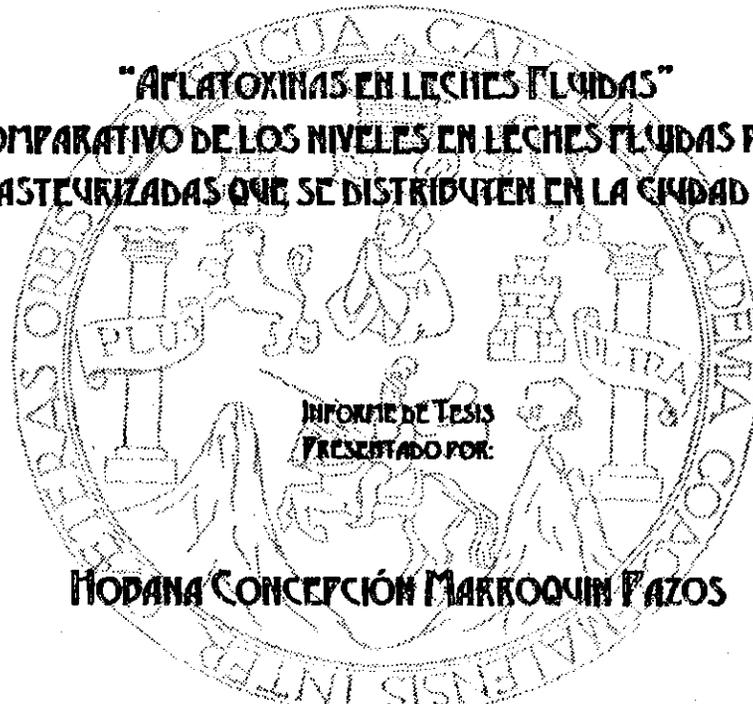


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

"AFLATOXINAS EN LECHE FLUIDAS"
**(ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS NIVELES EN LECHE FLUIDAS PASTEURIZADAS
Y NO PASTEURIZADAS QUE SE DISTRIBUYEN EN LA CIUDAD CAPITAL)**



INFORME DE TESIS
PRESENTADO POR:

HODANA CONCEPCIÓN MARROQUIN PAZOS

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 1995

D. 1
06
1(708)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	LICDA. GLORIA MA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

DEDICATORIA

Señor, fuente eterna de sabiduría y bondad de quien procede todo bien, permíteme agradecerte con humildad el concederme alcanzar una de mis metas más anheladas y dedicártela como el hacedor más grande de mi vida.

Bendice a mis padres por sus esfuerzos constantes en el camino de mi superación y por prodigarme todo el amor que hizo posible el logro de mi éxito profesional.

Inspira en mis hermanos el don de la fortaleza y el deseo de cultivar la sabiduría que procede de ti.

Concede a mis abuelos el goce de la plenitud eterna de tu gloria y permíteles regocijarse con mi triunfo.

A mi familia y amigos que con su constante cariño estuvieron siempre apoyándome en culminar mi esfuerzo, bendícelos por su noble corazón.

A mi asesor Lic. Elfego Rolando López y a la Licda. María del Carmen Samayoa de Arriola, que con sus sabias enseñanzas y apoyo permanente contribuyeron al alcance de mi meta.

A todos ellos, permíteme dedicarles este acto de graduación...

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos, especialmente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por contribuir a mi formación académica.

Al Departamento de Análisis Aplicado, por permitirme el uso de sus instalaciones para el desarrollo de esta investigación.

A: Licda. Uthzie Ramos de Casasola, Licda. Beatriz Batres de Jiménez y Lic. Jorge Luis de León, con sincero agradecimiento por su incondicional ayuda.

ÍNDICE

	Pag.
1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Antecedentes.....	4
4. Justificaciones.....	7
5. Objetivos.....	8
6. Hipótesis.....	9
7. Materiales y Métodos.....	10
8. Resultados.....	16
9. Discusión de Resultados.....	19
10. Conclusiones.....	21
11. Recomendaciones.....	22
12. Bibliografía.....	23
13. Anexos.....	27

I. RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el fin de determinar la presencia de aflatoxina M₁ en leches fluidas pasteurizadas y no pasteurizadas que se distribuyen en la Ciudad Capital.

La importancia de éste trabajo radica en la identificación, cuantificación de aflatoxina M₁ y la determinación de los niveles permitidos por la *-FDA- Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos*; así como evaluar la sensibilidad del método según la *-AOAC- Asociación de Químicos Analíticos Oficiales*, el cual se basó en la obtención de extractos y su posterior desarrollo mediante cromatografía en capa fina, revelados con luz ultravioleta de longitud de onda larga (365 nm).

Se estandarizó el método por medio de la fortificación de una concentración conocida de aflatoxina M₁ a diferentes muestras con lo cual se determino el R_f. Luego se llevó a cabo la comparación con las muestras problema.

Posterior a la estandarización se evaluaron las 100 muestras (50 de leche pasteurizada y 50 de leche no pasteurizada), las cuales no presentaron niveles de aflatoxina M₁ detectables, con lo que se concluye que las leches fluidas analizadas no contienen aflatoxina M₁, asimismo se validó la eficacia del método a través de la determinación del porcentaje de recuperación.

2. INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas pertenecen a un grupo de metabolitos bisfurocumarínicos tóxicos y son generalmente detectados mediante cromatografía en capa fina, por su color azul y verde, identificados con la inicial en inglés como B₁, B₂, G₁ y G₂, son producidos principalmente por Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus y en menor grado por los hongos de los géneros Penicillium y Fusarium. (1,2,3)

Estos hongos son muy comunes y representan un peligro potencial de contaminación para los alimentos humanos y animales. La presencia y magnitud de la contaminación por aflatoxinas varía según los factores geológicos, estacionales, condiciones de recolección y almacenamiento de los productos. (4)

En animales, las aflatoxinas ingeridas pueden ser degradadas metabólicamente. La aflatoxina M₁ es un metabolito hidroxilado de aflatoxina B₁, que aparece en la leche materna de mamíferos que han ingerido alimentos contaminados con aflatoxina B₁. Estudios realizados confirman que la aflatoxina M₁, tiene niveles más altos de hepatocarcinogenicidad que la aflatoxina B₁. (5,6)

En humanos se ha encontrado que varias enfermedades crónicas y algunas agudas están relacionadas directamente con el consumo de aflatoxina. Entre las enfermedades crónicas el hepatocarcinoma es el más importante y el más estudiado, también se encuentra entre ellas el síndrome de Reyé y la cirrosis infantil.

(7)

Por el riesgo que presenta para la salud humana y por la probabilidad que existe de contaminación se efectuó el análisis en leche fluida que se distribuye en la Ciudad Capital.

3. ANTECEDENTES

Waki I. colaboradores, investigaron seis marcas comerciales de leche fluida que circulan en el mercado de Honduras. Encontraron aflatoxinas en muestras de leches provenientes de dos regiones del país. (5)

Murillo B. y colaboradores, realizaron un estudio en aves ponedoras y pollos de engorde; a los cuales se les proporcionó 15 y 25 mg de aflatoxinas. A los trece días de experimentación las aves que consumieron 15 mg de aflatoxinas murieron en un 50%. (9)

Rosiles R. llevó a cabo un estudio en tortillas expandidas comercialmente en México D.F., los resultados obtenidos indican que los niveles encontrados de aflatoxina B₁ varían de 50 a 200 ppb. (10)

Campos M. y colaboradores, estudiaron la contaminación por aflatoxinas en granos y productos derivados de los mismos durante la estación seca en Guatemala. La investigación se llevó a cabo con muestras de granos almacenados durante la estación seca, aunque puede ocurrir una contaminación alta durante la estación lluviosa.

Los resultados obtenidos indican que de las 118 muestras de maíz, el 12% estaba contaminado. (11)

Campos M. y colaboradores, realizaron un estudio en granos de la costa sur de Guatemala, los resultados indican que los granos de la costa sur son susceptibles a la contaminación por aflatoxinas, especialmente durante la estación lluviosa, el maíz representa un problema especial. Cerca del 80% de las muestras colectadas

durante la estación lluviosa fueron dañadas por insectos, por lo que es necesario utilizar protección para los granos y evitar el crecimiento de mohos y la contaminación de aflatoxinas. Los niveles de contaminación aumentan mientras existan condiciones adecuadas para el crecimiento de hongos. (12)

Verma y colaboradores, estudiaron alteraciones en eritrocitos de conejos durante una aflatoxicosis inducida. Estudio realizado en la India. Utilizando 20 conejos, dividiéndose los mismos en dos grupos.

Al grupo 1 se les proporcionó alimento no contaminado y sirvió de control.

El tratamiento se llevó a cabo en períodos de 30, 45 y 60 días. Los resultados indican que la concentración de hemoglobina, células empaquetadas y volumen corpuscular medio disminuyó a causa de la aflatoxicosis. (13)

Raval P. y colaboradores, estudiaron alteraciones en composición bioquímica de músculo esquelético durante la aflatoxicosis en conejos, investigación realizada en la India en 20 conejos de 200-250 g de un mes de edad, divididos en dos grupos: al primero se le proporcionó alimento contaminado con aflatoxinas (15 mg/Kg); el segundo grupo fue el control.

Los resultados obtenidos dan a conocer que la contaminación de aflatoxinas en los alimentos causó una reducción significativa en las concentraciones de glicógeno, proteínas y lípidos en el músculo del muslo, desgastándolo y enflaqueciéndolo durante la aflatoxicosis. (14)

Ordoñez R. estudió aflatoxinas y daño hepático en humanos. La investigación indica que se encontraron aflatoxinas en 8 de 30 casos estudiados.

Las aflatoxinas encontradas con mayor frecuencia y en mayor cantidad fue la aflatoxina P₁,¹ y en bajos niveles las aflatoxinas B₁ y M₁. (7)

Díaz I. estudió aflatoxinas en tortillas y granos de maíz. Investigación realizada a muestras provenientes de la aldea La Espinilla, Río Hondo, Zacapa, se determinó en las muestras de maíz y tortillas aflatoxinas B₁, B₂, del total de muestras (treinta y nueve), el 41% de las mismas resultaron positivas, los niveles encontrados no rebasan las 20 ppb, indica también que uno de los posibles agentes etiológicos que provoca en esa localidad fallecimientos por enfermedades hepáticas en dicha aldea, es por contaminación con aflatoxinas, especialmente la B₁. (15)

Rodríguez E. investigó aflatoxinas en huevos producidos en granjas avícolas de Guatemala. El porcentaje de huevos contaminados con aflatoxinas, (7.6%), en relación a la producción de huevos (1 millón aproximadamente) es muy elevado, donde las aflatoxinas M₁ resultaron ser los más importantes, como contaminantes. (16)

Aguirre L. realizó un estudio de aflatoxina M₁ en productos alimenticios de origen animal, en el que se encontraron residuos de aflatoxinas M₁ en muestras de hígado. (El estudio se extendió a huevos y leche, para los cuales el resultado fue negativo). (17)

Martins, Jorge Luis Serafin, et al. Reportaron aflatoxinas en una proporción baja de 1.8% presente en cuatro marcas de leches que se comercializan en So Paulo, Brasil. (18)

¹ Aflatoxina P₁, es un hidroxiderivado de las aflatoxinas B₁ en el organismo animal y han sido encontradas en muestras de sangre y orina de personas y animales con alto consumo de aflatoxinas. (4)

4 JUSTIFICACIONES

Guatemala es un país productor de granos básicos y poseedor de clima propicio para el crecimiento de microorganismos que facilitan la contaminación. Estudios realizados anteriormente, reportan que por las condiciones inapropiadas de cultivo, cosecha, almacenamiento, manejo y consumo de grano; el maíz y otros productos son fácilmente contaminados por los hongos del género Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus, que originan en su metabolismo aflatoxinas, las que repercuten directamente dentro de la cadena alimenticia. Por lo anterior y debido a que la leche es uno de los alimentos principales en la dieta del guatemalteco, es importante establecer si existen niveles de contaminación de aflatoxinas en leches pasteurizadas y no pasteurizadas que se distribuyen en la ciudad capital.

5. OBJETIVOS

- 5.1 Determinar si en algunas de las leches fluidas pasteurizadas y no pasteurizadas que se comercializan en la ciudad capital presentan niveles de contaminación por aflatoxinas.
- 5.2 Cuantificar los niveles de aflatoxinas en leches fluidas pasteurizadas y no pasteurizadas que utiliza la población guatemalteca.
- 5.3 Determinar si los niveles de aflatoxinas se encuentran dentro de los niveles permitidos por la *-FDA- (Food and Drug Administration)*.

6. HIPÓTESIS

Las leches fluidas pasteurizadas y no pasteurizadas que se distribuyen en la ciudad capital, poseen niveles de aflatoxinas menores de 20 ppb², valor establecido por la -FDA- (*Food and Drug Administration*) como límite máximo para productos alimenticios.

² ppb. (microgramos/Kilogramo ó partes por billón
COGUANOR (Comisión Guatemalteca de Normas)

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de trabajo:

Constituido por:

- 5 lotes de 10 muestras cada uno de leches pasteurizadas.
- 5 lotes de 10 muestras cada uno de leches no pasteurizadas, todas las muestras fueron obtenidas con diferentes distribuidores de la ciudad capital.

7.2 Medios

7.2.1 Recursos humanos.

Autora: Br. Hobana Concepción Marroquín Pazos.

Asesor: Lic. Elfego Rolando López G

7.2.2 Recursos Materiales:

7.2.2.1 Equipo y material de laboratorio

Equipo:

- Centrífuga
- Cámara con tapadera para desarrollo de placas
- Luz ultravioleta
- Secadora manual
- Balanza semianalítica
- Horno

Material:

- Frascos de centrifuga de 50 ml
- Probetas graduadas de 100 ml
- Embudos de filtración buchner
- Papel filtro
- Varillas de vidrio
- Espátulas
- Pipetas pasteur
- Microjeringas
- Placas de adsorbosil -1 20 x 20
- Papel Aluminio
- Ampollas de decantación de 225 ml
- Erlenmeyer de 250 ml
- Mangueras
- Pizeta

Reactivos

- Metanol grado analítico
- Cloruro de sodio al 4%
- Hexano grado analítico
- Cloroformo
- Sulfato de sodio anhidro

- Benceno
- Acetonitrilo
- Acetona
- Estándar de aflatoxina M₁ (2 ug/ml en benceno:
Acetonitrilo)
- Nitrógeno
- Celite
- Cloroformo

7.3 Procedimiento:

7.3.1 Obtención y manejo de muestras:

Se recolectaron diez muestras de cinco marcas comerciales, tomadas al azar, compradas en diferentes lugares de distribución. Las marcas comerciales estudiadas fueron: Foremost, Al Día, La Pradera, Diadema, La Palma.

Cada semana se obtuvieron diez muestras de leche pasteurizada tomadas al azar de una marca comercial, compradas en diferentes lugares de distribución (tiendas y supermercados).

Inmediatamente después de adquirirlas se transportaron al Laboratorio y fueron guardadas en refrigeración (10° C) para su posterior análisis.

Al terminar con cada lote, se procedió a tomar muestras de leche no pasteurizadas, diez muestras de cada uno de cinco distribuidores:

Distribuidor No. 1: Leche proveniente de Tierra Nueva, Mixco - Vendedor ambulante zona 4 Mixco.

Distribuidor No. 2 y 3: Leche proveniente de San José Pinula - Vendedor ambulante zona 7 y zona 11.

Distribuidor No. 4: Leche proveniente de San Pedro Ayampuc - Vendedor ambulante zona 17.

Distribuidor No 5: Leche proveniente de Escuintla Lechería zona 12.

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio y guardadas en refrigeración hasta el momento de su análisis y almacenadas como se describió anteriormente.

- 7.3.2 El día del análisis las muestras a procesar fueron sacadas del refrigerador, hasta alcanzar la temperatura ambiente.
- 7.3.3 Obtención del extracto a sembrar en la placa basándose en el método de Asociación de Químicos Analíticos Oficiales -AOAC-.
- Licuar por 3 minutos 37.5 ml de leche fluida con 100 ml de Metanol, agregar 8.3 g de celite, licuar por 30

segundos más. Filtrar al vacío a través de una capa de celite de un centímetro de espesor en un embudo de filtración. Presionar el celite y el precipitado de caseína. Lavar con 25 ml de metanol. Transferir el filtrado y los lavados que serán aproximadamente 125 ml a una ampolla de decantación de 500 ml, agregar 75 ml de Cloruro de sodio al 4%.

Extraer con tres porciones de 33 ml de Cloroformo (*centrifugar durante 10-15 minutos a 3000 rpm*) para romper la emulsión.

Combinar los extractos clorofórmicos en una ampolla de decantación, lavar con 100 ml de Cloruro de sodio al 4%. Pasar por una columna cromatográfica con Sulfato de sodio anhidro, secar los extractos clorofórmicos bajo una corriente de nitrógeno casi a sequedad. Redisolver el extracto seco, emplear una mezcla de Benceno: Acetonitrilo (98:2), utilizar 1 ml de la mezcla.

Activar las placas por 15 minutos a 100 C°. Medir 2 centímetros de la base y 15 centímetros de corrida, trazar una línea y aplicar muestra (3,5,7 ul). Aplicar dos veces el volumen mayor y contaminarla con 5 ul de estándar.

Dejar un espacio de 1 centímetro entre cada aplicación y luego aplicar estándar en diferentes cantidades (las cuales deben ensayarse con 5, 10, 15, 20, y 40 μ l).

Revelar la placa en un tanque apropiado, al cual se han agregado 50 ml de solvente desarrollador (Acetona: Cloroformo 1:9), si no se obtiene una buena separación de aflatoxina M_1 , ensayar los sistemas Acetona: Cloroformo 5:95 ó 15:85. Lo que se pretende es que la aflatoxina tenga un R_f de 0.4 - 0.7. (18)

El R_f es una relación entre la distancia recorrida por la muestra y la distancia que recorre el solvente.

La fluorescencia se lee en una cámara de luz ultravioleta a 375 nm en la oscuridad. (19)

8. RESULTADOS

Los resultados del análisis de aflatoxina M_1 en leche pasteurizada y no pasteurizada se resumen en los cuadros No. 1, 2,3 y No. 4 respectivamente.

En los cuadros No. 3 y 4 se reportan los resultados en R_f del estándar, ya que las muestras de las leches no presentaron contaminación.

Un logro importante fue encontrar una metodología alterna que no usa Plomo para el análisis de aflatoxina M_1 aprobado por la Asociación de Químicos Analistas Oficiales. Se utilizó en la técnica de cromatografía la fortificación de la muestra, y dió un resultado satisfactorio ya que se comprobó la validez y precisión del método, según indica el porcentaje de recuperación obtenido que fue del 90%.

Cuadro No. 1Resultados de aflatoxina M₁ en leche pasteurizada.

Muestras de leche pasteurizada	Aflatoxina M1
1	No detectado
2	No detectado
3	No detectado
4	No detectado
5	No detectado

Cuadro No. 2Resultados de aflatoxina M₁ en leche no pasteurizada

Muestras de leche no pasteurizada	Aflatoxina M1
1	No detectado
2	No detectado
3	No detectado
4	No detectado
5	No detectado

Cuadro No. 3

R_f calculados en estándar de leches pasteurizadas.

Estándar para leches pasteurizadas	R_f
1	0.47
2	0.46
3	0.44
4	0.47
5	0.48

Cuadro No. 4

R_f calculados en estándar de leches no pasteurizadas.

Estándar para leches no pasteurizadas	R_f
1	0.12
2	0.09
3	0.10
4	0.10
5	0.09

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En las 100 muestras analizadas (50 de leche pasteurizada y 50 de leche no pasteurizada) no se detectaron residuos de aflatoxina M_1 . Lo que confirma que las leches fluidas pasteurizadas y no pasteurizadas que se analizaron están exentas de contaminación por aflatoxina M_1 .

El estándar para los lotes de leches no pasteurizadas (cuadro No. 4), presentó R_f menores al intervalo ideal de aflatoxina M_1 según el método de la -AOAC- (0.4 - 0.7), lo cual se debió a que se utilizó una cámara diferente a la de las leches pasteurizadas (cuadro No. 3)

El extracto a sembrar en la placa se obtuvo como indica el método de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales -AOAC- con la diferencia en cuanto a las cantidades de volúmenes en los reactivos los que se redujeron por no contarse con la cantidad total correspondiente. Para poder secar los extractos clorofórmicos se utilizó un horno al vacío con atmósfera de nitrógeno.

En cuanto a la estandarización del método se aplicó en la placa estándar a concentraciones de 10 ppb, 20 ppb y 30 ppb y muestras de 3, 5 y 7 ul. Se concluyó que se trabajaría con 5 ul de estándar que corresponde a 20 ppb, y 7 ul de muestra.

La separación con el sistema acetona:cloroformo 1:9 resultó buena por lo que no fue necesario ensayar los sistemas Acetona:cloroformo 5:95 ó 15:85. La

Para determinar la eficiencia del método con cada lote de muestras analizadas se corrió una muestra de leche fortificada con 2.5 ul de estándar, para obtener una concentración de 20 ppb.

Se obtuvieron siempre resultados positivos con la muestra contaminada, lo que permitió comprobar el buen funcionamiento del método empleado para separar la aflatoxina en estudio.

Para determinar el porcentaje de recuperación del método, se contaminaron tres porciones de 7 ul cada una de leche (pasteurizada y no pasteurizada) con diferentes cantidades de estándares (2.5, 5 y 10 ul), para obtener en el extracto final, concentraciones de 10, 20 y 30 ppb. Se aplicaron en la capa fina, juntos los estándares (10, 20 y 30 ppb) y muestras contaminadas.

Fueron observadas las intensidades de fluorescencia, tanto de muestras contaminadas y patrones, se calculó una recuperación de 90% en los tres niveles aplicados.

La investigación de aflatoxinas conlleva una serie de dificultades en el análisis, de acuerdo a la infraestructura, materiales, equipo disponible en la Facultad y costo, el cual es sumamente alto, esto limita el desarrollo de investigaciones relacionadas al estudio de micotoxinas en otras matrices.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 De acuerdo a los resultados obtenidos, las muestras analizadas no presentaron contaminación de aflatoxina M₁.
- 10.2 Se comprobó que el método empleado, es adecuado para detectar aflatoxina M₁ en leche fluida, al obtener resultados positivos en muestras contaminadas con los patrones que se corrieron al mismo tiempo que las muestras.
- 10.3 El método empleado se seleccionó debido a que tiene la ventaja de no utilizar sustancias químicas contaminantes.

II. RECOMENDACIONES

- 11.1 Es necesario continuar estudios sobre determinación de aflatoxinas, especialmente en hígado de res y otros órganos, ya que es donde las mismas son fácilmente acumuladas.
- 11.2 Efectuar estudios similares en época lluviosa, porque la humedad del ambiente es un factor importante para el crecimiento de Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus, hongos productores de aflatoxinas.
- 11.3 El ministerio de Salud Pública debe de instaurar programas de vigilancia y control de aflatoxinas en piensos y otros alimentos.
- 11.4 Buscar financiamiento para investigaciones de esta naturaleza en institutos de investigación afines a la Universidad de San Carlos o en programas de intercambio internacional.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Cabrera S. de, De León R., et al. Aflatoxin in Central América cotton seed. Guatemala: Conferencia interamericana sobre toxiinfecciones de origen alimentario. INCAP. (Memorias) 1976. p. 89-90.
2. Crespo J. Incidencia de la contaminación por aflatoxinas en granos de la costa suroriental de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1979. p. 27-32.
3. World health organization. Mycotoxins. Geneva 1979. (WHO. Environmental Healt Criteria No. 11) p. 11-12, 10-85.
4. Goldbatt leo. Aflatoxin: scientific background control and implications. Academic Press. New York and London 1969. p. 152-153, 472.
5. Waki Ikumi, Sorto Luisa, et al. Cuantificación de aflatoxinas M1 en leches fluidas para consumo humano y alimentos concentrados para ganado vacuno. Honduras: Universidad Autónoma de Honduras. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Centro de Estudios y control de contaminantes (CESCO), MSP, EPFL, OPS.

6. Bailey, GS; Price, R. L.; Park, D. L; Hendricks, J.D. Effect of amoniation of aflatoxin B1 content of cows milk and hapatocarcinogenicity in the trout bioassay. *Food. Chem. Toxicol.* 1994. Aug 32(8) p. 707-15.
7. Ordoñez, Padilla Roberto Antonio. Aflatoxinas y daño hepático. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Médicas). 1985. p. 60
8. Wessel J. R., Stoloff L. Regulatory surveillance for aflatoxin and other mycotoxin in foods, mear and milk. *J. Ame. Vet. Assoc.* 163 (11). 1973. p. 1285.
9. Murillo, Beatriz; Cabezas, M.T. et al. Las micotoxinas en la alimentación de aves de corral. Guatemala: Primer Congreso de Avicultura de C.A. y Panamá 1-3 de octubre de 1975. INCAP.
10. Rosiles, Martínez, René. Aflatoxinas en las tortillas. México: Veterinaria Mex. 1979. (10) (1) p. 37-43.
11. Campos Marit de, Olszyna Marzys A.E. Aflatoxin contamination in grain products during the dry season in Guatemala. *Bull Environm. Contam. Toxicol.* 1979. 22(3) p. 350-356.
12. Campos Marit de, Crespo, Santos J, et al. Aflatoxin contamination in grains from the pacific coast in Guatemala and the effect estorage upon contamination. *Bull Envirm, contam. Toxicol.* 1980. 24(5) p. 789-795.

13. Verma R.J., Raval, P.J. Alterations in erythrocytes during induced chronic aflatoxicosis in rabbits. Bhavnagar, India. Bhavnagar University. Department of life Sciences. Bull Environm. Toxicol. 1992. 49(6) p. 855-857, 861-863.
14. Raval P.J. and Verma R.J. Alterations in biochemical composition of skeletal muscle during aflatoxicosis in rabbits. Bhavnagar, India: Bhavnagar university. Department of Life Sciences. Bull Environm. Toxicol. 1992. 49 p. 255-860.
15. Díaz Morales, Iraida Divina. Estudio de aflatoxinas en tortillas y granos de maíz en la aldea La Espinilla, Río Hondo, Zacapa. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de Graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1990. p. 21.
16. Rodríguez Arreaga, Elmer Jacob. Determinación de aflatoxinas en huevos producidos por granjas avícolas de Guatemala. (Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1987. p. 24.
17. Aguirre Valdivieso, Liana Guadalupe. Determinación de aflatoxina M1 en productos alimenticios de origen animal en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.(Tesis de graduación. Facultad de Ciencias Químicas y farmacia). 1982. p. 30,31, 41-43, 55.

18. Martins, Jorge Luis Serafin, et al. Aflatoxina M₁ no leite tipo "B" comercializado no Municipio de São Paulo, SP (Brasil). Rev. Saúde Pública; 1986 20(4) p. 303-308.
19. Association of official analytical chemist. Official methods of analysis of the association of analytical chemists. 12nd. de. Washington, D.C. 1975. p. 462,466, 467,476.
20. Conferencia mixta FAO/OMS/PNUMA sobre micotoxinas Nairobil, Kenia. Aspectos sanitarios y toxicológicos de la micotoxinas. 19-27 de septiembre 1977. Roma. FAO, 1977. p. 15.

13. ANEXOS

	Página
• Monografía de las Aflatoxinas	1
• Estructuras químicas de Aflatoxina B ₁ y M ₁	2
• Precauciones recomendadas a personas que trabajan con estándares de aflatoxinas	3

MONOGRAFÍA DE LAS AFLATOXINAS

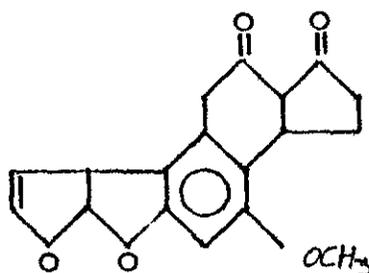
Las aflatoxinas son metabolitos producidos por hongos, compuestos bis-furanocumarínicos, tóxicos, cristalinos y muy fluorescentes. Las aflatoxinas se producen principalmente por los hongos Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus y en menor grado por los hongos de los géneros Penicillium y Fusarium.

Las aflatoxinas del reino vegetal se clasifican como B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ y M₂, éstas fueron aisladas por primera vez en la harina de maní. De las cuatro aflatoxinas la B₁ es la más abundante y más tóxica.

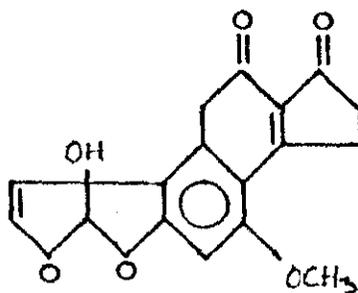
Aunque las aflatoxinas han sido encontradas en una gran variedad de productos alimenticios, están presentes principalmente en las semillas de algodón, maní y maíz que no han sido almacenadas adecuadamente. Tienen la propiedad de ser muy estables y resistentes a altas temperaturas y a la pasteurización, por lo que no son eliminadas con las prácticas ordinarias de cocción. Sin embargo son relativamente inestables cuando se exponen a la luz UV (ultravioleta) y pueden ser químicamente degradadas con agentes oxidantes, álcalis, peróxido de hidrógeno o con amoníaco. Pueden ser totalmente destruidas autoclavéandolas en presencia de amonio o por tratamiento con hipoclorito. (4, 17, 20)

ESTRUCTURAS QUÍMICAS DE AFLATOXINA B₁ Y AFLATOXINA M₁

- **Aflatoxina B₁:**



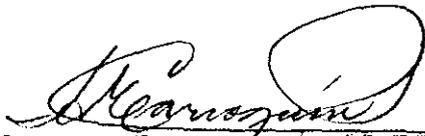
- **Aflatoxina M₁:**



PRECAUCIONES RECOMENDADAS A PERSONAS QUE TRABAJAN CON ESTÁNDARES DE AFLATOXINAS

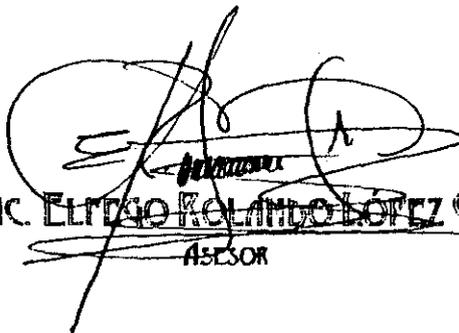
Las aflatoxinas son sustancias sumamente tóxicas más aún cuando se trabaja con estándares concentrados y purificados por lo que son recomendadas las siguientes prácticas en el laboratorio.

- Trabajar en una habitación bien ventilada, destinada únicamente para el estudio de aflatoxinas.
- Usar mascarilla, pues las aflatoxinas se pueden volatilizar y subsecuentemente ser inhaladas.
- Evitar el contacto directo de las aflatoxinas con la piel, utilizar guantes y bata, los que una vez usados deberán ser descartados o introducidos en una solución que contiene 5% de Hipoclorito de sodio en agua por una hora.
- Todo material de laboratorio contaminado deberá ser introducido en Hipoclorito de sodio al 5% para inactivar las aflatoxinas.
- No ingerir ni dejar ningún alimento dentro del laboratorio.



MARIANA CONCEPCIÓN PARROQUÍN PAZOS

AUTORA



LIC. ELADIO ROLANDO LÓPEZ G.

ASESOR



LIC. BEATRIZ BATRES DE JIMÉNEZ

DIRECTORA DE LA ESCUELA

DE QUÍMICA FARMACÉUTICA



LIC. JORGE PÉREZ FOLGAR

DECANO