

Contaminación con micotoxinas en alimento balanceado y granos de uso pecuario en México en el año 2003

Mycotoxin contamination of grains and feeds used in animal production in Mexico during 2003

César Mateo Flores Ortiz^a, Luis Barbo Hernández Portilla^b, Josefina Vázquez Medrano^b

RESUMEN

El presente trabajo describe cuantitativa y cualitativamente la presencia natural de micotoxinas en alimentos balanceados y granos, empleados en la producción de aves, cerdos y ganado en México durante el año 2003. Se analizaron 133 muestras en su contenido de 1 a 5 micotoxinas, aflatoxina B1 (AF), ocratoxina A (OTA), citrinina (CIT), toxina T2 (T2), y zearalenona (ZEA). En total, se realizaron 312 análisis, 92 de AF, 45 de OTA, 43 de CIT, 83 de T2 y 49 de ZEA. Los resultados muestran que el 57.0 % de las muestras analizadas presentaron alguna cantidad detectable de micotoxinas. Del total de las muestras contaminadas, el 11.2 % contenían niveles por arriba de las normas de regulación para cada micotoxina. En particular, la micotoxina que presentó la mayor incidencia fue OTA, con un rango de contaminación de 1 a 353 $\mu\text{g kg}^{-1}$, con una ocurrencia en 15 de 45 muestras analizadas y un porcentaje de 60 % de muestras contaminadas por arriba de la norma. En general, las ascomicotoxinas (AF, OTA y CIT) mostraron menor incidencia que las fusariotoxinas (T2 y ZEA) con 51.1% y 65.2 %, respectivamente. En ninguno de los análisis realizados durante el estudio, se registraron niveles de micotoxinas que representaran riesgo de mortalidad; sin embargo, se discute la importancia de los valores encontrados en función de las reducciones que se pueden observar en los parámetros productivos de las especies de explotación pecuaria.

PALABRAS CLAVE: Micotoxinas, Granos, Alimento balanceado, México.

ABSTRACT

A quantitative and qualitative description is made of the natural presence of mycotoxins in grains and feed used in poultry, swine and cattle production in Mexico during 2003. A total of 133 samples were analyzed to determine content of aflatoxin B1 (AF), ocratoxin A (OTA), citrinin (CIT), T2 toxin (T2) and/or zearalenone (ZEA). A total of 312 analyses were performed: 92 for AF; 45 for OTA; 43 for CIT; 83 for T2; and 49 for ZEA. A total of 57.0 % of the samples contained detectable quantities of at least one of the five mycotoxins, 11.2 % of these had mycotoxin concentrations higher than the maximum concentrations established in current regulations. Ocratoxin A had the highest incidence, with concentrations ranging from 1 to 353 $\mu\text{g kg}^{-1}$, presence in 15 of the 45 analyzed samples, of which 60 % had an OTA concentration above established maximum concentrations. ascomicotoxins (AF, OTA and CIT) had a natural occurrence of 51.1 %, generally less abundant than the 65.2 % of fusariotoxins (T2 and ZEA). None of the analyzed samples from 2003 had mycotoxins concentrations that would cause mortality in animal populations, though even low concentration mycotoxins contaminations can cause drastic reductions in farm productivity parameters.

KEY WORDS: Mycotoxins, Grains, Feed, Mexico.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por diferentes géneros de hongos⁽¹⁾. No obstante que se conocen entre 300 y 400 micotoxinas, aquéllas que son más importantes por

Mycotoxins are secondary metabolites produced by different fungus genera⁽¹⁾. Between 300 and 400 mycotoxins are known though only a few occur in significant numbers and are toxic in livestock:

Recibido el 26 de mayo de 2005 y aceptado para su publicación el 20 de julio de 2005.

^a Laboratorio de Biogeoquímica, FES-Iztacala, UNAM. Av. de los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, 54090 Tlalnepantla Edo. de Mex.. Tel. 5 623 12 26, Fax 5 623 12 25. cmflores@servidor.unam.mx. Correspondencia al primer autor.

^b Laboratorio de Fisiología Vegetal, FES-Iztacala, UNAM.

su ocurrencia y toxicidad en especies de producción pecuaria son: aflatoxinas (AF), ocratoxina A (OTA), citrinina (CIT), deoxinivalenol (DON), zearalenona (ZEA), toxina T2 (T2) y otros tricotecenos^(2,3).

Los efectos deletéreos de las micotoxinas se pueden observar a diferentes niveles del metabolismo y la fisiología de los animales; por ejemplo AF interfiere con la replicación de ácidos nucleicos⁽²⁾, T2 inhibe la síntesis de proteínas⁽⁴⁾, OTA es considerada como nefrotóxica^(5,6,7) y ZEA actúa como un estrógeno potente⁽⁸⁾. No obstante que cada micotoxina tiene un efecto metabólico específico; todas ellas disminuyen la respuesta del sistema inmune⁽⁹⁾.

La ingestión de micotoxinas reduce la productividad de especies pecuarias y disminuye la calidad sanitaria de productos derivados^(10,11). Como consecuencia, se han estimado pérdidas económicas de cerca de 140 millones de dólares en 1986, sólo por la disminución en peso de pollos de engorda que consumieron niveles bajos de micotoxinas en Estados Unidos⁽¹²⁾. Asimismo, se han reportado pérdidas económicas en países de Asia, Europa y Sudamérica⁽¹³⁾.

Diferentes estudios han mostrado contaminaciones importantes con micotoxinas en países desarrollados y en vías de desarrollo⁽¹⁴⁻¹⁸⁾. En revisiones recientes se ha concluido que cerca del 25 % de las cosechas de granos en el mundo se encuentran contaminadas con micotoxinas⁽¹⁹⁾. En particular, en México se ha reportado la presencia natural de micotoxinas durante los años 1977-1980⁽²⁰⁾. Con respecto a AF, su ocurrencia en maíz se ha estimado en el 90 % de incidencia en un rango de 2.5 a 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ⁽²¹⁾, y un promedio de 66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en 42 muestras analizadas⁽²²⁾. En estudios recientes, se ha documentado la presencia de AF en alimento balanceado de especies domésticas en 17.1 % de las muestras analizadas⁽²³⁾. Por otro lado, con respecto a fusariotoxinas, en el noreste de México se han aislado cepas de *Fusarium moniliforme*⁽²⁴⁾. Adicionalmente, fumonisina B1, fue detectada en productos derivados de maíz a una concentración de 790 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ⁽²⁵⁾. Finalmente, en un estudio realizado en México en los años 1999-2001, se

aflatoxins (AF); ocratoxina A (OTA); citrinina (CIT); deoxinivalenol (DON); zearalenona (ZEA); T2 toxina (T2) and other trichothecenes^(2,3).

Mycotoxins' negative effects in animals can be observed at different metabolic and physiological levels. For example, AF interferes in nucleic acid replication⁽²⁾, T2 inhibits protein synthesis⁽⁴⁾, OTA is considered a nephrotoxin^(5,6,7) and ZEA a potent estrogen⁽⁸⁾. In addition to the specific metabolic effects of each mycotoxin, all diminish immune system response⁽⁹⁾.

Ingestion of mycotoxins reduces livestock productivity and lowers the health quality of derived products^(10,11). Consequent estimated economic losses of nearly US\$140 million were reported in the United States for 1986 just from weight loss in broilers that consumed low concentrations of mycotoxins⁽¹²⁾. Economic losses have also been reported in Asian, European and South American countries⁽¹³⁾.

Significant concentrations of mycotoxin contamination have been reported in developed and developing countries alike^(14,15,16,17,18). Recent reviews have determined that almost 25 % of grain harvests worldwide have mycotoxin contamination⁽¹⁹⁾, and natural mycotoxin contamination has been reported in Mexico for the period 1977-1980⁽²⁰⁾. Aflatoxin has been reported in maize at an estimated rate of 90 % within a range of 2.5 to 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ⁽²¹⁾, and an average of 66 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in 42 analyzed samples⁽²²⁾. It has also recently been documented in 17.1 % of analyzed domestic livestock feed samples⁽²³⁾. Strains of *Fusarium moniliforme*, the source of fusariotoxins, have been identified in northeast Mexico⁽²⁴⁾, and fumonisin B1 has been detected in maize products at a concentration of 790 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ⁽²⁵⁾. On a more general level, 65.0 % of analyzed samples in a study in Mexico done from 1999 to 2001 had detectable mycotoxin concentrations⁽²⁶⁾.

In an effort to understand the natural occurrence of mycotoxins in grains and feed used for poultry, swine and cattle production in Mexico, the present

observa que el 65.0% de las muestras analizadas presentaron alguna cantidad detectable de micotoxinas⁽²⁶⁾.

Con el propósito de reconocer la ocurrencia natural de micotoxinas en México en granos y alimentos balanceados empleados en la producción de aves, cerdos y ganado, el presente trabajo describe los resultados de los análisis de micotoxinas realizados en el año 2003.

Durante el año del 2003, muestras de granos, alimento balanceado y materias primas se obtuvieron de compañías productoras de aves, cerdos, ganado y alimento balanceado dentro del programa de servicio de análisis de micotoxinas de la FES-Iztacala, UNAM. En todos los casos, las compañías realizaron el muestreo primario; estas muestras fueron homogenizadas y cuarteadas para obtener una muestra de laboratorio de 1 kg. Las micotoxinas analizadas en cada muestra dependían de la producción específica de la compañía, y se realizaron a solicitud de los productores, analizando entre 1 y 5 micotoxinas; ascomicotoxinas (AF, OTA y CIT) y fusariotoxinas (T2 y ZEA). Los métodos empleados en el análisis fueron Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en ingles) y ELISA.

Para la extracción de AF⁽¹⁾, 5 g de la muestra molida fueron extraídos con 25 ml de acetona-agua (85:15 v/v) en agitación durante 10 min, posteriormente fueron filtrados a través de papel Whatman #1 y evaporadas a sequedad. El residuo fue resuspendido en 3 ml de la fase móvil metanol:acetonitrilo:agua (25:25:50 v/v). Para la extracción de OTA y CIT⁽²⁷⁾, 5 g de muestra molida fueron extraídos con 25 ml de acetonitrilo-agua (conteniendo 4 % KCl y 0.4 % de H₂SO₄) (90:10) en agitación durante 10 min, posteriormente fueron filtrados a través de papel Whatman #1 y se adicionaron 25 ml agua al 5% de bicarbonato de sodio al filtrado. Posteriormente, OTA y CIT fueron extraídas con 15 ml de CHCl₃; la fase fue acidificada a pH 1.5 con HCl y extraída con 15 ml de CHCl₃. El extracto clorofórmico fue evaporado a sequedad, resuspendido en 500 µl de fase la fase móvil H₃PO₄ 0.25N:acetonitrilo (50:50 v/v). Para

study aim was to describe this occurrence during a single year, 2003.

During 2003, grain, feed and raw material samples were obtained from poultry-, swine-, cattle- and feed-producing companies forming part of the mycotoxin analysis service program of the FES-Iztacala, UNAM. The companies took the primary samples in all cases. These samples were homogenized and divided to produce a 1 kg sample. The mycotoxins analyzed in each sample depended on the source company's production type and were done in response to producer requests. Analyses were done of between 1 and 5 mycotoxins, including ascomycotoxins (AF, OTA and CIT) and fusariotoxins (T2 and ZEA). Samples were analyzed using HPLC and ELISA.

Extraction of AF⁽¹⁾ was done with 5 g of ground sample extracted with 25 ml acetone:water (85:15 v/v) stirred for 10 min. This was filtered through Whatman #1 filter paper, the filtrate evaporated until dry, and then resuspended in 3 ml of mobile phase methanol:acetonitrile:water (25:25:50 v/v).

Extraction of OTA and CIT⁽²⁷⁾ was done with 5 g of ground sample extracted with 25 ml acetonitrile:water (containing 4% KCl and 0.4% H₂SO₄) (90:10) stirred for 10 min. This was filtered through Whatman #1 filter paper, and 25 ml of water with 5% sodium bicarbonate added to the filtrate. Then, OTA and CIT were extracted with 15 ml CHCl₃, the phase acidified to pH 1.5 with HC 1 and extracted with 15 ml CHCl₃. The chloroformic extract was evaporated until dry and resuspended in 500 µl of mobile phase H₃PO₄ 0.25N:acetonitrile (50:50 v/v).

Extraction of ZEA⁽²⁸⁾ was done with 5 g of ground sample extracted with 25 ml acetonitrile:water (90:10 v/v) stirred for 10 min. This was filtered through Whatman #1 filter paper, the filtrate evaporated until dry and the residue resuspended in 3 ml of mobile phase methanol:acetic acid 0.1% (62:38 v/v).

The HPLC was done following previously reported methods for AF⁽²⁹⁾, OTA and CIT⁽³⁰⁾, and ZEA⁽¹⁾.

la extracción de ZEA⁽²⁸⁾, 10 g de muestra molida fueron extraídos con 25 ml de acetonitrilo-agua (90:10 v/v) en agitación durante 10 min, posteriormente fueron filtrados en papel Whatman #1 y evaporados a sequedad. El residuo fue resuspendido en 3 ml de la fase móvil metanol:ácido acético 0.1% (62:38 v/v).

El análisis de HPLC se llevó a cabo de acuerdo con los métodos reportados previamente, AF⁽²⁹⁾, OTA y CIT⁽³⁰⁾ y ZEA⁽¹⁾. El análisis fue desarrollado usando fase reversa y detector de fluorescencia en un equipo Hewlett Packard HPLC Serie 1100 y un detector de fluorescencia Perkin Elmer LS50B.

Los análisis de ELISA fueron llevados a cabo empleando kits de AgriScreen®. En todos los casos, los procedimientos de extracción, incubación y cuantificación se desarrollaron de acuerdo a las instrucciones de cada kit de análisis de micotoxinas. cinco gramos de muestra molida fueron extraídos con 25 ml de metanol-agua (70:30 v/v) para el análisis de AF, T2 y ZEA; y 12.5 ml de la misma solución para la extracción de OTA. Los extractos fueron agitados durante 5 min en agitador orbital a 200 rpm, posteriormente la solución fue filtrada en papel Whatman # 1 y usada para el análisis de ELISA.

Los resultados de contenido de micotoxinas fueron comparados con respecto de dos regulaciones de niveles de micotoxinas, el Proyecto de Norma

Analysis was done in reverse phase (Hewlett Packard HPLC Series 1100) with a fluorescence detector (Perkin Elmer LS50B).

The ELISA was done with AgriScreen® kits. Extraction, incubation and quantification were done following the manufacturer instructions of each mycotoxin analysis kit. For the AF, T2 and ZEA analyses, 5 g of sample were extracted with 25 ml methanol:water (70:30 v/v), while for OTA analysis 12.5 ml of the same solution was used. Extracts were stirred for 5 min in an orbital agitator at 200 rpm, filtered through Whatman #1 filter paper and then analyzed with ELISA.

The mycotoxin content results for this study were compared to two mycotoxin concentration regulations: the regulatory project “Niveles máximos de micotoxinas en granos y alimento terminado usados en la producción de aves en México” (Maximum mycotoxin levels in grains and finished feed used for poultry production in Mexico)⁽³¹⁾; and the maximum mycotoxin levels established by the Mercosur⁽³²⁾. The maximum legally-established concentrations used as references were: 20 µg kg⁻¹ AF; 10 µg kg⁻¹ OTA; 1000 µg kg⁻¹ CIT; 100 µg kg⁻¹ T2; and 150 µg kg⁻¹ ZEA.

Mycotoxins produced by Ascomycetes

Ascomycotoxin (AF, OTA and CIT) concentrations (Table 1) showed a high incidence (51.1 %) of at least one of the three ascomycotoxins, although

Cuadro 1. Ocurrencia natural de micotoxinas producidas por Ascomicetos en alimento balanceado y granos

Table 1. Natural occurrence of mycotoxins produced by ascomycetes in feed and grains

Type	Aflatoxin B1				Ocratoxin A				Citrinin			
	Range	Ocurr.	Mean	%P	Range	Ocurr.	Mean	%P	Range	Ocurr.	Mean	%P
Feed	5-61	16/21	15.32	18.7	0-9	1/6	9.0	0.0	8-90	4/5	39.45	0.0
Gluten	8-77	5/6	31.42	60.0	ND	0/2	-	0.0	0-44	1/2	44.23	0.0
Maize	3-10	7/9	5.78	0.0	ND	0/2	-	0.0	1-3	2/2	2.13	0.0
Sorghum	2-35	32/56	9.55	3.1	1-352	14/35	56.45	57.0	7-60	10/34	26.00	0.0

Range = mycotoxin concentration range, µg kg⁻¹; Ocurr = occurrence, positive samples/ total samples; Mean = mean concentration of positive samples µg kg⁻¹; %P = percentage positive samples with concentration above established maximum levels; ND = No detectable mycotoxin.

“Niveles máximos de micotoxinas en granos y alimento terminado usados en la producción de aves en México”⁽³¹⁾ y los niveles máximos de micotoxinas establecidos por el Mercosur⁽³²⁾. Los valores de regulación máxima usados como referencia fueron: 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ AF, 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ OTA, 1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ CIT, 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ T2 y 150 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ZEA.

Micotoxinas producidas por Ascomicetos

Los niveles de ascomicotoxinas (AF, OTA y CIT) registrados en el presente reporte (Cuadro 1) muestran alta incidencia de alguna ascomicotoxina (51.1 %), no obstante, la proporción de muestras con niveles mayores a los establecidos por las normas, fue de 17.4 %.

Con respecto a la presencia natural de AF, el valor más alto fue registrado en una muestra de gluten de maíz con un valor de 77 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de AF. Adicionalmente, el gluten de maíz presentó la mayor incidencia de AF, registrando contaminación por arriba de las normas en 60 % de las muestras analizadas. Una situación similar de alta incidencia fue observada en las muestras de alimento, las cuales registraron un máximo de 61 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de AF y niveles arriba de la norma en 18.7 %. Por otro lado, los niveles de contaminación de AF encontrados en granos, son en general menores en rango y porcentaje de muestras por arriba de las normas, que los del alimento balanceado. El sorgo presentó contaminación de AF por arriba de la norma en 3.1 %, en tanto que en el maíz no se presentaron niveles por arriba del 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Adicionalmente, los niveles máximos de AF en sorgo y alimento fueron 35 $\mu\text{g kg}^{-1}$ y 61 $\mu\text{g kg}^{-1}$ respectivamente.

Por otro lado, llaman la atención los niveles elevados de contaminación con OTA (Cuadro 1), ya que el 60 % de las muestras contaminadas presenta niveles por arriba de las normas. El sorgo fue la muestra que registró los niveles más altos de contaminación con un máximo de 352 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Adicionalmente, el sorgo presentó contaminación por arriba de la norma en 57 % de las muestras contaminadas con OTA. Por otro lado, los niveles

only 17.4 % of the samples had concentrations above established maximum concentrations.

The highest value for naturally-occurring AF was in a maize gluten sample (77 $\mu\text{g kg}^{-1}$ AF). Maize gluten also had the highest AF incidence, with contamination of over 60 % in the analyzed samples. A similar incidence was observed in feed samples with a maximum value of 61 $\mu\text{g kg}^{-1}$ AF, and 18.7 % of samples having concentrations above established maximums. Grains had generally lower AF concentration ranges and fewer samples above established maximum concentrations than did the feed samples. For example, sorghum had a maximum AF concentration of 35 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and only 3.1 % of samples above established maximums, while maize had no AF concentrations above 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Contamination levels of OTA were quite high (Table 1) with 60 % of contaminated samples having concentrations above established maximums. Sorghum had the highest OTA concentrations (352 $\mu\text{g kg}^{-1}$), and contamination above established maximums in 57 % of samples. In contrast, levels in feed were low, and no OTA was detected in maize gluten or maize.

Of the 43 samples analyzed for CIT content (Table 1) none had concentrations above established maximums, although CIT incidence was detectable in 39.5 % of samples. The highest value (90 $\mu\text{g kg}^{-1}$ CIT) was recorded in a feed sample.

Mycotoxins produced by Fusarium

The natural presence of fusariotoxins (T2 and ZEA) (Table 2) was higher than for ascomycotoxins. Detectable fusariotoxin concentrations occurred in 65.2 % of the analyzed samples and 4.6 % of the contaminated samples had concentrations above established maximums.

Only the feeds and maize had T2 concentrations above established maximum concentrations, with the highest concentration (109 $\mu\text{g kg}^{-1}$) observed in a maize sample. The feeds generally had a higher T2 concentration range and incidence percentage;

Cuadro 2. Ocurrencia natural de micotoxinas producidas por *Fusarium* en alimento balanceado y granosTable 2. Natural occurrence of mycotoxins produced by *Fusarium* in feed and grains

Type	T2 Toxin				Zearalenone			
	Range	Ocurr.	Mean	%P	Range	Ocurr.	Mean	%P
Feed	2-110	12/19	41.60	8.3	12-122	4/5	54.04	25.0
Silage	0-81	1/1	81.22	0.0	0-95	1/1	95.52	0.0
Gluten	39-62	2/4	50.10	0.0	-	-	-	-
Maize	45-109	7/8	74.47	16.6	57-120	6/7	88.81	16.6
Sorghum	9-94	33/51	41.16	0.0	7-94	22/37	36.43	0.0

Range = $\mu\text{g kg}^{-1}$; Ocurr = occurrence, positive samples/ total samples; Mean = $\mu\text{g kg}^{-1}$; %P = percentage of positive samples with concentration above established maximum levels.

en alimento fueron bajos y en los casos de gluten de maíz y maíz no fue detectada la presencia de esta micotoxina.

Los resultados correspondientes a los análisis del contenido de CIT (Cuadro 1), muestran que de 43 muestras analizadas, ninguna de ellas presentó niveles por arriba de la norma para esta micotoxina, sin embargo, la incidencia de CIT en alguna cantidad detectable fue de 39.5 %; en particular, una muestra de alimento presentó el valor más alto con $90 \mu\text{g kg}^{-1}$ de CIT.

Micotoxinas producidas por Fusarium

La presencia natural de fusariotoxinas (T2 y ZEA) se muestran en el Cuadro 2. Se observa un porcentaje de incidencia mayor al observado con ascomicotoxinas, mostrando cantidades detectables de fusariotoxinas en el 65.2 % de las muestras analizadas y 4.6 % de muestras contaminadas con niveles por arriba de la norma para este tipo de micotoxinas.

Con respecto a la presencia natural de T2, sólo los alimentos y maíz muestran niveles por arriba de la norma, detectándose el valor máximo en una muestra de maíz con $109 \mu\text{g kg}^{-1}$. Los datos indican que en general los niveles de T2 son mayores en rango y porcentaje de incidencia en alimento balanceado. El alimento presentó contaminación con toxina T2 por arriba de la norma en 1 de 12

for example, one out of every twelve contaminated feed samples had T2 concentrations above maximum concentrations, while none of the sorghum samples surpassed maximum concentrations.

Concentrations of ZEA were generally high in the feeds and grains (Table 2). The highest ZEA value ($122 \mu\text{g kg}^{-1}$) was recorded in a feed sample, and overall the highest incidences occurred in the feeds (4 of every 5 samples) and maize (6 of every 7 samples).

Natural presence of mycotoxins in 2003

Among all the analyzed samples the mycotoxin with the highest number of samples contaminated with concentrations above established maximums was OTA, with 60 % (Table 3). The overall incidence for AF was 11.7 %, that for T2 was 3.7 %, for ZEA it was 6.2 % and CIT did not surpass maximum concentrations in any sample.

Natural presence of mycotoxins in grains and feeds is a critical problem in poultry, swine and cattle production. The present results indicate that 57.9 % of the analyzed samples had detectable levels of mycotoxins. This is higher than incidences reported for Brazil (12.8 %)⁽¹⁸⁾, Venezuela (16.6 %)⁽³³⁾, Argentina (48 %)⁽¹⁹⁾ and India⁽³⁴⁾, but lower than that reported for Costa Rica (80 %)⁽³⁵⁾. This level is comparable, however, to the 65.1 % reported for grain and feed samples used in livestock production

muestras contaminadas, mientras que en sorgo ninguna de las muestras contaminadas presentó niveles por arriba de la norma.

Los valores detectados de ZEA muestran incidencias de contaminación en alimento balanceado y granos (Cuadro 2). El valor más alto de ZEA con $122 \mu\text{g kg}^{-1}$ fue registrado en una muestra de alimento, mientras que los tipos de muestras que presentaron las mayores incidencias durante el estudio fueron el alimento y el maíz, registrando contaminación en 4 de 5 muestras y en 6 de 7 muestras respectivamente.

Presencia natural de micotoxinas en el 2003

El Cuadro 3 muestra la presencia natural de cada micotoxina en todas las muestras analizadas durante el estudio. La micotoxina que mostró la mayor proporción de muestras contaminadas con niveles por arriba de las normas fue OTA con 60 %. En contraste, CIT no registró valores por arriba de las normas. Adicionalmente, el porcentaje de contaminación por arriba de la norma para AF, T2 y ZEA fue 11.7, 3.7 y 6.2 %, respectivamente.

La presencia natural de micotoxinas en granos y alimento balanceado representa un problema crítico en la producción de aves, cerdos y ganado. El presente trabajo indica que el 57.0 % de las muestras analizadas contienen alguna cantidad detectable de micotoxinas, porcentaje mayor al reportado en Brasil con 12.8 %⁽¹⁸⁾, Venezuela 16.6 %⁽³³⁾, Argentina 48 %⁽¹⁹⁾ e India⁽³⁴⁾; y menor que el reportado en Costa Rica con 80 % de contaminación en las muestras⁽³⁵⁾. Adicionalmente, es comparable con el valor de 65.1 % detectado en muestras de granos y alimento usados en producción pecuaria en México durante los años de 1999-2001⁽²⁶⁾; No obstante del valor elevado de incidencia, la proporción de muestras por arriba de las normas es significativamente menor (11.23 %); sin embargo, aún en niveles bajos las micotoxinas pueden afectar los parámetros productivos de las especies, debido a las constantes mejoras en líneas genéticas y nutrición, las cuales incrementan las tasas de consumo de alimento en los animales,

Cuadro 3. Presencia natural de micotoxinas

Table 3. Overall natural presence of mycotoxins

Mycotoxin	Range	Ocurr.	Mean	%P
Aflatoxin B1	2-77	60/92	12.47	11.6
Ocratoxin A	1-353	15/45	54.49	60.0
Citrinin	1-90	17/43	27.20	0.0
T2 Toxin	2-110	54/83	45.91	3.7
Zearalenone	7-122	32/49	48.45	6.25

Range = $\mu\text{g kg}^{-1}$; Ocurr = occurrence, positive samples/ total samples; Mean = $\mu\text{g kg}^{-1}$; %P = percentage of positive samples with concentration above established maximum levels.

in Mexico from 1999 to 2001⁽²⁶⁾. Though mycotoxin incidence was relatively high, the proportion of samples with concentrations above established maximums was much lower (11.23 %). Nonetheless, because of the increased feed intake accompanying constant improvement of genetic lines and nutrition, even very low concentrations of mycotoxins can affect productive species parameters, keeping body weight relatively unchanged.

Both the feeds and grains had high ascomycotoxin concentrations, the highest concentration being for OTA ($352 \mu\text{g kg}^{-1}$) in sorghum samples. In contrast, CIT had the lowest contamination levels in the present study, probably due to its need for high humidity for propagation and production of the strains that produce it. Overall, the ascomycotoxins were more abundant in the feeds than the grains, which is contrary to the dilution effect to be expected when grains are mixed with other raw materials. This may occur as a function of postharvest contamination with this type of fungi, as well as the growth and mycotoxin production of *Aspergillus* and *Penicillium*, both of which require large quantities of water, found only in completely balanced diets⁽³⁶⁾.

Fusariotoxin contamination was comparatively lower in the present study than ascomycotoxin contamination. This may be because the natural presence of mycotoxins produced by *Fusarium*

manteniendo los pesos corporales relativamente constantes.

Con relación a las muestras contaminadas con micotoxinas producidas por los ascomicetos, tanto el alimento balanceado como granos presentaron niveles altos, particularmente de OTA, la cual llegó a niveles de $352 \mu\text{g kg}^{-1}$ en muestras de sorgo. Por otro lado, CIT registró los niveles más bajos de contaminación en este estudio, probablemente debido a los altos requerimientos de humedad para la propagación y producción de las cepas productoras de CIT. En general, se observó que los niveles de micotoxinas producidas por ascomicetos son mayores en alimento balanceado que en granos; lo anterior en oposición al efecto de dilución que debe observarse al momento de la mezcla de granos con otras materias primas. El fenómeno descrito puede ser explicado en función de la posible contaminación poscosecha que se observa con este tipo de hongos. Adicionalmente, el crecimiento y la producción de micotoxinas en *Aspergillus* y *Penicillium*, requiere niveles altos de actividad de agua, los cuales sólo pueden ser encontrados en las dietas totalmente balanceadas⁽³⁶⁾.

Con respecto a la contaminación con fusariotoxinas, los datos muestran que los niveles de contaminación son menores que los observados con micotoxinas producidas por ascomicetos. Lo anterior podría explicarse en función de que la presencia natural de micotoxinas producidas por especies del género *Fusarium* frecuentemente es asociada con cereales que se producen en climas templados⁽³⁷⁾, dado que estos hongos requieren temperaturas bajas para la producción de micotoxinas⁽³⁸⁾.

En general, aunque la proporción de incidencia natural con alguna cantidad de micotoxinas es importante (57 %), los datos del presente trabajo indican que las muestras que presentan niveles por arriba de las regulaciones son bajos, 11.2 % de las muestras contaminadas, y 6.41 % de todas las muestras analizadas. En adición, de los 312 análisis realizados durante el período de este trabajo, no presentaron niveles de micotoxinas que puedan

genus species is frequently associated with cereals grown in temperate climates⁽³⁷⁾, since they need low temperatures for mycotoxin production⁽³⁸⁾.

Although the proportion of natural incidence of any amount of mycotoxins in the present study (57 %) was significant, the percentages of contaminated samples (11.2 %) and total analyzed samples (6.41 %) above established maximum mycotoxin concentrations were low. Finally, of the 312 analyses forming part of this study, none had mycotoxin concentrations that would lead to mortality in animal populations, though their presence at subclinical levels, and especially that of OTA, may result in pernicious drops in livestock farm production parameters.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank HELM de México S.A. for assistance with sample collection.

End of english version

causar problemas de mortalidad en las poblaciones de animales, sin embargo, la importante presencia de micotoxinas y particularmente de OTA en niveles subclínicos puede reflejarse en reducciones perniciosas en los parámetros de productividad de las granjas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a HELM de México S.A. por el apoyo en la colecta de las muestras.

LITERATURA CITADA

1. Betina V. Mycotoxins. Production, isolation, separation and purification. New York: Elsevier; 1984.

2. Betina VB. Bioactive secondary metabolite of microorganisms. In *Progress in Industrial Microbiology*. New York: Elsevier; 1994.
3. D'Mello JP, Placinta CM, Macdonald AM. *Fusarium* mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Anim Feed Sci Technol* 1999;(80):183-205.
4. Prelusky DB, Rotter BA, Rotter RG. Toxicology of mycotoxins. In: *Mycotoxins in grain, compounds other than aflatoxin*. Miller, JD, Trenholm HL editors. St. Paul, MN: Eagan Press; 1994:359-404.
5. Marquardt RR, Frohlich AA. A review of recent advances in understanding ochratoxigenesis. *J Anim Sci* 1992;(70):3968-3988.
6. Shlosberg A, Elkin N, Malkinson M, Orgad U, Hanji V, Bogin E. Severe hepatopathy in geese and broilers associated with ochratoxin in their feed. *Mycopathologia* 1997;(138):71-76.
7. Stoev SD, Vitanov S, Anguelov G, Petkova-Bocharova T, Creppy EE. Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a diet containing ochratoxin A and penicillic acid. *Vet Res Comm* 2001;(25):205-223.
8. D'Mello JPF, Porter JK, Macdonald AMC, Placinta CM. *Fusarium* mycotoxins. In: *Handbook of plant and fungal toxicants*. D'Mello JPF editor. Boca Raton, FL: CRC Press; 1994:287-301.
9. Pestika JJ, Bondy GS. Immunotoxic effects of mycotoxins. In: *Mycotoxins in grain, compounds other than aflatoxin*. Miller JD, Trenholm HL editors. St. Paul, MN: Eagan Press; 1994:359-404.
10. Rustom IYS. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem* 1997;(59):57-67.
11. Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins in humans and animals. *Toxicology* 2001;(167):101-134.
12. Palmgren MS, Hayes AW. Aflatoxins in foods. In: *Mycotoxins in food*. Krogh P. editor. London: Academic Press; 1987:65-96.
13. Vasanthi S, Bhat RV. Mycotoxins in foods-occurrence, health & economic significance & food control measures. *Ind J Med Res* 1998;(108):212-224.
14. Russell L, Cox DF, Larsen G, Bodwell K, Nelson CE. Incidence of molds and mycotoxins in commercial animal feed mills in seven midwestern states 1988-1989. *J Anim Sci* 1991;(69):5-12.
15. Ranjan KS, Sinha AK. Occurrence of mycotoxigenic fungi and mycotoxins in animal feed from Bihar, India. *J Sci Food Agric* 1991;(56):39-47.
16. Curtui V, Usleber E, Dietrich R, Lepschy J, Martbauer E. A survey on the occurrence of mycotoxins in wheat and maize from western Romania. *Mycopathologia* 1998;(143):97-103.
17. Da Silva J, Pozzi CR, Mallozzi MA, Ortega EM, Correa B. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B1 and fumonisin B1 during storage of Brazilian sorghum. *J Agric Food Chem* 2000;(48):4352-4356.
18. Dalcero A, Mangoli C, Luna M, Ancasi G, Reynoso MM, Chiacchiera S. Mycoflora and naturally mycotoxins in poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia* 1998;(141):37-43.
19. Fink-Gremmels J. Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Vet Q* 1999;(21):115-120.
20. Rosiles MR, Perez HA. General considerations of some mycotoxins present in feeds for domestic animals during years 1977 to 1980. *Vet Mex* 1981;(12):229-233.
21. Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Oldham JH. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1991;(30):403-439.
22. Carvajal M, Arroyo G. Management of aflatoxin contaminated maize in Tamaulipas, Mexico. *J Agric Food Chem* 1997;(45):1301-1305.
23. Sharma M, Marquez C. Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. *Anim Feed Sci Technol* 2001;(93):109-104.
24. Desjardins AE, Plattner RD, Nelson PE. Fumonisin production and other traits of *Fusarium moniliforme* strains from maize in northeast Mexico. *Appl Environ Microbiol* 1994;(60):1695-1697.
25. Dombrink-Kurtzman MA, Dvorak TJ. Fumonisin content in masa and tortilla from Mexico. *J Agric Food Chem* 1999;(47):622-627.
26. Flores Ortiz CM, Hernandez LB, Peñalosa I. Natural occurrence of mycotoxins in grains, raw materials and feedstuffs used in animal production in Mexico during years 1999-2001. *Mycopathologia* [In press].
27. Wilson DM. Citrinin: Analysis and occurrence. In: *Biodeterioration research 4 mycotoxins, wood decay, plant stress, biocorrosion, and general biodeterioration*. Liewellyng GC, Dashek WV, O' Rear CE editors. N. Y. and London: Ed. Plenum; 1994:65-73.
28. Visconti A, Pascale M. Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatography A* 1998;(815):133-140.
29. Elizalde-González MP, Mattusch J, Wennrich R. Stability and determination of aflatoxins by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *J Chromatography A* 1998;(828):439-444.
30. Solfrizzo M, Avanti G, Visconti A. Use of various clean-up procedures for the analysis of ochratoxin A in cereals. *J Chromatography A* 1998;(815):67-73.
31. SAGARPA. Proyecto de Norma Oficial. Límites máximos permisibles de micotoxinas en granos de cereales y alimentos balanceados para consumo de aves. 2001.
32. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Worldwide regulations for mycotoxins in 1995.
33. Medina-Martínez MS, Martínez AJ. Mold occurrence and aflatoxin B1 and fumonisin B1 determination in corn samples in Venezuela. *J Agric Food Chem* 2000;(48):2833-2836.
34. Shetty P, Bhat RV. Natural occurrence of fumonisin B1 and its co-occurrence with aflatoxin B1 in Indian sorghum, maize, and poultry feeds. *J Agric Food Chem* 1997;(45):2170-2173.

35. Mora M, Lacey J. Handling and aflatoxin contamination of white maize in Costa Rica. *Mycopathologia* 1997;(138):77-89.
36. Lacey J, Ramakrishna N, Hamer A, Magan N, Marfleet C. Grain fungi. In: *Handbook of applied micology: Foods and feeds* Arora DK, Mukerji KG, Marth EH editors. New York: Dekker; 1991.
37. Langseth W, Rundberget T. The occurrence of HT-2 and other thichotecenes in Norwegian cereals. *Mycopathologia* 1999;(147):157-165.
38. D´Mello JPF, Macdonald AMC. Mycotoxins. *Anim Feed Sci Technol* 1997;(69):155-166.