

TOXICOS QUIMICOS EN ALIMENTOS

**Avances en su identificación, previsión
y desintoxicación**

Prof. Dr. Hermann Schmidt-Hebbel

Editado por

Fundación Chile

© Dr. Hermann Schmidt-Hebbel, 1986
Inscripción NO 64.913
Derechos reservados para todos los países

Texto compuesto con matrices *Linotron Times 10/12*

Se terminó de imprimir esta 1ª edición
en los talleres de

EDITORIAL UNIVERSITARIA
San Francisco 454 - Santiago de Chile
en el mes de septiembre 1986

INDICE

| | Pág. |
|---|------|
| I. Introducción. | 7 |
| II. Aspectos generales. | 9 |
| III. Reacciones indeseables frente a la ingestión de algunos alimentos. | 14 |
| IV. Intoxicaciones debidas a alimentos con componentes naturales preformados. | 20 |
| V. Alimentos con componentes interferentes de la absorción o utilización de nutrientes. | 34 |
| VI. Alimentos que actúan como vehículos de algún tóxico químico, extraño a su composición normal. | 39 |
| VII. Sustancias tóxicas generadas en la preparación industrial y/o casera de alimentos. | 51 |
| VIII. Incompatibilidades entre alimentos y medicamentos ingeridos simultáneamente. | 59 |
| IX. Diagnóstico de intoxicaciones colectivas por alimentos. | 63 |
| X. Técnicas analíticas para la determinación de algunos tóxicos en alimentos: | 65 |
| — Hemo-aglutinina | |
| — Acido erúxico | |
| — Saxotoxina | |
| — Biotóxico del Vómito Negro | |
| — Acido fítico | |
| — Residuos de Plaguicidas | |
| — Aflatoxinas | |
| — Otras micotoxinas | |
| — Aminas biogénicas | |
| — Separaciones por gases supercríticos. | |
| Referencias. | 79 |

1. INTRODUCCION

Todas las cosas son veneno y nada es sin veneno; sólo la dosis hace que una cosa no sea veneno.

Teofrasto Bombasto Paracelso von Hohenheim (1493-1541)

En la historia de la Química hubo una época —aproximadamente entre **1530 y 1700**—, que **se** designó con el nombre de Química Médica o Yatroquímica (del griego: iatriké = arte de curar y aítros = médico).

El iniciador de esta época fue el médico, naturalista y filósofo suizo: Theophrastus Bombastus Paracelsus von Hohenheim quien reconoció - e n oposición a la “piedra filosofal” de los alquimistas— que la base de toda la terapéutica es la química, **al** crear medicamentos contra las enfermedades y que a la vez la química es la ciencia que permite explorar los procesos del organismo vivo.

Fue el mismo Paracelso el que, en la prosecución de estas ideas, formuló también la frase que encabeza estas líneas.

Es evidente el hecho que cuanto más uno penetra en el estudio y la investigación de los tóxicos, en general y de los posibles tóxicos químicos en alimentos, en particular, tanto más reconoce la veracidad de este enunciado de Paracelso.

Los avances logrados en el campo de la Ciencia y la Tecnología de los Alimentos, en los últimos tiempos, han contribuido a despertar un mayor interés en la identificación de componentes tóxicos, perjudiciales o antifisiológicos preexistentes en los alimentos y en su posible presencia o formación durante su procesamiento; a la vez **es** importante conocer las posibilidades de prevenir su formación o de proceder a su desintoxicación.

Por este motivo la problemática de este tema adquiere bastante actualidad, lo cual se refleja también en la vasta literatura especializada que existe al respecto.

Los conocimientos adquiridos por el autor a base de esta literatura en el país y en Alemania (**1985**) como asimismo un Curso de Especialización dictado sobre el tema (coordinado por el Centro de Extensión Interdisciplinaria, CENE-XI) lo han alentado para ofrecer esta publicación a los profesionales, técnicos y

estudiantes cuya actividad se relaciona en una u otra forma con el manejo de los alimentos.

Es de esperar que también esta obra —la decimasexta— publicada en el correr de los años, sobre materias relacionadas con alimentos y tóxicos logre la acogida favorable que han tenido sus publicaciones anteriores.

Me hago un deber de expresar mis agradecimientos a los profesores Luis López V. (37) y Roberto Tapia Zúñiga (36) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, a la Dra. María Isabel Vergara R. (38) del Instituto de Salud Pública y al Ing. E. Castro C. (35) de Fundación Chile, Recursos Marinos, por la gentileza de sus aportes y sugerencias acerca de las materias relacionadas con su respectiva especialidad.

A la vez reitero mis agradecimientos a la Profesora Irma Pennacchiotti M. por su eficaz colaboración, ya acostumbrada, en la revisión de las pruebas de imprenta.

Dr. Hermann Schmidt-Hebbel
Profesor titular de la Facultad de
Ciencias Químicas y Farmacéuticas,
Universidad de Chile, ex Experto en
Alimentos de FAO, OMS, UNESCO y OEA

11. ASPECTOS GENERALES

El conocimiento de los peligros inherentes a alimentos portadores de tóxicos es el mejor resguardo contra posibles daños.

Werner G. Jaffé, Caracas (1971) (40)

En realidad el antiguo término de “Bromatología” (bromatos= alimento, logos=conocimiento) más usado en el ambiente español y latinoamericano expresa con *gran* amplitud lo que *se* necesita conocer actualmente acerca de los alimentos. En efecto, su estudio no sólo incluye los componentes como tales **(16)** que encierra este complejo sistema biológico que constituye un alimento, sino también el conocimiento de su formación, metabolismo y reacciones bioquímicas posibles, a la vez que sus propiedades tecnológicas y características funcionales.

Un importante capítulo en el ámbito de estos conocimientos constituye lo que *se* ha venido en llamar, a veces, en algunas publicaciones(13) y seminarios **(14)**: “Toxicología de Alimentos”. A este respecto uno podría formularse la pregunta: ¿no encierra cierto contrasentido hablar de “toxicología”, al referirse a productos destinados a ser ingeridos por el hombre para su debida nutrición? Es que el hecho de ser ofrecidos como tales por la naturaleza no excluye, de ninguna manera, la posibilidad de la presencia de algún componente que sea tóxico, perjudicial o, al menos, interfiera la absorción o utilización de un nutriente.

Desde tiempos remotos el hombre procuró descartar empíricamente de su alimentación a sustancias perjudiciales y consumir de sus alimentos sólo lo valioso para la mantención de su organismo. Es así como, por ejemplo, en regiones tropicales, el hombre **recurrió** a las *semillas* del *sorgo* (*Sorghum vulgare*, bicolor) y a la *raíz, mondada por descascarado, de la mandioca*, cassava o yuca (*Manihot* sp.) y no a las otras partes de los respectivos vegetales que contienen compuestos cianogénicos **(34)**.

Del mismo modo, desde tiempos remotos *se* **recurrió** en nuestro país y en el Perú al consumo del tubérculo de la papa (*Solanum tuberosum*) y no a otras partes del vegetal, como los frutos. Pero así lo hizo aquel monje quien la

sembró en su convento en España, donde se intoxicaron por su alto contenido en *solanina*; mientras que unos cerdos comieron con gran provecho los “desperdicios” de los tubérculos, quedando así aclarado el error(2).

Sin embargo, las investigaciones minuciosas que suministra la ciencia actual acerca de la posibilidad de algún componente tóxico se han acrecentado sólo en la última década, en cuanto se refiere a detalles relacionados con su composición química más exacta y los mecanismos de sus efectos antifisiológicos.

A esto se agregan los conocimientos actuales de que se dispone para llegar a una desintoxicación de tales productos alimenticios, ya sea evitando desde un principio su formación (por ej. por cruzamiento genético de semillas de raps o de lupino) o procediendo a la destrucción o extracción (por ej. por disolventes o gases supercríticos) de los componentes, responsables del efecto tóxico.

Sobre “dieta sana” y “alimentación correcta” se está discutiendo y escribiendo bastante en los últimos tiempos. Lamentablemente, se suele llegar, a veces, en forma sensacionalista a expresiones de ignorancia crasa, al equiparar por ej. “química” y “veneno” como conceptos sinónimos, olvidando que todos los procesos metabólicos de la naturaleza son reacciones químicas (45). Al contrario, el conocimiento mucho más exacto, a través de la química, de lo que ingerimos, permite sin duda, evaluar y limitar mucho más los riesgos que en los tiempos pasados con sus secuelas de falta de higiene y de falsificaciones de toda índole (44). De este modo ya no rige el concepto del “alimento genuino”, tal como es ofrecido por la naturaleza, como sucedería al tratar de aplicar a los alimentos el principio filosófico de Jean Jaques Rousseau (1712-1778): “Todo lo natural es bueno para el hombre”.

La frase de Paracelso a la cual se hizo referencia anteriormente está tan vigente hoy día como hace 4 siglos cuando la pronunció (“La dosis hace el veneno”) pudiendo agregarse sólo aún el parámetro del período de tiempo durante el cual se ingiere la sustancia.

Dicho en otras palabras: no tiene tanta importancia que una sustancia sea tóxica de por sí, sino que tenga o no un efecto tóxico sobre el organismo. Frecuentemente es también de importancia establecer en qué concentración una sustancia es inofensiva, en qué dosis empieza a ser tóxica y en cuál es totalmente tóxica o aun mortal. A manera de ejemplo: para la *solanina* una concentración de 2 a 25 mg%, como se encuentra en el tubérculo normal de la papa es inofensiva; a 40 mg% ya es tóxica, mientras que más de 400 mg% ya serían de efecto mortal (13).

Gracias a los grandes avances en la sensibilidad de los actuales métodos de análisis es poco probable que se encuentren aún componentes en los alimentos que no se hayan detectado ya desde el punto de vista toxicológico, quedando sólo por investigar algunos aspectos relacionados con la causa de sus efectos

fisiológicos o de una posible interacción de los componentes, por ej. en los procesos tecnológicos tan variados a que pueden someterse los alimentos.

A continuación **se** hará referencia detallada a aquellas sustancias contenidas en los diferentes grupos de alimentos que pueden causar perjuicio o intoxicación de origen químico, pues la descripción general de las principales intoxicaciones alimentarias de origen microbiológico se ha efectuado en otra publicación del mismo autor (2).

En este contexto es también conveniente diferenciar dos términos que a menudo se confunden, reservando el nombre de “toxinas” para aquellas de origen estrictamente celular, al ser generadas por microorganismos; en oposición a los “tóxicos” o venenos para referirse a los componentes químicos contenidos e identificados en los alimentos. Así **se** habla por ej. de “micotoxinas” de los hongos filamentosos **y** de “tuyona” como componente tóxico de algunas esencias de especias. En ambos casos, una vez introducidas en el organismo, son capaces de dañar sus tejidos o alterar sus funciones fisiológicas.

Se ha ideado, en **1983**, la siguiente “*Escala de Riesgos por la Alimentación*”, en orden decreciente según la ponderación de posibles daños a la salud:

- I. Por **conducta personal** en cuanto al régimen alimentario (alimentación errónea: exceso de calorías, de sal, de alcohol, respectivamente, desnutrición).
- II. Por **microorganismos patógenos** que contaminan los alimentos (falta de higiene en su manejo).
- III. Por **sustancias tóxicas naturales**, contenidas en los alimentos.
- IV. Por **contaminantes ambientales** que afectan los alimentos (plaguicidas, metales, sales, componentes de envases).
- V. Por **aditivos alimentarios**, siempre que sean autorizados **y** estén debidamente declarados.

En oposición a esta Escala que fue establecida por Hugo Aebi (**44**) médico suizo, especializado en Nutrición, con bases científicas he aquí otra, proveniente de encuestas hechas en Alemania (15) al público consumidor, la cual **altera en forma incorrecta** el orden decreciente de riesgos, en cuanto a los mismos parámetros.

- I. Contaminantes ambientales.
- II. Aditivos alimentarios.
- III. Conducta personal.
- IV. Microorganismos patógenos.
- V. Sustancias tóxicas naturales, contenidas en los alimentos.

Esta discrepancia demuestra el desconocimiento general que existe en el público consumidor sobre la importancia relativa de los riesgos relacionados con nuestra alimentación actual.

Reproducimos a continuación una lista (15) sobre la toxicidad de algunas sustancias de diferente origen, **sólo** para dar una visión sobre la amplitud de la temática:

| SUSTANCIA | ORIGEN | DOSIS MINIMA MORTAL EN $\mu\text{g}/\text{kg}$ DE PESO CORPORAL |
|----------------------------|--------------|--|
| Toxina botulínica A | bacteriano | 0,00003 |
| Toxina tetánica | bacteriano | 0,0001 |
| Toxina diftérica | bacteriano | 0,3 |
| Dioxina (TCDD) | químico | 1 |
| Saxitoxina | moluscos | 9 |
| Tetraodontoxina | peces | 8-20 |
| Curare | vegetal | 500 |
| Estricnina | vegetal | 500 |
| Muscarina | hongo tóxico | 1.100 |
| Cianuro de sodio | químico | 10.000 |

Mientras que unos **40 años** atrás, concentraciones de décimas de por miles eran consideradas prácticamente equivalentes a “cero” la sensibilidad de los actuales métodos analíticos ha penetrado a límites, a veces, difíciles de imaginar.

Así, mientras la expresión en porcentajes (%) es usual a nivel bancario, tributario y legal también el término “por mil” es conocido por el público, en general, por ej. en la alcoholemia, con respecto a la capacidad para manejar vehículos.

Ya la expresión de “partes por millón (ppm) o mg/kg es habitual por ej. en los valores límites de los **CAMP** (Condiciones Ambientales Máximas Permisibles) en los lugares de trabajo. Dentro de este margen la dosis mínima mortal de **5 mg/kg** de peso corporal, ingerida a través de la vía digestiva, es considerada como la característica de sustancias altamente tóxicas (15).

Concentraciones de “partes por billón” (ppb) o $\mu\text{g}/\text{kg}$ se mencionarán más adelante por ej. en relación con los hidrocarburos policíclicos aromáticos y se han ilustrado con la presencia de un granito de sal en el agua que llena una piscina de dimensiones olímpicas.

Ya se están manejando concentraciones en “partes por trillón” (ppt) o nanogramos por kg; se ha comparado con la detección de un solo *grano* de centeno en 100.000 toneladas de trigo (15).

Aun se han establecido ya las unidades de concentración en “partes por cuadrillón” (ppq) o picogramos por kg; y en “partes por quintillón” (ppqt) o femtogramos por kg.

111. REACCIONES INDESEABLES FRENTE A LA INGESTION DE ALGUNOS ALIMENTOS

Desde el momento en que el *verdadero origen de los alimentos*, provenientes ya sea del reino animal o vegetal, lo constituye el medio ambiente inmediato que los rodea, los alimentos representan, junto al **aire**, agua y suelo, también *parámetros ecológicos*. Como tales, los alimentos pueden actuar como *vehículos* de muchos grupos de compuestos químicos que son causantes potenciales de intoxicaciones alimentarias.

1. Antes de considerar las diferentes intoxicaciones propiamente dichas, es conveniente hacer referencia a ciertas *reacciones indeseables* de mayor o menor toxicidad que pueden generarse en el organismo en diferentes circunstancias o *épocas* constituyendo las llamadas *pseudo-intoxicaciones*, *intolerancias* y *repugnancias*, como sucede en los siguientes casos:

1.1. *Dietotóxicos*, causados por un desequilibrio nutritivo. **Así**, la falta del suministro requerido de tiamina puede producir una alteración en la combustión normal de los glúcidos, acumulándose productos residuales como el ácido pirúvico.

1.2. *Alteraciones en la flora intestinal normal*, que puede volverse patógena en ciertas épocas o circunstancias o por la presencia de residuos de antibióticos, con formación de microorganismos resistentes.

1.3. *Fenómenos psíquicos*, que pueden generar *intolerancias colectivas* como la sugestión masiva entre personas que viven juntas (en pensiones y cuarteles).

2. *Susceptibilidades individuales frente a determinados alimentos*, que comprenden los siguientes casos:

2.1. **Trastornos** debido a la *edad* como lo son las intolerancias por insuficiencias del sistema digestivo de *ancianos* y en los *lactantes* frente a ciertas comidas que son normales para el adulto promedio, como la causada por insuficiencia de lactasa intestinal.

2.2. Trastornos en presencia de *enfermedades* como los pueden causar azúcar en la diabetes, carne en enfermedades renales, leche y huevo en afecciones biliares.

2.3. Fuera de las susceptibilidades de carácter *hereditario* a causa de defectos de orden metabólico, existen todavía otras *circunstancias* y *condiciones* que pueden influir en el posible efecto perjudicial o tóxico de una cierta sustancia. En este contexto deben mencionarse especialmente los casos de “*grupos vulnerables*” de una población como lo son: enfermos, convalecientes, malnutridos, embarazadas, nodrizas, personas sometidas a un *stress* fisiológico y aún una posible acción conjunta o sinérgica de dos o más factores tóxicos.

3. intolerancias de ciertos alimentos por *acciones alérgicas*.

3.1. Existen alimentos que no contienen sustancias tóxicas propiamente dichas **pero** que pueden ejercer un efecto perjudicial más o menos grave en algunas personas, capaces de generar *anticuerpos* específicos contra ciertos componentes de alimentos que actúan entonces como *antígenos*.

Sobre todo en alimentos de naturaleza *proteica* se pueden crear entonces en ciertos individuos, como respuesta, anticuerpos que no neutralizan el antígeno sino que causan una sensibilidad exagerada o anafilaxia (en los casos más graves). Esta respuesta alterada anormal se califica como *alergia*, constituyendo el *antígeno* el llamado *alérgeno* y el anticuerpo específico que genera, suele llamarse *reagína (1)*.

3.2. En el caso de las *proteínas de origen alimentario*, habitualmente son desdobladas casi totalmente en derivados proteicos no alérgicos y sólo aquella fracción proteica que escapa a la digestión enzimática logra pasar la barrera intestinal y a provocar la respuesta inmunológica. El antígeno que penetra a través de la mucosa intestinal estimula entonces las células productoras de anticuerpos, llamándose *linfoquinas* a aquéllos generados por las células plasmáticas del sistema linfático y que pasan, posteriormente, a la circulación sanguínea para alcanzar los respectivos órganos de choque. ~~Esta~~ respuesta de antígeno-anticuerpoes heterogénea pues pueden formarse anticuerpos específicos de diferentes clases de inmunoglobulinas. En esta interacción de antígeno, anticuerpo y células (reacción citotóxica) se liberan, además, moléculas mediadoras de *otras* sustancias como la *histamina*, considerada como especialmente responsable de la alergia cutánea.

3.3. La alergia se manifiesta entonces por una *sintomatología* que depende del órgano de choque, de acuerdo con la susceptibilidad del individuo, influyendo parámetros como raza, sexo, edad, tiempo de exposición, factores hereditarios y psicosomáticos, como miedo, ansiedad y *stress*. Los niños son más propensos

a generar anticuerpos frente a antígenos, por ingerir más proteínas en relación a su peso corporal y por una mayor permeabilidad intestinal.

Si los alérgenos son introducidos a través de los alimentos, los cuadros sintomáticos pueden afectar los siguientes órganos, que son responsables de los respectivos síntomas:

- piel: urticaria, prurito (picazón), eczema, edema;
- vías respiratorias: asma bronquial, rinitis;
- mucosa bucal: estomatitis, inflamación de encías;
- mucosa gastro-intestinal: inflamación, cólicos, diarreas, hemorragias;
- sistema nervioso central: jaquecas, convulsiones;
- sistema circulatorio y renal.

La gravedad de los síntomas depende del grado de sensibilización del individuo y del órgano afectado. Además, en contraste con otros tóxicos, la intensidad de la reacción lleva poca relación con la cantidad ingerida del alimento causante.

Por otra parte, la absorción de antígenos desde los alimentos es favorecida por una hiperalimentación y la acción de excitantes como las especias, la cafeína y el alcohol.

3.4. Entre los alimentos que actúan como alérgenos en personas sensibles están los siguientes:

- leche, por sus proteínas: lactoalbúmina y lactoglobulina;
- pescados, mariscos y quesos;
- huevos, por las proteínas de su clara y, frecuentemente, si las gallinas han sido alimentadas con harina de pescado;
- cereales y derivados por sus prolaminas (enf. celiaca y sprue);
- miel, por los alérgenos transportados por el polen;
- frutas (frutillas, frambuesas, piñas), verduras y leguminosas;
- aditivos, como colorantes (tartracina, amarillo crepúsculo y aun colorantes naturales como rocú) o antisépticos, contenidos en los alimentos.

En este contexto muchos aditivos tienen un peso molecular inferior a 500, el cual es considerado generalmente como nivel crítico requerido para generar una respuesta inmunológica con formación de anticuerpos. Sin embargo, H. Typhonas (7) admite que algunos compuestos químicos, aún de bajo peso molecular con antibióticos y pesticidas pueden formar con proteínas, presentes en el organismo, un complejo llamado *hapteno* el cual puede estimular la formación de anticuerpos.

3.5. La *investigación* de las acciones alérgicas causadas por alimentos se dificulta, tanto por la naturaleza tan diferenciada de los síntomas como por el tiempo muy variable entre su aparición y la ingestión del alimento causante.

Además, la acción del calor (por cocción, **asado**, tostación y panificación) y los procesos enzimáticos, como tienen lugar, por ejemplo, en la elaboración de quesos y yoghurt disminuyen **su** efecto antigénico, por la modificación de la estructura coloidal de **sus** moléculas proteicas.

3.5.1. Se puede investigar un posible efecto alergénico de alimentos en el hombre por el **test intradérmico**, que consiste en tratar la piel escarificada (con ligeras incisiones) por frotamiento con diversas diluciones de antígenos puros que están en sospecha; **se** observa entonces si aparece una reacción de inflamación. **Así se** puede determinar también la concentración mínima del alérgeno que provoca una reacción positiva en la piel.

Este test **se** puede aplicar en casos de personas de sensibilidad demasiado intensa frente a ciertos antígenos por el posible shock anafiláctico al cual pueden exponerse.

3.5.2. Por otra parte, el **test provocativo sublingual (7)** consiste en colocar 1 ml de una dilución acuosa del compuesto químico o aditivo, sospechoso de causar alergia, debajo de la lengua.

Después de **20 min se** examina, si aparecen clínicamente síntomas de sensibilización alérgica como hinchazón de la lengua, edemas, prurito, urticaria o espasmo bronquial. También se puede estudiar el efecto gastrointestinal producido por la ingestión de la sustancia sospechosa, administrada en cápsula gelatinosa.

3.5.3. Un **test citotóxico** se basa en una incubación del suero del paciente con un extracto del alimento en sospecha y, separadamente, con una suspensión de leucocitos y de hematíes. Los casos positivos **se** manifiestan por una disminución y deformación de los leucocitos (especialmente los neutrofilos), respectivamente, una hemólisis de los eritrocitos **(7)**.

3.5.4. Se dispone actualmente también de tests más sofisticados, como el Test Radio-alérgeno-absorbente Rast **(7)** en que se fijan los alérgenos en forma covalente a un soporte insoluble constituido por un disco de papel filtro y luego **se** incuban con el suero del paciente. Si en el suero están presentes anticuerpos de inmunoglobulinas (IgE) y se han fijado en el disco pueden ser detectados por el suero de cabra anti-humano, marcado con yodo radiactivo (**I^{125}**). Se determina el conteo por minuto y los resultados **se** expresan en relación con aquéllos obtenidos con disco de control. Estos tests exigen una extracción y purificación previa para aislar el alérgeno por procedimientos de ultracentrifugación, electroferesis, cromatografía y filtración sobre gel. **De** este modo, se logró detectar los anticuerpos específicos como la inmunoglobulina IgE en el suero de obreros que inhalaban polvo de café durante su procesamiento y envasado.

3.5.5. Por la compleja composición química de los alimentos, las reacciones bioquímicas de diversa índole que pueden generar en el organismo, con formación de diferentes derivados del alérgeno original hacen difícil un posible tratamiento de desensibilización específica como suele aplicarse contra ciertos alérgenos de origen no alimentario.

4. Fenómenos de *repugnancia* frente a tal o cual alimento pueden ser de carácter *personal*, relacionándose con la individualidad del metabolismo, los nervios gustativos o reacciones psicológicas; o *colectivo* cuando abarca poblaciones enteras. Es así que europeos y poblaciones relacionadas rechazan carnes de perros, gatos, ratas, serpientes, gusanos y hormigas, mientras que estos últimos son ingeridos por poblaciones indígenas de África y Australia. Esta repugnancia no se debe a su posible toxicidad y, en circunstancias especiales de escasez de alimentos, pueden ser vencidas por la sensación de hambre (sitio de París en 1870 y guerra en Biafra).

Las causas de este rechazo deben buscarse en circunstancias o *tabúes* culturales, religiosos, sociales o económicos. En este contexto los tabúes (del polinesio *ta*=marcar y *bu*=adverbio aumentativo; algo muy marcado) constituyen una prohibición de motivos, cuyas transgresiones acarrear un castigo sobrenatural para quienes creen en ello; a lo que *se* asocia a veces también una razón *sanitaria*, como la protección contra un riesgo de contaminación en la prohibición de la carne de cerdo por los israelitas y musulmanes, o *económica* como puede ser la necesidad de mantener un abastecimiento adecuado de cierto alimento. Así como se rechaza en la India el consumo de carne de vacuno y en Mongolia la de gansos y patos, animales que nosotros consumimos, si las circunstancias hubieran sido otras, tal vez nosotros habríamos aprendido a comer carne de perros y gatos como lo hacen los chinos (2).

En este contexto, actualmente la autoridad sanitaria no ha apoyado en China la recomendación para el consumo humano de carne de ratas por razones higiénicas y de transmisión de enfermedades. Su reproducción ha superado en los últimos 3 años la campaña de exterminio que se ha emprendido, debido a la sequía y la caza indiscriminada de sus enemigos naturales, como zorros y serpientes. El daño económico de esta plaga es enorme pues las ratas devoran en China 15 millones de toneladas de cereales al año, lo que constituyó un 4% de su cosecha total, en 1985.

Pero por otra parte, vienen noticias del Estado de Benin en África Occidental donde *se* está efectuando la cría masiva en establos de otro roedor, llamado rata tubular, semejante a un puercoespín por suministrar su carne una proteína de alto valor biológico.

ESTRUCTURA QUIMICA DE ALGUNOS TOXICOS TRANSMISIBLES
POR ALIMENTOS O BEBIDAS

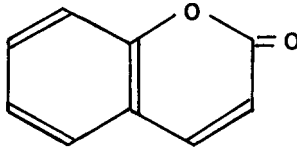


Fig. 1: CUMARINA: 1, 2 - **Benzopirona**. También las AFLATOXINAS son derivados de la Cumarina.

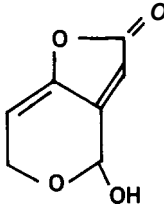


Fig. 2: PATULINA: derivado lactónico de la gama-pirona.

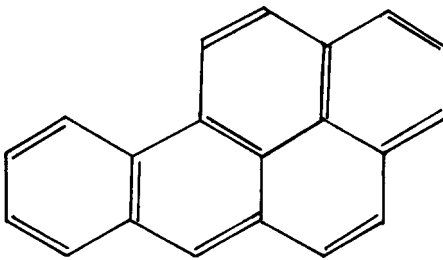
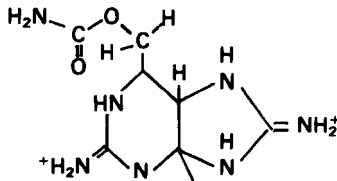


Fig. 3: 3,4 - **Benzopireno** representativo de los 200 HIDRO-CARBUROS POLICICLICOS AROMATICOS.



H

Fig. 4: SAXITOXINA. Tóxico Paralítico de Moluscos.

IV. INTOXICACIONES DEBIDAS A ALIMENTOS CON COMPONENTES NATURALES PREFORMADOS

1. Un caso conocido desde los tiempos más remotos (por el poeta griego Euripides) es el que corresponde a los hongos **tóxicos** (Fungitoxicosis), desde la fatal *Amanita phalloides* hasta aquéllos más bien peligrosos por su efecto irritante del tracto gastro-intestinal, como ha sucedido en Chile con la *Lepiota locañense*.

En este contexto, uno de los **5** ciclopéptidos tóxicos de la *Amanita phalloides*, la *alfa-amanitina* ha sido objeto de investigaciones por el Instituto Max Planck de Heidelberg. Se ha comprobado que este tóxico inhibe la actividad de la enzima, polimerasa II, responsable de la realización del programa genético, pues dirige el transporte de la información de los genes sobre los mensajeros del Acido Ribonucleico (R.N.A.). Este bloqueo de la información inhibe a su vez la síntesis de proteínas de vital importancia en el plasma celular. La muerte se produce, cuando la desnutrición celular llega a la desintegración del órgano, especialmente del hígado. Estas investigaciones explican el gran poder tóxico del hongo **y** la aparición tardía de los síntomas de la intoxicación, o sea, después de aproximadamente 8 horas.

Afortunadamente, en Chile sólo otra especie de *Amanita*, la *Amanita gemmata* (2) y la ya mencionada *Lepiota* han producido intoxicaciones. Por otra parte, por su valor sávido, **se** recurre a menudo a los hongos comestibles para condimentar guisos y salsas, pero existen posibilidades de intoxicación por estos componentes de nuestra alimentación.

En Chile son más frecuentes las intoxicaciones por ingestión de hongos **comestibles** al estado fresco, **pero descompuestos** pues, por su elevada humedad y contenido de componentes nitrogenados, se alteran fácilmente por putrefacción, con formación de compuestos tóxicos. Para evitarlo, existe una serie de precauciones que empiezan desde la **cosecha**. Así, deben extraerse de la tierra por movimiento giratorio para **no dañar** sus tejidos y deben recogerse enteros para poder cerciorarse de la ausencia, en la base engrosada del pie o tallo, de un repliegue membranoso o “volva” que lo envuelve como un saco y

que identifica muchas especies tóxicas, quedando a veces semicubierto de tierra. En la misma recolección deben apartarse de inmediato los ejemplares putrefactos y dentro de las 24 horas de su cosecha deben limpiarse y procederse a su preparación culinaria, evitando también su consumo tardío y el recalentamiento de los guisos que los contienen.

Otra forma de consumo de los hongos comestibles es al estado **enlatado** o deshidratado. En este caso, los hongos deben cortarse en rodajas y estando suspendidos, deben secarse al **aire** o al calor suave y gradual hasta unos **60-70°C**, quedando un 10% de humedad residual.

Para el reconocimiento de hongos tóxicos se recurre al examen de los **caracteres** botánicos, de orden morfológico e histológico de los hongos y sus esporas; por ej. en los champiñones, comestibles, éstas presentan al microscopio una forma elíptica y están provistas de una membrana lisa de color pardo. Conviene constatar también la presencia de o no de la **volva** ya mencionada, y de un **anillo** que suele rodear el pie de la callampa cerca de su tercio superior y la coloración blanca o clara de las **láminas radiadas** que forman la parte inferior del sombrero de muchas especies tóxicas.

Por otra parte **se** ha comprobado que algunos hongos comestibles como los champiñones pueden acumular a nivel de estas láminas algunos **metales tóxicos**, como mercurio y cadmio que han absorbido del suelo, alcanzando en el cadmio hasta más de 1 mg/kg (15).

Para establecer rápidamente si un hongo pertenece **al** grupo peligrosísimo de las **Amanitas tóxicas** se puede recurrir al "Test del papel de diario de Wieland (68): se coloca una gota del zumo de expresión del hongo sobre la parte no impresa de un papel de diario. Una vez seco al aire, se humedece con ácido clorhídrico (37%); después 5 a 10 min aparece una mancha azul. Se trata de una reacción de coloración entre la lignina de la madera de pino (usada en la elaboración de papel de diario) con el grupo indólico de los tóxicos de la Amanita, en un medio fuertemente ácido.

En este contexto conviene hacer un **distingo** entre estos casos de **Fungitoxicosis** (o micetismos) producidos por ingestión de hongos con componentes naturales tóxicos y las **Micotoxicosis**, causadas por **contaminación** de alimentos y forrajes con hongos y sus metabolitos, sin afectar mayormente al hongo mismo. Por este motivo las micotoxicosis serán tratadas posteriormente en el Capítulo VI: Alimentos que actúan como vehículos de algún tóxico químico extraño a su composición normal, párrafo 5: Contaminantes de origen microbiano.

2. Otro ejemplo de tóxicos manifiestos, contenidos en productos vegetales naturales, es la **Cumarina** o 1,2-benzopirona (Fig. 1) contenida en algunos **vegetales aromáticos** como el fréjol de Tonca (*Dypteryx adorata*) y la Reina de

los bosques (*Asperula odorata*) cuyo uso como aromatizante está prohibido por su efecto hepatotóxico; pero hoy es posible “descumarizar” los fréjoles de Tonca hasta **0,158** para poder usarlos como aromatizantes de tabaco y aún hasta 5ppm para poder aromatizar bebidas alcohólicas. Indicios no tóxicos de Cumarina se han encontrado aun en la frambuesa.

Esta acción tóxica, observada tanto en la cumarina como en las aflatoxinas, derivadas de la cumarina, constituye un buen ejemplo de coincidencia entre toxicidad y estructura química: como suele existir también en el campo farmacológico entre actividad terapéutica y estructura química.

2.1. **Otros** casos de sustancias naturales tóxicas lo constituyen algunos *componentes* de esencias, usadas como acentuantes de aroma y/o sabor de alimentos o bebidas y contenidas en pequeña cantidad en especias (27).

En relación con las especias se creía antes que sus esencias y otros componentes tenían una composición que sería específica para el respectivo vegetal, capaz de suministrar el aroma y/o sabor, como así sucede por ej. con la capsaicina del ají y pimentón y la piperina de la pimienta. Sin embargo hoy día se conocen muchos componentes como por ej. eugenol, pineno, limoneno que se encuentran en muchas esencias, de origen botánico muy diferente, aunque en proporciones muy variables.

- Uno de los mayores tóxicos-cancerígenos y —por tanto hoy prohibidos— es el cálamo aromático (rizoma de *Acorus calamus*) que se agregaba a bebidas amargas, igual que la Tuyona, químicamente una cetona: metil-isopropil-biciclo-hexanona y fisiológicamente de efecto neurotóxico; está contenida en las esencias de salvia, artemisa y ajenjo.
- Una acción tóxica-hepática presenta el *Safrol* o 4-alil-1,2-metilendioxi-benceno de la corteza de *Sassafras officinalis* (que se consumía antes como infusión) y que está contenido en pequeña cantidad en algunas especias como anís estrellado, hinojo y nuez moscada.
- Una estructura parecida presenta el *Estragol* (en vez del puente metilendioxi tiene un grupo metoxilo); está contenido en las esencias de las especias: estragón, albahaca, anís e hinojo.
- El derivado metoxilado del safrol es la *Miristicina*, especialmente tóxica (un niño de **8 años** murió, al ingerir 2 nueces moscadas enteras)(13); suele tener también un efecto alucinógeno, especialmente óptico y musical. Además inhibe la monoamino-oxidasa y con esto la oxidación de las aminas biogénicas. (Para su detección véase Capítulo X).
- Un derivado di-metoxilado del safrol forma el *Apiol* contenido en las esencias de apio y perejil. La miristicina y el apiol son también tóxicos hepáticos.

En otra especie, la *pimienta negra*, bioensayos practicados en ratas por J. Madrid C. (7) han demostrado una acción carcinogénica moderada en el hígado, pulmones y piel. Este efecto en órganos tan diferentes hace suponer al autor mencionado una acción combinada o *sinérgica* entre diferentes componentes de la pimienta. Fuera de su alcaloide principal, la *piperina* (27) parecen participar en esta acción los taninos, el safrol y la miristicina, en los cuales su grupo metilendioxi-benceno y su cadena lateral alilo serían los responsables; como así mismo los respectivos metabolitos de estas sustancias. Coincidieron los resultados de estos bioensayos en ratas con el efecto mutagénico encontrado por Madrid al practicar el Test de Ames (41) con *Salmonella typhimurium*.

Ampliando la ya comentada frase de Paracelso que “sólo la dosis hace el veneno” se podría decir con respecto a los acentuantes de aroma y/o sabor usados en alimentos que “sólo la dosis determina sus propiedades funcionales Útiles” y afortunadamente esta dosis es reducida en esta clase de aditivos. Esto vale también para el uso de colorantes cuya ingesta per cápita y por día se estima en EE.UU. en un promedio de 15 mg.

2.2. Por otra parte, desde los tiempos de Plinio hasta los actuales, en Unión Soviética, EE.UU. y Japón se describen casos aislados de *mieles tóxicas* elaboradas por abejas a partir de flores o néctares de plantas tóxicas como, por ejemplo, la belladona y el rododendron. Este último contiene un diterpeno tetracíclico (grayanotoxina) de efecto hipotensor (30).

3. En *verduras* (como zanahorias, betarragas, acelgas, espinacas, coles, rábanos, nabos y pepinos) diferentes abonos nitrogenados del suelo son transformados, por acción microbiana, en *nitratos*, los cuales pueden acumularse en el vegetal y reducirse a *nitritos*, de acción meta-hemoglobinizante y cianótica; a la vez actúan como precursores de las peligrosas nitrosaminas. Esta reducción biológica de nitratos a nitritos puede producirse por contaminación bacteriana de la verdura (*B. cereus*, *B. megatherium*, *Penicillium*) o por las bacterias coliformes del intestino, especialmente en lactantes menores de 3 meses porque el pH relativamente alto de su jugo gástrico facilita esta reducción. Ya **6,5 mg NO₃⁻/kg** de peso corporal pueden ser tóxicos para lactantes. Por esto se prohíbe la ingestión de estas verduras en esta edad (42).

3.1. En cuanto a la *zanahoria* (*Daucus carota*) sólo en un consumo realmente exagerado podría manifestarse el contenido de 2 mg/kg de *Carotatoxina*, un alcohol poliacetilénico, de efecto neurotóxico en roedores, con dosis de 100 mg/kg (13).

3.2. El *ácido oxálico* y *oxalatos* (contenidos en algunas verduras como espinacas, acelgas, acedera y ruibarbo) fuera de poder interferir la utilización de

algunos minerales esenciales al ligarlos por formación de sales insolubles no presentan mayor peligro por su toxicidad, en la *dieta normal*. Sólo un exceso podría contribuir a formar cálculos renales pues experiencias con oxalato de calcio marcado con C_{14} y Ca_{45} han demostrado su descomposición, por lo menos parcial, al nivel del tracto digestivo, con desprendimiento de CO_2 marcado (en el ruibarbo intervienen también sus glucósidos antraquinónicos, de acción imtante sobre el intestino y el sistema renal).

3.3. En la *pupa* presentan mayor peligro los hongos, bacterias y virus que la atacan que el escaso contenido de **2-25 mg%** de *solanina* en el tubérculo normal. Se trata de un gluco-alcaloide, cuyo aglucón, la solanidina, es un esteroide inhibidor de colinesterasa, relacionada con la conducción de los impulsos nerviosos. Sólo el tubérculo germinado por exposición a la humedad y a la luz acumula cantidades tóxicas (sobre 40 mg%) sobre todo al nivel de la cáscara. Las papas se pueden desintoxicar por ebullición con agua, acidulada con ácido acético (13).

3.4. Interesante es el caso del *Camote* (*Ipomoea batatas*), el cual no es tóxico por sí, pero puede generar como *acción de defensa*, por biosíntesis, al ser infectado por hongos (*Ceratocystis fimbriata*, *Fusarium oxysporium*) ciertas sustancias fungicidas o antibióticas que son a la vez hepatotóxicas para el hombre y los animales. Se acumulan en la región infectada y sólo en el tejido próximo a ésta. Químicamente se han identificado como furano-sesquiterpenos, siendo la más importante una cetona sesquiterpénica, la *Ipo-meamuronu*. Son de sabor amargo y no se destruyen por la cocción habitual. El tubérculo dañado genera también derivados de la cumarina como lo son las aflatoxinas (13).

4. En cuanto a las *Leguminosas*, es sabido que presentan un notable contenido de proteínas, ricas en *lisina* y que suplementan muy bien a las proteínas de los cereales, pobres en lisina pero con un buen aporte de *metioninu*, deficiente en las leguminosas.

Sin embargo, las leguminosas y el *fréjol oporoto* (del araucano: "purutu") (*Phaseolus vulgaris*) en particular presentan una digestibilidad más baja que otras proteínas de origen vegetal, lo que se debe a una serie de componentes calificados por Bressani (25) como factores antifisiológicos:

4.1. Su *cutícula fibrosa*, por lo cual en algunas regiones como la India se suelen consumir descascaradas, lo que aumenta su digestibilidad y valor nutritivo. Además, la presencia de *sustancias pécticas* a nivel de las paredes celulares, capaces de interaccionar con cationes (Ca, Mg) del agua de cocción puede contribuir a su endurecimiento y mayor tiempo requerido de cocción.

4.2. Oligosacáridos, químicamente alfa-galactósidos, constituidos principalmente por la *rafinosa*, trisacárido desdoblable en glucosa, galactosa y fructosa y la *estaquiosa*, tetrasacárido formado por 2 moléculas de galactosa, una de glucosa y una de fructosa. Por acción de la microflora del colon se descomponen con producción de gases (H_2 , CO_2 , N y a veces CH_4), causantes de trastornos digestivos y flatulencias que suelen ser más graves en niños, ancianos y también **astronautas** y **pilotos (7)**. La presión de estos gases genera un relajamiento del músculo del esfínter, permitiendo, así, la salida del gas por vía **rectal**; pero también una parte del gas puede transmitirse a través de la circulación sanguínea a la vía de los gases pulmonares, generando así las flatulencias.

El remojo previo y la ebullición prolongada constituyen el mejor método para disminuir estos trastornos, quedando **sólo** la hemicelulosa de la fibra que puede intervenir también como causante de flatulencias.

4.3. Sin duda, el componente antifisiológico más estudiado y también más activo que se ha aislado de las diversas variedades de fréjol es la *faseolotoxina* o *fasina*, químicamente una mucoproteína con un 50% de glúcido y de un peso molecular aproximado de 12.600. Tiene el efecto de una *fito-hemoaglutinina* hidrosoluble, que produce la aglutinación (es decir, una conglomeración y adherencia de glóbulos rojos lavados) pero que se desnaturaliza por ebullición prolongada, desapareciendo entonces la toxicidad. Por eso, los graves trastornos gastro-intestinales que produce a menudo la ingestión de sopas a base de harina de fréjoles no remojados e insuficientemente cocidos (menos de 2 horas) se explica, según Jaffé (3) por la reacción de la faseolotoxina con ciertos grupos receptores de restos de carbohidratos, ubicados en la *superficie* de **las membranas** celulares, tanto de los hematíes como de la mucosa intestinal; de esta manera se produce una inhibición de la absorción de *nutrientes*, por efecto de membrana. Se ha propuesto para estas fito-hemoaglutininas también el nombre de "lectinas" (*legere* = elegir) debido a su carácter específico según el origen de los hematíes: así la hemoaglutinina del *Phaseolus vulgaris* y también la de soya aglutinan la sangre *humana* y de conejo, mientras que las de arvejas, garbanzos y lentejas lo hacen **sólo** con sangre de conejo, por lo que estas leguminosas no producen estos trastornos digestivos en el hombre. La lectina más tóxica es la de las semillas no comestibles del *Ricinus* comunis. (Para su detección véase Capítulo X).

De esto **se** desprende la necesidad de someter los fréjoles a un adecuado tratamiento térmico previo si se destinan a la elaboración de harina para sopas; en cambio, en el fréjol entero la cocción prolongada para asegurar su reblandecimiento desnaturaliza este factor tóxico. Este tratamiento térmico puede hacerse por cocción simple, cocción a presión y cocción a alta temperatura y

corto tiempo; esta última a **196-200°C** durante **20-25** seg aumenta la calidad proteica y destruye a la vez los componentes antifisiológicos.

En el contexto de la medida de la dureza de fréjoles y su necesario tiempo de cocción Gómez-Brenes y Bressani (72) han construido recientemente un *durómetro*: "DUR-INCAP" a base de un tomillo sinfín, movido eléctricamente que comunica fuerza a una aguja, la cual se mueve entonces contra el centro del grano de fréjol hasta perforarlo. El soporte sobre el cual descansa el grano está fijado a un resorte; a medida que éste baja, comunica al soporte una fuerza creciente, opuesta a la aguja móvil. Cuando el grano queda perforado se interrumpe el movimiento de la aguja y se toma la lectura. Esta se traduce en gramos-fuerza necesarios para perforar el grano.

Como pueden aplicarse resortes de diferente grosor los autores sugieren también su uso para medir la dureza de granos, frutas, pastas y pan.

4.4. Fuera de la presencia, también en el fréjol de *inhibidores de la tripsina* (véase más adelante) y de *amilasa*, Bressani (25) describe como factores antifisiológicos del fréjol a *polifenoles condensados* del tipo de taninos y catequinas, también capaces de interferir en la digestibilidad y calidad de la proteína, en esta leguminosa. Se encuentran principalmente en la cutícula, en cantidades variables según el color del fréjol y se diferencian de los demás componentes descritos por su resistencia al calor, distribuyéndose en proporción variable entre el fréjol cocido y el caldo de cocción.

4.5. El peligro potencial de la presencia simultánea de *glucósidos cianogénicos* de por sí no tóxico pero que pueden liberar **HCN** por la flora intestinal, en el fréjol chileno (equivalentes a **0,6-5,1 mg%** de **HCN**) (16) se elimina por cocción usual hasta su reblandecimiento.

Mayores cantidades existen en el *Phaseolus lunatus*, sorgo, puntas de bambú, raíz de manihot o *casava*, almendras amargas y semillas de frutas como cerezas, ciruelas, damascos y duraznos. Esto es digno de tomar en consideración en la fijación de límites máximos en derivados de estas frutas como mazapán y bebidas alcohólicas (Kirsch, Quetsch) pues el ácido cianhídrico tiene una dosis letal de **0,5 a 3,5 mg/kg** de peso corporal para el hombre; actúa sobre la citocromo-oxidasa, inhibiendo la respiración celular.

Por otra parte, se ha comprobado que estos vegetales con glucósidos cianogénicos contienen también las enzimas, capaces de liberar el **HCN** pero ubicados a menudo en células o aun tejidos vegetales separados; por molienda o machacado se puede desencadenar entonces una cianogénesis, mientras que la aplicación de calor destruye naturalmente estas enzimas (8).

4.6. También las *Saponinas*, glucósidos no nitrogenados están presentes en arvejas, soya y *maní* y en menores cantidades en betarragas, espinacas y

espárragos se hidrolizan por la flora intestinal y no ejercen entonces su característica acción hemolítica; ésta **se** debe a su formación de complejos con los lipoides de las membranas de los eritrocitos, volviéndolas permeables **(13)**.

4.7. Por otra parte, los **Chícharos** o Almortas (*Lathyrus sativus*) pueden causar en el hombre, por consumo unilateral, el “**neurolatirismo**” (2) generando, por su acción sobre el Sistema Nervioso Central, un típica lesión en las piernas con dificultades para caminar. Se han identificado diferentes compuestos químicos, como el ácido oxalil-aminobutírico, que interfieren la síntesis de la elastina, proteína del tejido conjuntivo de tendones y ligamentos (40). Se pueden desintoxicar por remojo en agua con cal, seguido de ebullición o también por tostación; así **se** destruye también su factor **antitriptico**.

4.8. Una intoxicación semejante al neurolatirismo se ha observado por consumo exagerado de **garbanzos** (*Cicer arietinum*) cocidos, cuya proteína, la cicerina, es especialmente deficiente en metionina; un enriquecimiento con este aminoácido protege contra el “**cicerismo**” (2).

4.9. **Más** complejo es el “**fabismo**” generado por las habas (*Vicia faba*) crudas o mal cocidas. Se atribuye a un trastorno de susceptibilidad congénita, relacionada con la deficiencia en la enzima **hexosa-fosfato-dehidrogenasa** de los eritrocitos. Se produce una anemia grave, **al** afectar el metabolismo del glutatión de la membrana del eritrocito, provocando su ruptura. Además se han identificado en las habas dos glucósidos de efecto hemolítico, la vicina y convicina **(39)**.

4.10. En cuanto a otra leguminosa de interés en nutrición se trata del **Lupino o Altramuz**, constituido por las semillas de *Lupinus albus*, conocido ya en Egipto, y del *Lupinus mutabilis* de Sudamérica precolombina. **Se** han descrito 26 alcaloides diferentes, todos derivados de la quinolizidina y cuya naturaleza varía según la especie de lupino; así el esqueleto de quinolizidina puede estar enlazado con otro más, como sucede en la **esparteína** o con un anillo piperidínico en la **lupanina** y la **hidroxilupanina** que junto con la lupinina o hidroximetilquinolizidina son los alcaloides principales del *Lupinus mutabilis* **(5)**.

Como estos alicáoides (2%) comunican al lupino cierto sabor amargo y son de carácter tóxico, deben eliminarse. Esto se logra por el procedimiento convencional, usado desde tiempos antiguos en la región andina: cocción en agua de la semilla entera, remojada previamente durante unos 30 min, seguida de inmersión prolongada **(3-4 días)** en comente de agua. Una alternativa de tipo industrial consiste en una extracción previa con hexano del aceite, el **cual** puede usarse como comestible pues no tiene prácticamente alcaloides y contiene, en cambio, ácido linoleico y gama-tocoferol **(5)**. El afrecho resultante que queda enriquecido en alcaloides debe someterse a una extracción de **éstos** con etanol y

agua (75-80% etanol); también se ha ensayado la extracción conjunta de alcaloides y aceite con una sola mezcla de disolventes a base de etanol-agua e isopropanol-agua.

Otro camino para descartar los alcaloides amargos y tóxicos consiste en la *selección biológica*, logrando un lupino dulce como mutante del *Lupinus albus* var. multilupa, cuyas semillas, una vez descascaradas y tostadas a 80° durante 10 min (para aumentar su palatabilidad, quitándole el "sabor a crudo") contienen un 40% de proteína. Aunque ésta es deficiente en metionina, aumenta su valor nutritivo si se suplementa con ella, lisina, valina e isoleucina (6). La limitación del lupino dulce aún consiste en su *posible regresión al mutante amargo*, como ser, por polinización extraña.

Acerca de otros problemas de posible toxicidad, el *L. mutabilis* presenta, afortunadamente, bastante resistencia frente a infecciones por hongos productores de hepatotoxinas como el *Phomopsis leptostromiformis*, causante de "lupinosis" en ovejas (5).

Por otra parte, en forma semejante a la soya, también esta leguminosa puede formar nódulos que en simbiosis con bacterias nitrificantes (*Rhizobium*) posibilitan la asimilación del nitrógeno del aire y es excelente como cultivo de rotación con trigo.

Como, en general, los diferentes factores tóxicos de las leguminosas son *lábiles frente al calor húmedo*, deben remojarse cuidadosamente antes de su calentamiento, lo suficientemente prolongado para asegurar su atoxicidad, tanto en su preparación culinaria como tecnológica.

5. En Chile, un aceite comestible que es producido en *gran* cantidad es el de *colza* o raps y por este motivo ha preocupado especialmente el aprovechamiento del afrecho o torta que queda como producto secundario del procesamiento de esta semilla oleaginosa. Desafortunadamente, dichas semillas contienen, fuera de un alto porcentaje de proteína vegetal como componentes naturales, ciertos tóxicos que se encuentran originalmente en *forma de tioglucósidos*, atóxicos, pero que liberan por una enzima hidrolítica de la misma semilla, la mirosinasa o tioglucosidasa los siguientes componentes de acción bociógena sobre la glándula tiroides: (véase referencia 2).

Isotiocianatos, volátiles, que interfieren la síntesis de la tiroxina al bloquear su yodación en la glándula tiroides. De la mostaza (*Brassica nigra*, juncea) se ha aislado el alil-isotiocianato y de las semillas de raps (*Brassica napus*) los: 3-butenil, 4-pentenil, 4-metiltiobutil y 5-metiltiopentil-isotiocianatos (identificables por cromatografía gaseosa).

Por ciclación espontánea del 2-hidroxi-3-butenil-isotiocianato se genera otro factor bociógeno, de actividad semejante al tiouracilo como se ha comprobado por la disminución del grado de absorción de yodo radiactivo por la

tiroides humana. Se trata de la 5-vinil-2-oxazolidino-tionao *Goitrina* no volátil **al** vapor (por lo cual **se** determina por su absorción **al** ultravioleta).

Además, los isotiocianatos, en contacto con el pH ácido del estómago, podrían generar los *nitrilos* correspondientes que son tóxicos.

5.1. Para la *desintoxicación* de la semilla de raps y para usar la torta de raps en la alimentación de animales se puede inactivar la mirosinasa por rápido *calentamiento* de las semillas molidas a **80-90°C** por unos **15** minutos sin adición de agua, antes de prensarlas y extraerlas. Además, debe evitarse su mezcla con semillas de mostaza y limitar la torta de raps en los forrajes a ciertos porcentajes de la mezcla, según la especie de animal de que se trata, siendo los porcinos jóvenes los más sensibles.

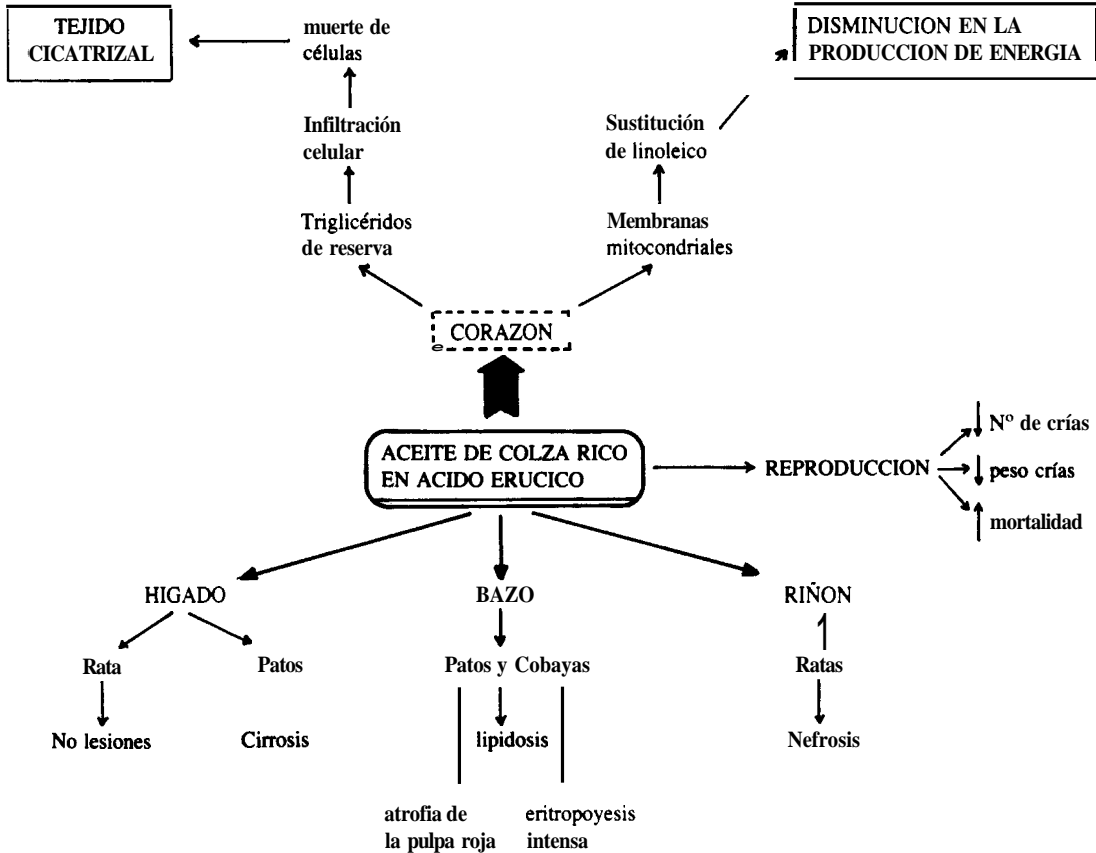
5.2. Otro proceso de desintoxicación del raps es la eliminación previa de los tioglucósidos (ogluco-sinolatos) que contiene, por *maceración* repetida en agua o mezclas hidroalcohólicas, pues existe la posibilidad que aun destruyendo la mirosinasa en el raps, **se** genere esta enzima en el tracto intestinal por acción de su flora bacteriana (E. coli, A. aerogenes).

5.3. También es posible destruir los tioglucósidos del raps por *acción microbiana*, **al** someterlo a un ensilaje. (*Geotrichum candidum*, *Proponibacterium* y lactobacilos inactivan los componentes *bociógenos*).

5.4. Además, la semilla de raps presenta todavía otro problema toxicológico en relación con su aceite. En efecto, entre los ácidos **grasos** constituyentes se encuentra el *ácido* erúico: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$, en cantidades muy variables (con un promedio de **52,3%** en el raps de invierno, variedad Matador, hasta sólo **1,4%** en el raps de primavera, variedad Oro). Se ha comprobado que el ácido erúico favorece la infiltración **de** depósitos **grasos** en el corazón y **otros** órganos (hígado, riñón) y altera los glóbulos rojos, en experiencias en animales. Por este motivo, algunos países han establecido límites máximos de ácido erúico (**15%** en Italia, **5%** en Suecia y la C.E., **0%** en Bélgica) para poder usar el aceite de raps como comestible.

La acción del ácido erúico **se** explica por la interferencia que produce en el sistema enzimático responsable de la oxidación de los ácidos **grasos** de cadena larga en los mitocondrios (o sea, las inclusiones en el protoplasma celular en forma de gránulos, hilos o varillas). En especial inhibe la acetil-coenzima-A-dehidrogenasa y la lipasa de los triglicéridos (**13**).

Por otra parte, V. Ruiz Gutiérrez (**73**) describe en forma muy ilustrativa los efectos tóxicos del ácido erúico por el siguiente esquema:



Para determinar el contenido de ácido enéxico en semillas de raps o colza se puede proceder al conocimiento de la composición en ácidos grasos del aceite por cromatografía gas-líquido o en forma más rápida a una cromatografía en papel, usando ácido rubeánico (ditio-oxamida: $H_2N-SC-CS-NH_2$) para revelar el ácido enéxico en forma de una mancha verde de Rf característico (19, 20) (véase Capítulo X).

5.5. La solución de ambos problemas toxicológicos del raps es la *vía genérica*: se han logrado por cruzamientos ya variedades con cifras cercanas al 0% de tioglucósidos y a la vez de ácido enéxico.

La vía genética aparece también como el método más promisorio para evitar la acción tóxica-cardíaca del *gossypol*, polifenol policíclico de la semilla de algodón y para cumplir así la exigencia reglamentaria de un máximo de 0,045% de gossypol libre para la proteína de esta semilla.

6. La *Ictiotoxicosis*, que se refiere a la intoxicación por pescados y mariscos se presenta particularmente compleja no sólo por la variada naturaleza de la causa de la toxicidad sino también porque su aparición depende a menudo del *área* y *período evolutivo* del respectivo organismo. Existen casos de ictiotoxicosis que son meras intolerancias de *origen alérgico* (ya mencionadas) o bien, intoxicaciones en que el pescado o marisco actúa como *vehículo* de *parásitos*, microorganismos y sus *toxinas*.

6.1. Se han aislado tóxicos propios en algunos peces, siendo los casos más importantes:

- la *Tetraodontoxina* del Pez Fugu o Tetraodonte del Japón y costa del Pacífico de los EE.UU. que se acumula en hígado, ovarios y testículos; es tan violento que su dosis mortal humana estaría por debajo de 1 mg.; y,
- la *Ciguatera*, nombre que se da a la intoxicación causada por varios peces que no tienen común denominador que los relacione desde un punto de vista taxonómico. Proviene del Mar Caribe, como la Barracuda, y tienen de común los síntomas gastro-intestinales y neuromusculares.

6.2. Por otra parte, la *Marea Roja* consiste en el crecimiento masivo de cierto *fitoplancton*, al producirse movimientos de agua a $> 14^\circ C$ desde capas profundas hacia la superficie, permitiendo el afloramiento de algas unicelulares, diatomeas y *dinoflagelados coloreados*. Al ser ingerido este plancton por *moluscos* como almejas, mejillones, ostras y choritos, lo acumulan en sus tejidos, volviéndose tóxicos para el hombre que los ingiere. Sin que el molusco experimente daño puede filtrar a través de su tracto digestivo hasta 19 litros de agua por hora.

6.3. Uno de estos tóxicos violentos es la *Saxitoxina*, metabolito de algas del género *Gonyaulax* como el *G. catenella*. Su nombre proviene del molusco *Saxidomus giganteus* en el cual *se* identificó químicamente como un compuesto con un anillo tetrahidro-purínico y dos grupos guanidínicos (Fig. 4); éstos han sido detectados también en la tetraodontoxina. Fisiológicamente *inhibe* la conducción de los impulsos nerviosos, al bloquear la llegada de sodio a la fibra del nervio. *De* allí que en los síntomas predominan los neurológicos: hormigueo o *picoteo* en los labios, rigidez de la musculatura bucal; parálisis neuromuscular en las extremidades, pudiendo producirse la muerte por parálisis respiratoria. El tóxico es termorresistente y los *síntomas* ya aparecen **5** a 30 minutos después de la ingestión de los moluscos.

Para determinar Saxitoxina en moluscos bivalvos se puede aplicar el Bioensayo descrito por la AOAC (17) o una técnica, a la vez instrumental y fisiológica: para la *espectrometría de fluorescencia* se procede a preparar un extracto por mezcla de partes iguales de CCl_3COOH 1 M y HCl 0,2 M el cual se purifica por cromatografía en columna con resina de intercambio iónico Bio-Rex; después de lavada, *se* eluye con mezcla de CH_3COOH 2 M y HCl 1 M (1 + 1). Este mismo eluido *se* puede utilizar tanto para la medida fluorimétrica como para un *bioensayo* midiendo el tiempo desde la inyección intraperitoneal en ratones de **20** g, hasta el último movimiento respiratorio (véase Capítulo X).

6.4. En lo que se refiere a la *Erosión de Molleja y el Vómito Negro* (35) constituyen enfermedades avícolas, cuya incidencia y severidad se asocia con la ingestión de ciertas harinas de pescado, tóxicas. Estas enfermedades causan grandes pérdidas económicas, ya que afectan drásticamente el normal crecimiento de las aves y pueden llegar a provocar mortalidades de hasta un 60% en las parvadas y/o una disminución de hasta un 30% en la postura. Por otra parte, amagan seriamente las exportaciones de harina de pescado y obligan a restringir dramáticamente la inclusión de la harina de pescado en las dietas para aves, aun cuando ésta representa una de las fuentes más convenientes del punto de vista económico como biológico.

Al comienzo *se* observan síntomas generales a toda enfermedad plumas erizadas, palidez, cama húmeda (diarrea de color castaño oscuro o negro), deshidratación, aumento del consumo de agua, anorexia (**50%** disminución del consumo de alimentos durante **2 a 3 días** previos). A medida que avanza la enfermedad, los distintos órganos del tubo digestivo comienzan a presentar diversas lesiones *destructivas* donde puede encontrarse material mucoso negro. El proventrículo y el estómago muscular o molleja son, sin lugar a duda, los órganos más afectados; *se* presentan dilatados y llenos de material mucoso negrozco. En ellos es posible encontrar erosión completa del epitelio en el proventrículo y capa córnea de la molleja con secreción excesiva de jugo



Fig. 5: **VOMITO NEGRO**. Estómago muscular o molleja de un ave normal y de otra afectada.

gástrico y grandes sectores de úlceras y hemorragias. La lesión final es la proyección de la úlcera a la capa muscular y serosa que recubre la molleja provocando perforación de ésta, peritonitis y muerte del ave (Fig. 5).

Las harinas de pescado ricas en histidina libre, juegan un rol fundamental según investigaciones de Horaguchi y col. (1981), Masamura y col. (1981), Mori y Okasaki (1983).

La *histidina libre* se transforma en *histamina* bajo condiciones inapropiadas de conservación y la histamina reacciona con la *üisina* para formar un compuesto de potente biotoxicidad que han denominado *Gizzerosinao Mollerisina*. Los investigadores japoneses demostraron que la Gizzerosina es un tóxico capaz de causar severas ulceraciones o erosiones en la molleja. Okasaki y colaboradores (1983) señalan que alimentando pollos con niveles menores que 50 mg/día de gizzerosina (2 ppm.) se pueden causar severas erosiones en la molleja de las aves. Por otra parte, otros investigadores japoneses han señalado que la histamina contenida en la harina de pescado también puede por sí sola causar erosiones en la molleja. Sin embargo, se requiere que esté presente en cantidades relativamente altas (normalmente 0.4-0.5%), según Okasaki y colaboradores (1983). Bajo condiciones prácticas se ha observado que la Gizzerosina es 10 veces más potente que la histamina como compuesto estimulante de la secreción gástrica y 300 veces más lesiva para producir erosiones de la molleja (véase también Capítulo X).

7. Los casos más frecuentes de Tirotoxismo (thyrox = queso) son intoxicaciones de origen microbiano por malas condiciones higiénicas durante su elaboración y/o conservación y aquéllas debidas a incompatibilidades entre ciertos quesos y determinados medicamentos, ingeridos simultáneamente (véase Capítulo VIII).

V. ALIMENTOS CON COMPONENTES INTERFERENTES DE LA ABSORCIÓN O UTILIZACIÓN DE NUTRIENTES

1. La *acción interferente* en la debida absorción y utilización del alimento ingerido puede interpretarse a veces por una *determinada composición y orden de enlace de los aminoácidos constituyentes de ciertas proteínas*. Así sucede con las proteínas alcohol-solubles (70%) o *Prolaminas*, contenidas en algunos cereales como la *alfagladina* del gluten del trigo, la *secalina* del centeno, la *hordeína* de la cebada y la *avenina* de la avena. Se relaciona la ingestión de ulpos preparados de estos cereales con la “enfermedad celíaca”, especialmente de niños de 9 a **24** meses y también con el “sprue” de la edad adulta.

Las intensas *diarreas* con daño de la mucosa intestinal, pérdida de vellosidades intestinales y de la correspondiente capacidad de absorción de los nutrientes se atribuye también a una *intolerancia genérica* frente a estas proteínas, aunque pueden influir también un déficit enzimático o un defecto en el sistema inmunológico (reacción antígeno-anticuerpo). En todo caso, estos trastornos cesan, generalmente, si se suprime, a tiempo, la ingestión de estos ulpos.

2. Determinadas estructuras proteicas pueden ser también responsables de la acción interferente en la debida absorción de nutrientes que producen *inhibidores de enzimas*, siendo los más conocidos aquéllos que actúan sobre enzimas proteolíticas.

El estudio detallado de las enzimas proteolíticas se ha visto dificultado por su gran número, su abundancia y su muy variada estructura molecular. Según J.R. Whitaker (8) se conocen inhibidores de los cuatro grandes grupos de enzimas proteolíticas, establecidos según su mecanismo de acción o la zona reactiva de los aminoácidos esenciales que los integran:

- proteasas ricas en serina, como tripsina, quimotripsina, elastasa, trombina;
- proteasas sulfhídricas, como papaína, ficina, bromelina, catepsinas,
- proteasas metálicas, como carboxipeptidasas, aminopeptidasas;

— proteasas carboxílicas, como pepsina, renina y coagulantes de la leche, de origen microbiano.

Entre estos inhibidores enzimáticos son de mayor interés los llamados **factores antitripticos** que actúan sobre la tripsina y la quimotripsina del tracto intestinal. Se encuentran en la soya y otras leguminosas (fréjoles, arvejas, lentejas), en cereales, la papa y la clara de huevo (una de sus proteínas, el ovomucoide).

Pero se han aislado también inhibidores de proteasas a partir de microorganismos como bacterias (*Clostridium botulinum*), hongos y levaduras (8).

Se trata en los factores antitripticos de proteínas con enlaces disulfuros y de peso molecular variable; a cierto pH forman un complejo **enzima-inhibidor**, lo que puede originar daños e hipertrofia del páncreas y trastornos del balance nitrogenado en el organismo por pérdida de proteínas endógenas. Según K.A. Wilson (7) estos inhibidores enzimáticos constituyen por su naturaleza proteica un excelente material de estudio para conocer las interacciones en las estructuras funcionales de las proteínas entre sí. Así se ha demostrado por exámenes de la estructura molecular mediante rayos X que el complejo cristalino: enzima-inhibidor se forma sólo a través de una región reactiva de contacto, relativamente pequeña de sus grupos aminoacídicos integrantes (“reactive site mechanism”), actuando el inhibidor como pseudo-sustrato de la enzima.

Muy interesante es el hecho que los **aminoácidos libres** que integran estos inhibidores no producen este efecto adverso. Afortunadamente, estos inhibidores se destruyen, en su mayoría, por remojo y calentamiento posterior; por ejemplo, en la soya a 100°C por 10 a 15 minutos, lo cual inactiva también la **lipo-oxidasa** de la soya. Sólo en algunas variedades de papa (Russet Burbank) C.A. Ryan ha descrito aún otro inhibidor termo-estable de la **carboxipeptidasa**, lo que podría obviarse por vía genética (7).

En este contexto, también la **digestión por sí misma** puede considerarse como un mecanismo de desintoxicación si logra desdoblarse las proteínas que constituyen estos inhibidores en péptidos y aminoácidos que son inactivos en este sentido.

Por otra parte Whitaker (8) llama también la atención sobre el potencial uso terapéutico que podrían asumir inhibidores antitripticos al aplicarlos contra una activación prematura de **tripsinógeno**, lo que podría generar una destrucción de tejido pancreático y también contra un incremento de la actividad de proteasas, liberadas en el tracto respiratorio, posibilitando así una protección contra irritantes existentes en el aire, como los causantes del smog.

Se conocen también inhibidores de naturaleza proteica que actúan sobre otras enzimas no proteolíticas como son **carbohidrasas** (inhibidores de amilasa, invertasa, beta-glucuronidasa), **esterasas** (inhibidores de fosfolipasa A), **enzimas oxidantes** (inhibidores de catalasa, peroxidasa) y enzimas que actúan

sobre ácidos nucleicos y derivados. Entre estos inhibidores enzimáticos, los mejor estudiados, son los que actúan sobre las amilasas y que **se** han aislado de cereales y leguminosas.

3. Al revés, una acción interferente también la pueden ejercer *ciertas enzimas* contenidas en los alimentos, como la ya mencionada *lipooxidasa* capaz de destruir los carotenos y la vitamina A a través de los **peróxidos** formados y la *tiaminasa* de mariscos y algunos peces si se consumen crudos, pues destruye la tiamina.

4. Vitaminas y Antivitaminas. En el procesamiento de alimentos es más preocupante la pérdida de vitaminas por las enzimas mencionadas (lipasa, tiaminasa), por el calor o la oxidación que por la presencia de una posible toxicidad por exceso. Esto se presenta sólo en dos vitaminas, ambas liposolubles y capaces de acumularse en el organismo: la A y la D. Un exceso de vitamina A — como **se** ha observado en pescadores que consumieron mucho hígado de peces mayores — se manifiesta por afecciones cutáneas y óseas, mientras que un exceso de vitamina D produce calcificación en las paredes arteriales, conduciendo a aterosclerosis o lesiones óseas y renales. Casos prácticos de estas dos hipervitaminosis se han producido en alimentos enriquecidos, especialmente en niños hipersensibles (8).

Entre las *antivitaminas* debe mencionarse la *avidina*, una de las proteínas de la clara de huevo que inactiva la *Biotina* o Vitamina **H** con la cual forma un complejo estable; pero la avidina misma **se** desnaturaliza e inactiva por el calor.

Por otra parte, el piridoxalfosfato, como forma activa de la *Vitamina B₆* ha sido objeto de numerosos estudios por su participación como coenzima en muchos sistemas enzimáticos. Según **H.I. Klosterman** (7) deficiencias en esta vitamina a causa de antagonistas se han presentado más en forrajes por la ingestión continua de pequeñas cantidades de antagonistas que por la alimentación mixta corriente del hombre. Así es el caso de la *linatina* o 1-amino-D-prolina, tóxico de la semilla de linaza, cuyo residuo de extracción del aceite **se** usa como forraje.

En cuanto a alimentos, se han encontrado antagonistas de la Vitamina *B₆* en algunos *hongos comestibles*, como la *gyromitrina* (de *Gyromitra* esculenta), la *agaricina* (de *Agaricus bisporis* y otras *Agaricáceas*), el *ácido lentínico* (de *Lentinus edodes*); químicamente están relacionados con derivados de hidracinas o hidroxilaminas (7).

Algunas personas han respondido con síntomas parecidos a alergias después de la ingestión de estos hongos, los cuales desaparecen por administración de Vitamina *B₆*. En todo caso, **se** recomienda someter estos hongos a una ebullición prolongada, desechando el abundante agua de cocción.

Estados deficitarios en *Vitaminas K* se han observado en vacunos alimentados con trébol dulce por contener *Dicumarol*, antagonista de estas vitaminas.

5. En general, la aplicación de un calor intenso constituye un mecanismo de desintoxicación, al destruir muchos componentes naturales tóxicos de alimentos, como hemoaglutininas, factores bociógenos, inhibidores de enzimas; como así mismo inactiva ciertas enzimas no deseadas (*tiaminasa*, *lipasa*) y antivitaminas, aumentando a la vez frecuentemente la digestibilidad. Por otra parte el calentamiento puede generar, en algunos casos, también reacciones no deseables en los alimentos, como sucede en el pardeamiento no enzimático (8).

6. Otro caso interesante de *acción perjudicial* de un componente de un alimento lo presentan las llamadas "*Bioproteínas*" provenientes de organismos unicelulares como *micro-algas* y *levaduras*, cuya aplicación para forrajes y también para alimentos proteicos no convencionales se ha preconizado. En efecto, estas bioproteínas contienen en su composición *ácidos nucleicos* en una cantidad de 5-6% en las algas y aun hasta 10% en las proteínas provenientes de algunos microorganismos. Estos derivados púricos son metabolizados en el organismo humano sólo a ácido úrico, por la escasez en la enzima *uricasa*, mientras que el ganado forrajero puede desdoblarlos a alantoína por esta enzima. De este modo, la ingestión de ácidos nucleicos en *altas concentraciones* y a largo plazo eleva la concentración de ácido úrico en la sangre pues se acumula más rápidamente de lo que los riñones pueden excretar. Como consecuencia, el ácido úrico puede cristalizar en las articulaciones y los riñones, generando afecciones gotosas o cálculos renales. Aunque el Protein Advisory Group (1972) ha establecido que la ingestión de menos de 2 g por día de ácidos nucleicos permite que los niveles de ácido úrico en el suero humano permanezcan en los límites normales, la tecnología ha logrado separar los ácidos nucleicos de las bioproteínas por *extracción* semejante a la que se aplica para separar la cafeína en la elaboración del café decafeinado, sin afectar sus bioproteínas.

Ultimamente (74) se ha elaborado una *micoproteína* a partir de cierta cepa (code-named A 3/5) de *Fusarium graminearum*, cultivado en un substrato esterilizado de glucosa, nutrientes y amoníaco en la cual el contenido de 10% de RNA se redujo a 2% mediante RNA-asa endógena.

7. El *Acido Fítico* o inositol-hexa-fosfórico de los cereales y algunas leguminosas, como la soya se encuentra en su *capa exterior*, combinado al potasio y magnesio, constituyendo su principal reserva de fósforo. Pero, el ácido fítico forma sales poco solubles y estables (aun en medio ácido: pH 2) con cationes

como Fe, Cu y Ca. En consecuencia su presencia, en mayores cantidades, representa un riesgo de déficit de estos iones esenciales (anemia y raquitismo) **(11, 12)**.

Además, con la proteína de soya el ácido fítico puede formar un ligando que secuestra Zn, Cu y Co, dando **quelatos** muy estables.

Por lo tanto, puede ser importante controlar su contenido, por ej. en alimentos de uso infantil, sopas deshidratadas, pan integral y galletas y, eventualmente, destruir este agente desmineralizante por la fitasa, fosfatasa ácida, aislada del mismo trigo.

El ácido fítico se puede valorar en cereales y derivados por su precipitación con Fe (111), cuyo exceso se determina por complexometría con EDTA en presencia de ácido sulfosalicílico; agregado también en exceso para actuar como indicador e impedir a la vez la adsorción (por el precipitado de fitato) de parte del Fe (111), al formar un complejo suficientemente estable. (Véase Capítulo **X**).

8. Un elevado contenido de **fibra dietética** puede inhibir la biodisponibilidad de minerales esenciales **(7)**.

Por otra parte, la presencia de componentes no digeribles de la fibra vegetal permite prevenir afecciones intestinales.

VI. ALIMENTOS QUE ACTUAN COMO VEHICULOS DE ALGUN TOXICO QUIMICO, EXTRAÑO A SU COMPOSICION NORMAL

Casos de alimentos de por sí inofensivos pero que pueden actuar como *vehículos de algún tóxico químico* son menos frecuentes que las contaminaciones de origen microbiano. Sin embargo, pueden tener su origen en *confusiones o errores* debidos a ignorancia o imprudencia o en el manejo inadecuado de los alimentos.

1. Las intoxicaciones de origen químico se caracterizan generalmente porque el **período** entre la ingestión y la aparición de síntomas es muy corto: 10 min a 2 horas (en las de origen microbiano: 1 1/2 a 5 horas, excepto en el botulismo, de hasta 8 horas). Casos de intoxicaciones químicas **se** han confundido, a veces, con aquéllas de origen microbiano: el *metanol* de un whisky adulterado (y también de cloruro de metileno debido a un escape de un refrigerador) se han confundido por sus trastornos, especialmente visuales, y su aparición tardía con el *botulismo*. Al revés, trastornos gastro-intestinales de una *salmonellosis* se han confundido con una intoxicación *arsenical*.

2. **Otros** casos en que el alimento actúa como posible vehículo transmisor de un tóxico pueden originarse por la aplicación tecnológica de *aditivos no* adecuados. Sólo a manera de ejemplos se puede mencionar la actual controversia acerca del uso de algunos colorantes sintéticos como el Amarillo Ocaso o Amarillo Anaranjado S., la Tartracina y el Amaranto. También se encuentran en el tapete de la discusión algunos edulcorantes no calóricos como el *Ciclamarato* por su posible impureza y obligado metabolito, la *Ciclohexilamina*, la cual ha generado tumores en la vejiga, en experiencias animales; teniendo a la vez un efecto secundario simpático-mimético por liberar catecolaminas a partir de las terminaciones nerviosas simpáticas.

También en el ácido glicirricínico, aglucón del glucósido glicirricina, conte-

nida en la raíz de la *regaliz* u *orozuz* (que se usa como edulcorante y espumante) se ha comprobado un efecto hipertensor, por retención de agua y sal (13).

A veces también aditivos, de por sí inofensivos, pueden destruir componentes nutritivos valiosos, como los aminoácidos metionina o histidina por los insecticidas: *óxido de etileno* y *bromuro de metilo*; tiamina por el *anhídrido sulfuroso* y la cisteína por el disolvente *tricloro-etileno*, por formación de **delta-dicloro-vinil-cisteína**; por eso se substituye en la elaboración del café descafeinado por otros disolventes como hexano o pentano (39).

La otra cara de la medalla es el uso de aquellos aditivos alimentarios debidamente seleccionados y correctamente aplicados que representan valiosas herramientas que ofrece la actual tecnología para hacer llegar más y mejores alimentos para una población mundial creciente; lo que se justifica naturalmente **sólo** para aquellos aditivos de comprobado carácter inofensivo, es decir, fisiológicamente inobjetables, para reducir así al mínimo imaginable el riesgo que significa su presencia en un alimento. Esto rige especialmente para aquellos aditivos que contribuyen de alguna manera a una mayor **estabilidad** y **conservación** de un producto alimenticio, cuando no haya un proceso tecnológico adecuado capaz de sustituir su adición. Es así que pueden existir actualmente las siguientes razones que justifiquen la presencia de un aditivo estabilizante en alimentos:

- el predominio de la elaboración masiva o industrial de alimentos, lo que puede involucrar un mayor riesgo de contaminación;
- los actuales hábitos de alimentación;
- las mayores exigencias de consumidores con respecto al valor sensorial, sanitario y nutritivo de productos alimenticios;
- el deseo de disponer también de alimentos provenientes de regiones alejadas de las de su producción.

Del mismo modo no **podrían** elaborarse sin el concurso de otros aditivos, p. ej. los siguientes productos alimenticios:

- queso fundido sin sales fundentes (fosfatos, citratos);
- margarina sin emulsionantes (lecitina, mono- y diglicéridos);
- jaleas de aquellas frutas sin suficiente **pectina natural**;
- productos de panificación sin agentes leudantes para levantar la masa; y
- confites para diabéticos sin edulcorantes sintéticos.

3. En oposición al aditivo tecnológico autorizado, los **Contaminantes** son sustancias extrañas que llegan al medio ambiente a causa de las actividades del hombre (antropogénicas) en la industria, el tráfico y el hogar. A través de los parámetros ecológicos de **aire**, agua y suelo pueden alcanzar a vegetales y animales y en consecuencia, a los alimentos derivados de ellos. Fue el químico australiano Stephen Boyden (45) quien caracterizó la situación actual del

hombre frente al ambiente que lo rodea —con todas las posibilidades de tóxicos provenientes de estos 4 parámetros— por el llamado “boiling frosh principle” (principio del sapo hervido): si se coloca un sapo en un recipiente con agua hirviente, trata desesperadamente de abandonarlo. Pero si se le coloca en agua fría, la cual se calienta solo lentamente, el animal se deja hervir hasta su muerte sin defenderse mayormente. En forma similar si una dieta humana tuviese en un momento dado menos nutrientes y más tóxicos podría provocar a la larga una crisis de adaptación en el hombre con todos sus peligros y la posibilidad de que el hombre no se diese cuenta.

Es así que la presencia de *contaminantes* en los alimentos no es conveniente y normalmente no están destinados a subsistir, en lo posible, en el producto terminado. Mientras que en el caso de ciertos *contaminantes* como algunos pesticidas se requiere forzosamente de la fijación de *niveles máximos* o *tolerancias* para sus residuos en los diferentes grupos de alimentos, los *aditivos* autorizados para aplicarlos en alimentos, justamente no deben ser tóxicos en los niveles de concentración en que se usan.

Como es sabido (28) los contaminantes de los alimentos pueden ser de diferente origen:

3.1. *Metales*, provenientes de una “polución tecnológica” de los alimentos y del ambiente que los rodea en forma de agua, aire y suelo. En este contexto han sido calificados como “venenos públicos”: el plomo, mercurio, cadmio y arsénico.

3.1.1. En cuanto al *plomo*, es posible que nuestros antepasados hayan quedado más expuestos a este metal que el hombre actual. Es así que la decadencia del Imperio Romano es atribuida por algunos (2) a una intoxicación crónica por plomo a través del agua conducida por cañerías de este metal y del uso de recipientes hechos de soldaduras, cerámica y esmaltes que lo contenían. En cambio, actualmente se están haciendo esfuerzos para que todos los automóviles del futuro ya no desprendan por sus tubos de escape, plomo-tetra-etilo, principal causante de intoxicación plúmbica a través del aire y de verduras y frutas contaminadas. Se agrega a esta fuente de plomo aquella proveniente del desastañado parcial o de soldaduras de latas de conserva, por migración de plomo del envase.

3.1.2. De la intoxicación por *mercurio* a través de alimentos y bebidas como *veneno ecológico* se tomó conciencia desde fines de la década del 50 cuando este metal fue incorporado a la cadena alimentaria del hombre por ingestión de peces —como atún y pez espada—, de la bahía de Minamata del Japón; sus aguas se contaminaron con compuestos de mercurio, provenientes de aguas industriales (de fábricas de papel y de lejía). Por otra parte, en sedimentos y barros de algunas aguas (últimamente en el puerto de Hamburgo), se encontra-

ron **microorganismos**, los cuales, igual que los peces, son capaces de sintetizar compuestos orgánicos de mercurio, aún más tóxicos que los inorgánicos.

3.1.3. El efecto tóxico del *cadmio* a través del aire y de los alimentos se conoce desde **1955** por la llamada Enfermedad Itai-Itai (gemido de dolor en japonés), atribuida al consumo de agua y arroz contaminados por minerales de zinc y cadmio que lo acompaña. También se ha informado de intoxicaciones por el uso de vajillas de plástico teñido de amarillo, anaranjado o rojo con compuestos de cadmio, al ser éstos solubilizados por ácidos o lípidos de alimentos.

Otros usos no alimentarios del cadmio en pigmentos y lacas, galvanizado, plásticos, electrónica y en la industria atómica lo convierten en el mayor tóxico del deterioro ambiental (15), sin que se pueda prescindir aún de él, también, p. ej. como protector de otros metales contra la corrosión.

Por otra parte, en los fumadores, los indicios de cadmio que contiene el tabaco son transportados, en el acto de fumar, a través de los pulmones a la sangre (15).

3.1.4. Sin haberse comprobado, según la OMS, que generalmente el contenido normal de estos tres metales en los alimentos sobrepase los límites de toxicidad, constituye un buen consejo para el consumidor de no incluir en su *dieta diaria*, riñón, hígado, hongos comestibles y pescados de agua dulce, sino de reservarlos a un consumo con menor frecuencia, por acumularse plomo, mercurio y cadmio preferentemente en estos productos alimenticios.

Como medidas tecnológicas de *descontaminación* pueden mencionarse el cuidadoso lavado de alimentos vegetales y el descascarado de frutas y cereales, lo que disminuye el contenido de estos tres metales. Este contenido depende de los diversos **grupos** de alimentos, para los cuales se han establecido ciertos límites como lo son aquéllos fijados por las Normas de la República Federal Alemana (30), expresados en mg/kg:

| | Plomo | Mercurio | Cadmio |
|------------------|--------------|-----------------|---------------|
| Leche | 0,05 | 0,02 | 0,0025 |
| Huevos | 0,2 | 0,03 | 0,05 |
| Carne de vacunos | 0,3 | 0,02 | 0,1 |
| Carne de cerdos | 0,3 | 0,05 | 0,1 |
| Hígados | 0,8 | 0,1 | 0,5 |
| Pescado | 0,5 | 1,0 | 0,05 |
| Verduras | 1,2 | 0,05 | 0,05 |
| Papas | 0,2 | 0,02 | 0,1 |
| Frutas | 0,5 | 0,05 | 0,05 |
| Cereales | 0,5 | 0,03 | 0,1 |
| Agua potable | 0,04 | 0,004 | 0,006 |

3.1.5. El **arsénico**, contenido en mayor cantidad en algunos mariscos (**ostras**, **almejas**) y peces, asumió mayor peligro por el agua potable, contaminada de origen mineralógico en algunas regiones cordilleranas (Antofagasta, Monte Quemado). El llamado hidroarsenicismo crónico regional endémico se manifiesta sobre todo por síntomas dermatológicos (**32**).

En cuanto a otros metales, muchos de ellos desempeñan un importante papel en el organismo, p. ej. al integrar sistemas enzimáticos, como sucede con **hierro**, **cobre** y **zinc**. Estos tres metales, junto al estaño, pueden servir a la vez como **indicadores de una contaminación** durante el procesamiento o envase de alimentos; sólo en exceso podrían tener algún significado toxicológico.

Un caso particular representa el **selenio** por poder causar una selenio-deficiencia, al actuar como protector hepático o una selenio-intoxicación, si no se ajusta su contenido, p. ej. en forrajes al nivel adecuado de 0,01 a 0,1 mg/kg (1, 2). Desde los suelos, los vegetales lo pueden incorporar en sus proteínas como Se-metionina y Se-cistina.

3.2. Contaminantes no metálicos, provenientes de una posible migración desde los envases al alimento, ya sea por **monómeros** tóxicos de materiales plásticos no bien polimerizados o por su desdoblamiento posterior; o bien, por acción de **coadyuvantes** tóxicos, agregados al material plástico para aumentar su flexibilidad, rigidez, o coloración. (La materia se discute en “Aditivos y Contaminantes” (**28**) del mismo autor).

3.3. Contaminantes constituidos por aniones, como nitratos y fosfatos. Pueden provenir de una fertilización excesiva al acumularlos los vegetales en sus tejidos, a partir del suelo. Pero los **nitratos** pueden formarse también en el vegetal por putrefacción de materia orgánica nitrogenada y aun por acción de las bacterias nitrificantes que asimilan el nitrógeno atmosférico y se desarrollan en algunas leguminosas.

En cuanto a los **fosfatos**, provenientes de detergentes y fertilizantes, contaminan aguas de desecho y forman masas flotantes de espuma (**28**).

3.4. Contaminantes de residuos de plaguicidas, o sea, el “depósito activo” sobre o en el vegetal a consecuencia de un tratamiento de protección vegetal.

Acerca de la devastación de la tierra por la langosta ya el Antiguo Testamento (Joel **1.4**) escribe: “lo que quedó de la oruga, lo comió el saltamontes, lo que dejó el saltamontes lo comió el escarabajo y la langosta comió lo que había quedado”.

A causa de los enormes porcentajes de pérdidas de alimentos por toda clase de animales dañinos, especialmente en los países en desarrollo, se requiere de medidas adecuadas de protección vegetal, pero eso sí, delimitando los plaguicidas por aplicar a las sustancias lo menos tóxicas posibles para el hombre, de desdoblamiento rápido durante los tiempos de espera de la cosecha al consumo

y con adecuados límites máximos de tolerancia en sus residuos para los diversos grupos de alimentos (43). Existe además la tendencia de ir reemplazando en el futuro, en lo posible, los plaguicidas químicos por medidas de protección biológica por ej. mediante la esterilización de machos, expuestos a estímulos sexuales o recurriendo a otros organismos capaces de devorar a los dañinos; o por el cultivo de variedades de vegetales que sean resistentes a ciertos organismos dañinos.

Especialmente en los plaguicidas “persistentes” puede llegarse a una peligrosa acumulación en el vegetal si persiste algo hasta el próximo período de vegetación. Aún después que algunos países hayan prohibido del todo algunos plaguicidas organoclorados, su persistencia llega al extremo de pasar a la leche materna aún bastante tiempo después de su prohibición (33,44).

Ultimamente se ha demostrado en la India que la malnutrición calórica-proteica hace aún más susceptible al organismo frente a la acción tóxica de plaguicidas, especialmente a los órgano-fosforados.

3.5. Contaminantes constituidos por Anabólicos, Tireostáticos y Antibióticos, administrados a animales.

Por su intervención en el metabolismo hormonal los anabólicos pueden producir una mayor retención de nitrógeno y con esto una mayor producción de proteínas; al agregarlos al forraje de vacunos aseguran su mayor aprovechamiento con aumento de peso en el animal. Pero, como estos anabólicos son hormonas sexuales se trata de sustancias de acción farmacológica y por lo tanto, no deben estar presentes en los alimentos (24); además, en el dietil-estilbestrol se ha comprobado un efecto cancerígeno.

En Alemania se produjo años atrás, con justificada razón, el llamado “escándalo del estrógeno sintético” al pesquisarlo en un alimento de uso infantil con carne de ternero. Se había administrado esta hormona femenina en los terneros masculinos para retardar su madurez sexual con el propósito de lograr una mayor formación de tejido muscular; lo que está naturalmente prohibido del todo.

Por otra parte, tampoco deben estar presentes en alimentos que llegan al consumidor tireostáticos y tranquilizantes, administrados a animales a través de su forraje para combatir estados de stress; en todo caso deben haberse eliminado totalmente antes de la matanza. Además, los tireostáticos: metil- y propil-tiouracilo tienen efecto sobre la glándula tiroideas.

En cuanto a los antibióticos se aplican en la alimentación animal para fines terapéuticos o preventivos y en menores concentraciones para un mejor aprovechamiento del forraje, con mayor crecimiento y engorda. Para estos fines deben usarse, sin embargo, sólo antibióticos que no se aplican en medicina humana con el objeto de evitar la formación de cepas resistentes y respetando en todo

caso los necesarios tiempos de espera entre la administración del medicamento y la matanza (24).

Existen también *antibióticos naturales* que se forman en ciertos productos alimenticios fermentados como en la fermentación láctea y acética de verduras fermentadas (choucroute, porotitos verdes, cebollitas, pepinos y berenjenas ácidas). Se caracterizan porque no son tóxicos para el organismo que las produce (bacterias lácticas y otras) pero son capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos causantes del deterioro del producto, sometido a fermentación.

Se explica la acción, tanto de los antibióticos naturales como de los agregados como tales para fines de preservación por la interferencia que ejercen sobre la pared celular del microorganismo sensible, afectando su actividad o la síntesis de sus componentes (como ser, sus mucoproteínas) o bien, la síntesis de sus proteínas o ácidos nucleicos.

4. Al prescribirse en Nutrición una dieta pobre en aporte **graso**, debe tomarse en cuenta no sólo la ingesta de grasas y aceites como tales, sino también las “grasas ocultas” contenidas en algunos alimentos en mayor proporción como p. ej. nueces, castañas y paltas, sin que el consumidor **se** percate corrientemente de ello. En forma semejante, al pasar revista a los contaminantes de variada índole que pueden afectar a los alimentos no puede dejar de mencionarse aquella pléyade de contaminantes de origen *microbiano o viral* y de las *toxinas* que los microorganismos pueden generar, **al** desdoblarse los componentes de los alimentos por sus, a veces, poderosos sistemas enzimáticos.

Sólo se mencionará en este contexto, que en general, una contaminación de esta naturaleza en un alimento requiere la concurrencia de las siguientes condiciones:

- a) presencia de un microorganismo causante;
- b) nutrientes necesarios para su actividad vital (en lípidos anhidros su desarrollo es difícil), haciendo que el alimento sea más o menos perecible; y
- c) circunstancias o parámetros favorables para el crecimiento microbiano, en cuanto a:
 - temperatura;
 - actividad de agua (a_w), o sea, la relación entre la presión de vapor de agua contenida en el producto alimenticio y la del agua pura, a la misma temperatura (10). En este contexto, el crecimiento de los microorganismos tiene lugar sólo a valores altos de a_w sobre 0,85 para bacterias, sobre 0,62 para hongos, en general, y sobre 0.79 para levaduras;
 - pH, variable según el microorganismo;
 - presencia o ausencia de oxígeno, de modo que el metabolismo del microorganismo debe realizarse dentro de ciertos límites del potencial de

óxido-reducción o redox. Dentro de la escala práctica, basada en las micropresiones de H_2 molecular (en la cual un rH_2 sobre **25** es considerado francamente oxidante y uno inferior a **15** como francamente reductor) las **bacterias anaerobias** requieren generalmente un rH_2 de **0 a 5** hasta **13** y las **aerobias**, entre **7 y 25** o aún **más** como sucede en levaduras; y —una producción deficiente y/o un almacenamiento prolongado del alimento en condiciones inadecuadas.

La consecuencia de la invasión microbiana es la generación de un **daño**, en el alimento mismo o en el organismo humano por su ingestión.

En el contexto de la contaminación microbiana, el Reglamento Sanitario de los Alimentos (**42**) hace especial y repetida mención de *E. coli*, coliformes, Salmonellas, Staphylococcus aureus, hongos y levaduras; sin poder incluir, naturalmente, todos los microorganismos que pueden afectar los alimentos, el hombre y los animales.

Sin embargo, Cumont (**47**) llama la atención que, fuera del Clostridium botulinum, corresponde también al Clostridium perfringens, Bacillus cereus, Campylobacter y Vibrio parahaemolyticus una importancia significativa como contaminantes microbiológicos de los alimentos.

Sobrepasaría el margen de la presente publicación sobre tóxicos químicos en alimentos entrar en el detalle de las diferentes toxinas y metabolitos, causantes de las intoxicaciones de origen bacteriano y también de las intoxicaciones de origen parasitológico, como se describen en forma amplísima en la literatura especializada y también en forma resumida en una publicación anterior del mismo autor (**2**).

5. Sin embargo, en el caso particular de las **micotoxinas** generadas por unos 200 hongos diferentes, se trata de contaminantes de alimentos y forrajes que ya se han identificado en su composición química definida, por lo cual es conveniente una referencia **más** detallada.

A esto se agregan las grandes implicancias relacionadas con la presencia de micotoxinas en alimentos y forrajes, tanto desde el punto de vista de su toxicidad para la **salud del consumidor** como de la **pérdida económica** que ocasiona este tipo de contaminación (**37**).

Se conocen actualmente más de **90** micotoxinas generadas como metabolitos de hongos, variando su estructura química según su especie, el substrato y las condiciones ambientales, lo que determina también la germinación de las esporas (las cuales ya pueden contener p. ej. aflatoxinas) y el crecimiento del hongo.

Los hongos productores de micotoxinas pueden infectar semillas y residuos oleaginosos (afrechos y tortas) de maní, girasol, algodón, soya, sésamo y raps;

nueces, avellanas, almendras, algunas frutas, los diferentes cereales y sus derivados, leguminosas y especias. Aunque pueden desarrollarse en productos lácteos, su presencia, igual que en los productos cárnicos es más bien una consecuencia de la alimentación de animales con forrajes contaminados.

Esta contaminación se facilita si los productos vegetales citados han estado en contacto con el suelo antes o durante la cosecha o si han estado acumulados en montones, sacos o silos. El desarrollo de estos hongos está relacionado generalmente con la termohigroscopia, es decir, con el estímulo por la temperatura y la humedad relativa, tanto de la atmósfera como del sustrato (a, 0,65-0,75).

Así las condiciones “ideales” para la formación de las aflatoxinas, por los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, p. ej. en el maní, se producen si éste se almacena entre 20 y 40°C con más de 9% de humedad y con unos 70-90% de humedad relativa en el aire. Pero aun en ausencia de estas condiciones, si ya han germinado algunas esporas en el sustrato, se pueden formar los llamados “nichos ecológicos” que favorecen el desarrollo de nidos del hongo generador de aflatoxinas, porque el micelio en crecimiento produce agua por respiración, aumentando así la humedad de semillas y granos (2).

Desde que el hombre se dedicó al cultivo de cereales se conoció la contaminación generada por el hongo *Claviceps purpurea* que forma en el ovario del centeno un micelio permanente o esclerocio llamado Sécale cornutum o Cornezuelo del Centeno por su forma de cuerno violáceo. Este hongo genera una serie de alcaloides, derivados aminoacídicos del ácido lisérgico. Siendo algunos de ellos de interés farmacológico, la intoxicación producida por ellos, llamada “ergotismo” con gangrenas en las extremidades y/o convulsiones fue el origen de grandes estragos en la Edad Media. Hoy día, perfectamente controlada por los progresos de la industria agrícola y molinera, esta contaminación se volvió a presentar, sin embargo, en 1951, en Zürich por ingestión de pan integral que contenía granos enteros de centeno infectado (13).

El interés por las micotoxinas se volvió a despertar súbitamente en 1960 por las muertes de 100.000 pavos alimentados en Escocia con tortas de maní proveniente del Brasil, el cual resultó contaminado por aflatoxinas.

Es interesante el hecho de que las Aflatoxinas descritas son químicamente derivados cíclicos de la difurano-metoxi-Cumarina (véase su estructura en referencia 2) cuya acción hepatotóxica ya se ha mencionado entre los aromatizantes tóxicos. Por esta toxicidad —la cual no se atribuye actualmente a su estructura química original sino a su ataque sobre los ácidos nucleicos: RNA y DNA después de su metabolización enzimática— las Naciones Unidas (Protein Advisory Group) habían fijado para las 4 aflatoxinas principales un máximo de 30 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$), pero éste fue rebajado posteriormente a 10 ppb, de los cuales no más de 5 ppb deben corresponder a la aflatoxina B₁ (24).

En países de clima subtropical como el nuestro, fuera de las aflatoxinas provenientes principalmente de productos importados son también de interés varias de las otras micotoxinas que se conocen actualmente y de las cuales algunas son generadas aun a temperatura muy baja (49).

Al grupo de las aflatoxinas pertenece también la *esterigmatocistina* y sus derivados que son algo menos tóxicas que las aflatoxinas pero que generalmente son generados en mayor concentración por otras especies del género *Aspergillus* (49).

Otra micotoxina relacionada químicamente con la cumarina es la *ochratoxina A* generada por el *Aspergillus ochraceus* y que es un derivado de la cloroisocumarina, combinada al grupo amino de la fenilalanina (véase su estructura en referencia 2).

Por otra parte, la *Patulina* o Clavicina se llama así por ser generada por el *Penicillium parvum* y el *Aspergillus clavatus*, fuera de otras especies de estos tipos de hongos. Químicamente es un derivado lactónico pentagonal de la y pirona (Fig. 2) y fisiológicamente tiene un efecto cito- y cardiotóxico, fuera de su poder antibiótico. Los hongos productores de patulina infectan preferentemente frutas como manzanas, uvas, tomates y los jugos y bebidas preparadas con ellas. También se han identificado en pan y en carne, proveniente de forraje contaminado.

Además debe mencionarse la *Zearalenona*, llamada también Toxina F-2, una lactona macrocíclica que es producida por hongos del género *Fusarium*, igual que las potentes micotoxinas pertenecientes al grupo de los *Tricothecenos* que son sesquiterpenoides *tetracíclicos* como el *Diaceroxiscirpenol*, *Fusariotoxina T₂*, y la *Vomitoxina*, entre otras. Se desarrollan con preferencia en cereales (ej. maíz) y papas (49).

La acción tóxica que ejercen las diferentes micotoxinas se debe precisamente a su poder antibiótico, o sea, "inhibidor de la vida" y puede manifestarse por un amplio espectro de efectos, de los cuales se resumen a continuación los predominantes:

Hepatotóxicos y cancerígenos: Aflatoxinas, Esterigmatocistina.

Teratogénicos: Aflatoxina B₁, Ochratoxina A.

Nefrotóxicos: Ochratoxina A, Citrinina.

Citotóxicos: Patulina.

Dermatotóxicos (piel y mucosas): Fusariotoxina T₂.

Estrógenos: Zearalenona.

Hemorrágicos: Fusariotoxina T₂.

Eméticos: Vomitoxina, Fusariotoxina T₂.

Cardiotóxicos: Patulina.

Alucinógenos: Ergotoxinas y Acido Lisérgico.

En lo que se refiere a la **desintoxicación de alimentos contaminados por micotoxinas**, en realidad, pueden considerarse sólo aquellos que no afectan sus propiedades nutritivas y sensoriales. Por lo tanto, la **separación selectiva** en forma manual, mecánica y/o fotoeléctrica de unidades dañadas como lo son granos mal desarrollados, quebrados, deformados, abortados o con colores extraños permite reducir considerablemente el contenido de aflatoxinas como lo es también el de patulina por recorte de tejidos alterados o putrefactos en frutas (49).

Siendo las micotoxinas, en general, bastante resistentes al calor, en los aceites comestibles, afortunadamente, su refinación con tratamiento alcalino y blanqueo con tierras absorbentes los libera de micotoxinas; también la tostación del maní rebaja su contenido en aflatoxinas.

En el caso de **forrajes** es de interés una desintoxicación de micotoxinas por **extracción con disolventes** como el agua, sola o con sal, etanol, isopropanol (a 42°C), acetona con agua o específicamente para aflatoxinas, éter dimetílico (14).

En cuanto a la desintoxicación por destrucción de micotoxinas con **agentes químicos**, ellas son sensibles a los álcalis, siendo el tratamiento con amoníaco gaseoso bajo presión y temperatura el método químico más eficaz para desintoxicar forrajes. El bisulfito (200 mg SO₂/kg) puede eliminar micotoxinas como la patulina y también algunos **oxidantes** como cloro gaseoso, hipoclorito, peróxido de hidrógeno y ozono se han aplicado con éxito para destruir micotoxinas.

6. Por su gran importancia actual en la contaminación del agua y de los alimentos no pueden dejar de mencionarse también los **virus**. La Dra. **M. I. Vergara R.** (38) los define como agentes infecciosos submicroscópicos, estrictamente intracelulares y potencialmente patógenos para vegetales, animales y el hombre. Su núcleo central o genoma posee un solo tipo de ácido nucleico, sea **RNA** o DNA y que se sintetiza por catálisis autogénica de este material genético en la célula infectada, produciendo su destrucción parcial o total. Está protegido por una capa proteica y en algunos casos presenta una tercera envoltura o manto con características antigénicas.

Entre los virus que contaminan los alimentos y aguas se encuentran los **Enterovirus**, cuya principal vía de transmisión es la fecal-oral, **Virus de la Hepatitis A** (capaz de resistir el cloro en la desinfección de aguas), **Virus del Agente de Norwalk**, causante de enteritis en adultos y **Virus Rotavirus**, responsables frecuentes de diarreas infantiles.

Puede distinguirse entre la **contaminación primaria**, en que el virus está directamente presente en el alimento mismo, como por ej. en vegetales contaminados por terrenos de siembra o pescados y mariscos por aguas servidas y la

secundaria en que el alimento ya cosechado o producido es contaminado por los manipuladores o los recipientes o útiles infectados. Por otra parte los insectos como la mosca doméstica y las baratas actúan como **vectores** en la transmisión de virus a alimentos y el agua, en los cuales los virus pueden tener una prolongada presencia en estado latente, a causa de su resistencia a los factores ambientales y químicos.

Entre los **agentes que destruyen** la mayoría de los **virus** se encuentra el cloro (en ausencia de compuestos nitrogenados) yodo y yodóferos y, por otra parte, la radiación ionizante a dosis altas (más de 10 Gray; siendo 1 Gray (Gy) = 1 joule de energía absorbida por kg de materia tratada); la porción ultravioleta de la luz solar sólo actúa sobre los virus en la superficie de los alimentos.

Como los virus son incapaces de multiplicarse fuera de la célula viva huésped el **diagnóstico viral** se efectúa por cultivos celulares obtenidos a partir de tejidos humanos o de animales de laboratorio, tradicionales o en huevos embrionarios.

VII. SUSTANCIAS TOXICAS GENERADAS EN LA PREPARACION INDUSTRIAL Y/O CASERA DE ALIMENTOS

Estos tóxicos pueden originarse principalmente en 4 casos diferentes:

1. Elaboración de algunos alimentos en recipientes, utensilios de cocina, maquinarias o cañerías de *material inadecuado*.

Fue ya en **1893** que el profesor Angel Vázquez de la Universidad de Chile realizó un peritaje sobre la contaminación de un “dulce de guindas” por zinc (31). Más tarde nosotros analizamos una salsa de tomate que se había concentrado en una palangana de hierro galvanizado que cedió zinc (en el sur de Chile) igual que la preparación de helados en recipientes del mismo metal (en Inglaterra). **Ambos** casos produjeron graves trastornos gastro-intestinales por el exceso de zinc; lo que ha sucedido también con antimonio, cadmio y cromo. Se ha prohibido en utensilios culinarios el revestimiento anti-adhesivo con cromatos, pues el Cr hexavalente es especialmente tóxico.

2. *Frituras, asado y panificación* con exposición prolongada de grasas y aceites al **aire** y al calor. Se originan más de 90 compuestos de mayor o menor toxicidad, como: peróxidos, hidroperóxidos, epóxidos, aldehídos, ácidos atípicos y polímeros que pueden ser también causantes de trastornos gastro-intestinales y hepáticos.

El grado de deterioro depende de la *temperatura* (sobre 180°C), *composición* del lípido (posición del ácido graso en el triglicérido), presencia de *humedad* y *tiempo* de calentamiento, aumentando un calentamiento intermitente seguido de enfriamiento más los polímeros que un calentamiento continuo.

Los polímeros y peróxidos disminuyen el valor nutritivo del lípido; además, los peróxidos de ácidos grasos no saturados inhiben enzimas con grupos sulfhidríficos.

Como medida de protección, la adición de alfa-Tocoferol tiene efecto antioxidante, a la vez que disminuye la toxicidad de los peróxidos que se forman.

En este contexto debe mencionarse también la disminución del valor nutritivo que involucra el *pardeamiento no enzimático* y la *caramelización* en los alimentos (41).

3. *Ahumado* de productos *cárnicos* y de pescado y *calentamiento prolongado* a la parrilla (sobre todo con *carbón* de leña) de carnes y derivados.

Ya en 1915 se observó la aparición de tumores en la piel de ratas y conejos que se había embadurnado varias veces con alquitrán (24). **Años** después, se aislaron como causantes una serie de *hidrocarburos policíclicos aromáticos*; se conocen más de 200 de estas sustancias. El más representativo de ellos es el *3,4-Benzopireno* (Fig. 3) **otros** son: benzoantraceno, benzofluoranteno, fenantreno, benzopirelino, indenopireno, metilcolantreno.

Pertenecen, junto a las aflatoxinas y las nitrosaminas, a los cancerígenos más potentes. Se *hidrolizan* en el organismo por vía enzimática, atribuyéndose su efecto cancerígeno a los *epóxidos* que generan (24, 39). Pertenecen también a los componentes tóxicos del humo de *cigarro* y de las emanaciones gaseosas, provenientes de vehículos motorizados, calefacción y combustión de basuras.

También se ha encontrado benzopireno en verduras, cereales y aceites, pues los vegetales lo absorben del suelo y del *aire*, sin poder sintetizarlo. En una alimentación mixta comente, la ingesta diaria de benzopireno no superarla, sin embargo, los 3 pg.

En cuanto a las pequeñas cantidades de benzopireno que se forman en la *tostación del café* este hidrocarburo se acumula en los granos quemados y en las envolturas de las semillas, como también en la masa alquitranosa que rodea la pared interior del tambor tostador.

En productos *cárnicos*, el benzopireno se ha limitado a un máximo de 1 ppb ($=\mu\text{g}/\text{kg}$).

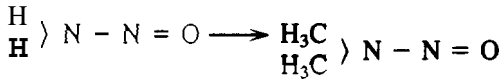
Por este motivo, la determinación de estos hidrocarburos asume mucha actualidad: el extracto hecho con ciclohexano y purificado con difenilformamida y agua (9 + 1) se puede aplicar en una cromatoplaque con zona de concentración, usando como líquido de arrastre, acetonitrilo, diclorometano y agua (9 + 1 + 1) durante 20-25 min. Se forman manchas fluorescentes, comparables con manchas de un patrón.

También se determinan por cromatografía gaseosa con capilar de vidrio y detector de llama o mejor por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

Para identificar benzopireno y benzantraceno en gases residuales o de desecho se puede recurrir también a su separación por anhídrido carbónico en condiciones supercríticas (33-39°C y 98-210 bar). Véase Capítulo X.

4. *Aplicación tecnológica de Nitritos o Nitratos en alimentos cárnicos*, con posible formación de NITROSAMINAS de efecto cancerígeno.

Químicamente se trata de derivados alquílicos de la nitrosamida:



Su acción tóxica se descubrió en **1934**, cuando a un químico se le quebró un frasco con nitrosamina sintetizada por él. Aspira intensamente sus vapores y muere a las 6 semanas.

Por otra parte, así como en Escocia, en **1960**, la muerte masiva de pavos se debió a maní infectado con *aflatoxinas* cancerígenas, años más tarde los graves daños hepáticos observados en rumiantes y animales pelíferos en Noruega tuvieron su origen en la ingestión de harinas de pescado, ricas en metilaminas y tratadas a la vez con nitritos para su conservación, especialmente para protegerlas contra los Clostridium. En efecto, las *nitrosaminas* se forman toda vez que una amina nitrosable pueda reaccionar con un agente nitrosante, como son los nitritos. Es el anhídrido nitroso, proveniente del nitrito el que forma con la amina a la nitrosamina (**14**).

Desde tiempos remotos se aplica la sal, adicionada de salitre (nitrato de sodio) para el llamado “*curado*” de productos cárnicos destinado al desarrollo y estabilización del color y aroma (**10**).

Además, el *aguapotable* y las *hortalizas*, como espinacas, acelgas, zanahorias, betarragas, lechugas, apio, rábanos y nabos pueden contener mayores cantidades de nitratos, provenientes de una fertilización excesiva. Estos nitratos pueden experimentar fácilmente una *reducción* a los peligrosos nitritos por dos mecanismos:

- por *factores físicos*, por metales como hierro o manganeso, presentes por ej. en aguas, en ausencia de *aire* o
- por *contaminación microbiana*, proveniente ya sea de la misma verdura o por la microflora de la boca (saliva) y sobre todo del tracto intestinal (E. coli, coliformes, Citrobacter, Enterobacter) que actúa a través de nitroreductasas.

La *toxicidad de los nitritos* reside en dos aspectos:

- su acción *meta-hemoglobinizante* y *cianótica*, a la cual son especialmente sensibles los lactantes durante los 3 primeros meses; por este motivo el Reglamento Sanitario de los Alimentos (**42**) (**Art. 202**, letra c) indica que alimentos de uso infantil a base de las hortalizas mencionadas deben usarse sólo en niños mayores de **3** meses. *Otras* reglamentaciones permiten sólo un máximo de **250 ó 300** mg/kg de nitratos y de **5** mg/kg de nitritos en alimentos de uso infantil. Papas con más de **100** mg/kg de nitratos son consideradas como sobrefertilizadas. Por otra parte, la ingesta diaria admisible (ADI) se

considera en **5 mg/kg** de peso corporal para nitratos y en **0,2 mg/kg** de peso corporal para nitritos.

— su posibilidad de generar *nitrosaminas* de evidente acción cancerígena.

En este sentido el organismo humano puede quedar expuesto a nitrosaminas y nitrosamidas por dos mecanismos (9):

a) Por *vía exógena* a través del medio ambiente que lo rodea. En la atmósfera es posible que aminas libres reaccionen con óxidos de nitrógeno, especialmente donde una elevada concentración de SO_2 produce condiciones ácidas; en el humo de tabaco y en diferentes alimentos y bebidas que contienen nitrosaminas *preformadas*, como cereales, carnes, pescados y quesos (hasta **50 ppb** de dimetilnitrosamina).

Llamó la atención el contenido relativamente alto en *cervezas*, con **11 ppb** en las oscuras y concentradas. Esto se debió a los gases residuales con *óxidos de nitrógeno* que se desprendían de los mecheros destinados a calentar el *aire* para desecar la malta; éstos actuaron sobre *aminas secundarias*, liberadas durante la germinación a partir de la hordeína de la cebada, con formación de nitrosaminas (39).

Una modificación de los mecheros en los hornos de desecación de la malta redujo considerablemente el contenido de nitrosaminas de la cerveza: un excelente ejemplo de la intervención de la tecnología para aminorar un riesgo de toxicidad.

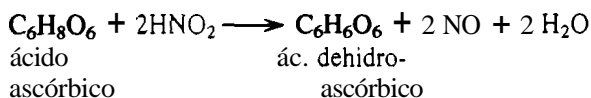
También se comprobó en este contexto la disminución del contenido en nitrosaminas en la cerveza, al tratar la malta por desecar, con anhídrido sulfuroso, como inhibidor de la nitrosación.

b) Por *vía endógena* o “in vivo” la cual es más significativa y consiste en la formación posible de nitrosaminas en el tracto gastro-intestinal del hombre, al reaccionar *precursores no cancerígenos* como son los compuestos amino (aminas, de aminoácidos, proteínas y amidas) con los *nitritos, gases nitrosos o nitratos*, capaces de reducirse a nitritos.

En comparación con los otros 2 tipos de cancerígenos más potentes: aflatoxinas y los hidrocarburos policíclicos aromáticos las nitrosaminas resultaron *carcinogénicas* en el **80%** de los ensayos practicados en animales, sin que se conozca una sola clase de mamífero, roedor, *pez* o ave que se haya mostrado resistente a esta acción. A diferencia de *otros* cancerígenos químicos las nitrosaminas presentan, además un espectro muy amplio de acción: producen tumores malignos en todos los órganos importantes, con características patológicas muy parecidas a las que se observan en el hombre. Generalmente las dosis necesarias para generar tumores son muy bajas: **1-2 ppm** de dimetilnitrosamina o de dietilnitrosamina y **5 ppm** de nitrospirrolidina en el forraje son cancerígenas en el ratón (9).

En cuanto al **grado de nitrosación**, o sea, a las concentraciones en que pueden formarse las nitrosaminas por las vías mencionadas depende de varios parámetros que conviene tener presente:

- Fuera de la naturaleza del medio en que se forman, tiempo de reacción, temperatura, luz y humedad es de bastante relevancia el **pH**, siendo óptimo para la nitrosación un margen de 2,5 a 3,5, coincidente con el pH del contenido gástrico después de la ingestión de alimentos (14).
- Actúan como **catalizadores** de la reacción de nitrosación: los tiocianatos (la saliva de los fumadores los contiene en mayor concentración) halógenos, aldehído fórmico y posiblemente ácido clorogénico, complejos metálicos y sustancias tensioactivas. También se ha estudiado una posible **acción sinérgica**: una dosis no cancerígena de dimetilnitrosamina administrada con hidrocarburos policíclicos aumentó la incidencia de tumores en hamsters. Por otra parte, se ha establecido la conveniencia de que en el curado de productos cárnicos el nitrito permanezca separado de las **especies** que se agregan, pues su mezcla previa con los nitritos puede favorecer la formación de nitrosaminas. Esto se ha comprobado especialmente en el contacto prolongado del nitrito con pimienta negra y con ají, generándose nitroso-piperidina, respectivamente nitroso-pirrolidina (13); estos derivados pueden formarse también por calentamiento de nitrito con los aminoácidos, prolina y lisina.
- Naturalmente es de especial interés el conocimiento de **inhibidores** de la reacción de nitrosación: **anhídrido sulfuroso/bisulfito**; aunque no inhiben los compuestos con grupos sulfhidrúlicos pues éstos pueden formar con nitritos, nitrosotioles, próximos a las nitrosaminas. Sin duda, el inhibidor más eficaz es el **ácido ascórbico y** su sal sódica, al favorecer la transformación del ácido nitroso en óxido nítrico y con ello la formación de la nitroso-mioglobina roja; lo que permite ahorrar dosis de aplicación de nitrito:



También los taninos y algunos compuestos fenólicos existentes en alimentos pueden tener cierto efecto inhibitor; en mayor grado lo presenta el **alfa-tocoferol**, siendo oxidado a alfa-tocoquinona, mientras que el anhídrido nitroso es reducido a óxido nítrico (14).

Con la adición simultánea de ácido ascórbico y/o su sal sódica, el desarrollo

de aroma, color y sabor en productos *chicos* puede **lograrse** con una cantidad de nitrito que no sobrepasa los 100 mg/kg en producto terminado.

Aun se ha propuesto reducir el nitrito a 40 mg/kg, en presencia de **550** mg/kg de ascorbato de sodio y 2.6 g/kg de sorbato de potasio. Existen también patentes en **USA** que utilizan la adición de butilhidroquinona terciaria y ésteres del ácido *p*-hidroxibenzoico como inhibidores de la nitrosación.

Además debiera permitirse la aplicación del nitrito sólo en mezcla con **sal** comestible con no más de **0,496** de nitrito y sin nitratos **y** agregarse exceso de ácido ascórbico o su **sal** sódica (hasta **0,5** g/kg).

Los pescados no deben adicionarse de nitrito pues pueden generar dimetilnitrosamina a partir de la di- y tri-metilamina que **se** forman fácilmente aun en una descomposición bacteriana incipiente. También las pequeñas cantidades de **nitrato** del agua de mar hacen que los pescados de agua de mar y aquellos que **se** conservan en ella contengan más dimetilnitrosamina que los pescados de agua dulce (13).

La problemática de la admisión de nitritos en la tecnología de productos *cárnicos* tendría su solución ideal en el reemplazo del nitrito por otro compuesto que reúna la ventaja de su efecto **útil**, al evitar el desarrollo de bacterias del género *clostridium* y **a** la vez servir **al** desarrollo de los caracteres organolépticos; en este sentido se han ensayado la butilhidroquinona terciaria y el nitroprusiato de sodio, sin llegar al éxito anhelado.

En el intertanto, la reducción del riesgo por nitrosaminas o toxina botulínica mediante el empleo mínimo y bien controlado de los nitritos será el mejor camino.

En este contexto J. Causeret **(18)** propone una serie de medidas bien precisas para rebajar el nivel de ingestión de **nitritos**, nitratos y nitrosaminas por el hombre:

- rebajar la contaminación de *hortalizas* por nitratos, evitando también su reducción microbiana durante su **almacenamiento**;
- rebajar el nivel de nitratos en **aguas potables**;
- rebajar reglamentariamente a las cantidades mínimas **necesarias** el uso de nitritos y nitratos como **aditivos alimentarios**;
- controlar el nivel de contaminación de **leche** en polvo y de algunos **quesos** por nitratos y/o nitritos; **y**
- controlar las cantidades de **nitrosaminas**, existentes en los alimentos.

Desde el **punto de vista analítico** interesa la dosificación de **nitrito y nitrato** en productos *cárnicos* (ver referencia **10**) y la detección de las **nitrosaminas**. **De**

aquellas que son volátiles, como la N-Nitroso-dimetilamina, la N-Nitroso-pirrolidina y la N-Nitroso-piperidina, la cromatografía gaseosa en combinación con la espectrometría de masa ha permitido establecer concentraciones de **1 a 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$** en jamones, tocino y derivados lácteos. En la determinación de compuestos N-nitrosos no o difícilmente volátiles **se** están aplicando la nanocromatografía en capa fina con uso de scanner para la cuantificación, y la cromatografía líquida de alta eficiencia con la preparación de derivados adecuados por metilación o silinización.

RESUMEN DE ALIMENTOS CON COMPONENTES NATURALES,
ANTIFISIOLOGICOS Y/O ANTINUTRICIONALES

| ALIMENTO | COMPONENTES | ACCION |
|--|--|---|
| Aromáticos, esencias | Cumarina Tuyona Safrol, Estragol Miristicina | Cancerígena Neurotóxica Tóxico-hepática |
| Verduras Espinaca, Acelga, etc. | Fibra Nitratos Acido oxálico | Disminuye biodisponibilidad Se reducen a Nitritos Liga minerales esenciales |
| Fréjol o Poroto | Oligosacáridos Faseolotoxina Glucósidos cianogénéticos | Trastornos digestivos |
| Soya y otras Leguminosas | Factores antitripticos Saponinas | Mal digestión proteica y pérdida proteínas endógenas |
| Arvejas chícharos (lathyrus sp.) | β -amino-propion-nitrilo y ácido oxalil-mino-butírico | Neurolatirismo (osteolatirismo) |
| Garbanzos | Falta de metionina | Cicensmo: parálisis |
| Habas | Vicina y Convicina por deficiencia hexosa- fosfato-dehidrogenasa de eritrocitos | Fabismo: anemia hemolítica |
| Lupino | 26 alcaloides (lupanina) | Sabor amargo |
| Colza o Raps Mostaza; Repollo, coles | Isotiocianatos Goitrina Acido erúxico | Bociógenos Id. Infiltración grasa de miocardio, hígado |
| Cereales | Prolaminas Factores antitripticos Acido fítico | Enf. celiaca. sprue Pérdida proteínas endógenas Liga Ca, Fe, Cu |
| Pescado, Mariscos | Tiaminasa | Destruye Vit. B ₁ |
| Clara de huevo | Avidina (nucleoproteído) Ovomucoide (glicoproteído) Conalbúmina | Anti-Vitamina H Antitriptico Liga Fe, Cu |

VIII. INCOMPATIBILIDADES ENTRE ALIMENTOS Y MEDICAMENTOS INGERIDOS SIMULTANEAMENTE

Desde el momento que los medicamentos administrados por vía oral llegan al organismo a través del tracto gastro-intestinal, por la misma vía que los alimentos consumidos, es posible una acción recíproca entre los *alimentos* o sus integrantes y los *medicamentos* que se ingieren al mismo tiempo.

1. Según G. Czok (21) estos efectos recíprocos pueden producirse de dos maneras: el *alimento* o sus metabolitos puede afectar la absorción y/o el traslado del medicamento a su lugar de acción o bien el *medicamento* puede influir sobre la debida absorción o desdoblamiento del alimento y de sus componentes.

1.1. En cuanto al primer aspecto, es conocida la administración de un *medicamento en ayunas* para lograr su rápida absorción, pudiendo pasar pronto por el estómago al intestino delgado, desde donde es transportado por el torrente circulatorio de la sangre, después de atravesar la mucosa intestinal.

En cambio, si se ingiere el medicamento *con la comida o* después de ella, permanecerá más tiempo junto con el alimento y su efecto será más retardado y atenuado.

1.2. A veces puede suceder también que el medicamento forma con algunos componentes de alimentos *complejos poco* solubles que resultan de difícil absorción. Czok (21) cita al respecto los complejos insolubles que puede formar la *tetraciclina* con el *caseinato de calcio* de la leche y derivados de manera que su ingestión conjunta está contraindicada.

1.3. En el contexto de los *antibióticos* es conocida la incompatibilidad de éstos con la ingestión simultánea de bebidas alcohólicas.

1.4. Graves trastornos después de ingerir alcohol junto con algunos hongos comestibles como *Boletus luridus* se atribuye al contenido de estos hongos en Antabus o *tetra-etil-tiourano-disulfuro*: $(C_2H_5)_2NC(S)-S-S-(S)CN(C_2H_5)_2$, producto usado precisamente para quitar el hábito a los alcohólicos crónicos.

1.5. Por otra parte, **residuos de antibióticos**, como de penicilina, excretados por la leche, puede producir reacciones adversas en personas sensibles, fuera de inutilizar la leche que los contiene para la elaboración posterior de productos cultivados como el yogur, por la acción inhibitoria de los antibióticos sobre los gérmenes lácteos. Además, la penicilamina disminuye la apreciación del sabor (hipogeusia).

1.6. La absorción de **hierro**, suministrado por medicamentos y también de hierro contenido en alimentos puede ser inhibida por formación de complejos difícilmente solubles con las proteínas de la leche.

También los **taninos del té**, consumido en exceso, forman complejos con el hierro no hemínico (de origen vegetal), inhibiendo su absorción. Con esto, constituyen un riesgo de anemias en niños si éstos no ingieren a la vez hierro hemínico (por ej. de carne); en todo caso se recomienda suministrar el té varias horas antes o después de las comidas para evitar esta incompatibilidad (55).

1.7. Muchos medicamentos se ingieren **juntos** o **después de las comidas** si se desea impedir una acción irritante sobre la mucosa gástrica, como sucede con los medicamentos salicílicos; pero también un contenido muy elevado de grasa o de proteína en la dieta puede modificar el metabolismo de algunos medicamentos. Ciertas verduras como repollos y coles pueden acelerar la metabolización de la fenacetina y de otros fármacos. Por otra parte, una comida rica en grasa o aceite acelera la absorción de medicamentos y vitaminas liposolubles (13).

Otros casos de problemas por ingestión simultánea de medicamentos y alimentos son los que **se** refieren a la ingestión de **aspirina** conjuntamente con alimentos que contienen algunos **aditivos** autorizados como algunos colorantes (tartracina y aun algunos naturales) o antisépticos (benzoato de sodio, anhídrido sulfuroso) generando, en ciertas personas, síntomas de tipo alérgico (8).

2. En cuanto ahora al segundo caso, en que es el medicamento el que puede ejercer una acción perjudicial sobre la debida **absorción o metabolismo** de los componentes de un **alimento**, fue en 1966 que Blackwell y Barley (22) llamaron la atención sobre ciertos trastornos patológicos que aparecieron en forma repentina después de la ingestión simultánea de distintas variedades de **queso** (Stilton, Camembert, Gouda, Gruyere) y de medicamentos del grupo de los **psicofármacos** y **tranquilizantes** como las fenotiazinas y sulfoureas. Se explica esta toxicidad por la acción inhibitoria que ejercen estos medicamentos sobre la enzima monoaminoxidasa (**MAO**) que se encuentra en la mucosa intestinal. **De** esta manera **se** interfiere la oxidación y con ello **la inactivación de algunas aminas** que **se** forman por **descarboxilación** de **aminoácidos** ya sea en el queso mismo o en el organismo después de su ingestión (23).

Estas aminas, llamadas biogénicas, de efecto hipertensor, son la **triptamina** o amino-etil-indol, su metabolito: **serotonina** o 5-hidroxitriptamina y la **tiramina** o **4-hidroxifenil-etilamina**, cuya estructura y acción se parecen a las de la adrenalina, teniendo la tiramina aún el efecto de poder liberar nor-adrenalina a nivel de las terminaciones nerviosas simpáticas. Como síntomas de la intoxicación se manifiestan agudas **hipertensiones** y por consecuencia: cefalea, taquicardia, vómitos y, en los casos graves, aun fallas cardíacas o hemorragias cerebrales.

En las aminas biogénicas se incluye también la **histamina** o imidazolil-etilamina, resultante de la descarboxilación del aminoácido histidina; aunque la histamina es un vasodilatador y por lo tanto hipotensor, fuera de su manifiesto efecto alergénico.

Esta incompatibilidad medicamentosa entre tranquilizantes y la ingestión simultánea de alimentos se presenta también con algunos pescados y frutas, como plátanos, ciruelas, tomates y vinos (60, 61). (Acercas de su determinación, véase Capítulo X).

2.1. Sin embargo, son más frecuentes los casos de **medicamentos** que modifican o trastornan el metabolismo, la absorción o la eliminación (por vía renal o intestinal) de ciertos **nutrientes** como minerales y vitaminas o de otros **medicamentos** como las hormonas. Así los barbitúricos y las hormonas anticonceptivas pueden desencadenar una inducción enzimática, es decir, un aumento en la producción de enzimas desintegradoras en la célula hepática, de manera que algunas **vitaminas** y **otras hormonas** se descomponen tan rápidamente que pierden su eficacia.

Entre las vitaminas son especialmente sensibles la tiamina, la B 12 y el ácido fólico.

Así, el **ácido fólico** puede perder la propiedad de transformarse en el organismo en su forma activa, el ácido folínico o bien puede interferirse su síntesis por la flora intestinal, al ser ésta afectada por sulfonamidas o antibióticos o ingeridos simultáneamente.

La **tiamina** administrada conjuntamente con **diuréticos** es eliminada rápidamente por vía renal, sin ejercer su acción, por su gran hidrosolubilidad; mientras que es destruida por la acción alcalina de **bicarbonato** si éste es ingerido simultáneamente.

En el caso de la absorción de la **vitamina B12** es interferida en su acción por el ácido para-amino-salicílico y otros medicamentos.

2.2. Existen también medicamentos como los derivados de la **tiourea** y de la **sulfanilamida** que impiden la utilización adecuada del yodo suministrado por verduras y **frutas**, generándose el llamado "bocio yatrogénico" (causado por medicamentos).

2.3. Por otra parte, el uso exagerado o continuado de *laxantes* produce una pérdida de *electrólitos* por el intestino a través de las evacuaciones frecuentes y muy fluidas, observándose una atonía de la musculatura lisa, por la pérdida de *potasio*. La ingestión de *parafina líquida* como laxante produce una pérdida de vitaminas liposolubles por disolverse éstas también en la parafina evacuada.

3. Todos estos ejemplos demuestran la necesidad de seguir investigando los procesos *metabólicos* por los cuales los medicamentos ejercen su acción para conocer más a fondo las múltiples relaciones que tienen entre sí y con los componentes de los alimentos que se ingieren conjuntamente.

4. Por otra parte, una interacción favorable y aún necesaria *ocurre* a veces *entre nutrientes*, como se presenta en la absorción de *hierro* con la presencia simultánea de ácido ascórbico como reductor y entre los aceites poli-insaturados y el tocoferol que los protege contra su peroxidación (8).

IX. DIAGNOSTICO DE INTOXICACIONES COLECTIVAS POR ALIMENTOS

Según Grau (2) *se* puede sospechar una intoxicación colectiva por alimentos cuando varias personas en aparente estado pleno de salud son atacadas bruscamente por afecciones gastrointestinales después de la ingestión de un mismo alimento, guiso o comida. También es frecuente la desaparición brusca de estos síntomas, especialmente si se trata de algunas intoxicaciones de origen microbiano.

Con el objeto de aclarar la posibilidad de una intoxicación por alimentos es conveniente tratar de establecer lo que podría calificarse de “historia del alimento” a base de una encuesta con un conjunto de preguntas para llegar a un inventario lo más completo posible acerca de los alimentos y bebidas ingeridas en la ocasión. Estas preguntas se relacionan con *las personas involucradas* y las *inspecciones* que *se* señalan a continuación:

1. *Personal encargado* de la preparación y servicio de los alimentos:
 - a) *Menú completo* ingerido por las personas que enfermaron, tratando de averiguar también el estado de las materias primas, el procedimiento seguido en su preparación y eventual método de preservación, aplicado en algún guiso.
 - b) Si sucedió el caso de personas que concurrieron y *no enfermaron*, es útil conocer los guisos que ellos comieron a fin de establecer alguna sospecha y/o poder descartar algún alimento o guiso.
 - c) *Tratamiento* que se ha dado a los alimentos desde la compra de las materias primas hasta ser servidos. El *tiempo* y la *temperatura* durante un posible almacenamiento hasta su ingestión son importantes.
 - d) Averiguar, si se han servido *platos recalentados*, proceso que ha podido actuar como “estufa de cultivo” para el desarrollo de microorganismos, sus toxinas y metabolitos.
 - e) Examinar las condiciones en que se encontraban los *utensilios de cocina* y averiguar el uso eventual de *detergentes de limpieza* para establecer una posible intoxicación de origen químico. Igualmente el conocimiento de la higiene ambiental del *local* es importante.

- f) Establecer el estado de salud del *personal manipulador* de los alimentos cuestionados, tomando en cuenta si existen entre ellos “portadores sanos” de microbios patógenos como por ejemplo de difteria y disentería.
 - g) Reservar, para posteriores análisis, posibles *sobrantes* del alimento sospechoso, guardándolo al frío y a base de una toma de muestras lo más aséptica posible.
2. **A** las *personas afectadas* o relacionadas con la intoxicación conviene formular, además, las siguientes preguntas:
- a) **Tiempo** entre la ingestión y la aparición del primer malestar. Este período es generalmente corto en las intoxicaciones de origen químico (10 min a 2 horas) y más largo en las de origen microbiano (1½ a 5 horas, excepto en el botulismo en que llega a 8 horas). **A** veces también una intoxicación química aparece con tardanza.
 - b) Naturaleza y duración de los *síntomas*.
 - c) Peculiaridades en *aspecto, color, olor o sabor* de un alimento o guiso.
3. **Examen médico** de las personas afectadas, con la asesoría eventual de un Centro de Información Toxicológica, para la debida constatación clínica.
4. **Análisis químico**, de variada índole, según la sospecha del caso.
5. **Análisis microbiológico** de bacterias, toxinas o metabolitos, practicados en *muestras* sobrantes de alimentos sospechosos y en las *personas* relacionadas con la intoxicación, sean manipuladoras o afectadas; en cuanto a excrementos (coprocultivo), suero y vómitos, si estos últimos han aparecido rápidamente después del consumo. En este contexto también una secreción naso-faríngea o una afección cutánea purulenta de un manipulador puede ser, a veces, decisivas para un examen microbiológico, con resultados exitosos.

Pr. M. Chaumont (48) resume en forma magistral las conclusiones a las cuales se ha llegado en una Sesión Conjunta celebrada en 1985 por las Sociedades de Medicina Legal y de Expertos Químicos de Francia sobre la temática de las Intoxicaciones Colectivas:

- 1. **Rapidez y prontitud** en las operaciones iniciales de la investigación. Esto rige especialmente para las tomas de muestras y la debida conservación de sobrantes de alimentos pues su demora puede causar un cambio en la flora microbiana de un producto perecible, de modo que el examen microbiológico ya no refleja el estado en el momento del consumo.
- 2. **Severidad escrupulosa** en todo lo relacionado con la encuesta, toma de muestras, exámenes y análisis microbiológicos y/o químicos.
- 3. **Prudencia** en la interpretación de los resultados obtenidos.

Sólo así se podrá prestar una ayuda eficaz a la eventual administración de la justicia en un dominio en el cual la sensibilidad de la opinión pública puede exacerbarse fácilmente (48).

X. TECNICAS ANALITICAS PARA LA DETERMINACION DE ALGUNOS TOXICOS EN ALIMENTOS

1. *Control de hemoaglutinina en fréjoles y soya calentados pam su destrucción*

Jaffé (3, 7) ha comprobado una buena correlación entre la acción hemoaglutinante y la toxicidad intraperitoneal en ratas, al trabajar con extractos de diferentes variedades de *Phaseolus vulgaris*.

Para el debido control de calidad del tratamiento térmico, al cual se haya sometido el fréjol u otra leguminosa, la presencia de hemoaglutinina se puede comprobar por la siguiente **Prueba de aglutinación:** 10 g de muestra molida se suspenden en 50 ml de solución de NaCl al 0.85% en agua, se agita durante 2 horas y se filtra. Por otra parte, se centrifuga sangre fresca de conejo, obtenida con anticoagulante, se decanta el plasma, se lavan los glóbulos dos veces con la solución salina y se vuelven a suspender en ella. En una serie de tubos pequeños o una placa de toque (de porcelana, con concavidades) se colocan sucesivas diluciones del extracto anterior, sirviendo a la vez una solución salina sola como control negativo. A cada concavidad o tubo se agrega 1 ml de la suspensión de glóbulos rojos y se mezcla. Después de 1 hora se agita suavemente cada mezcla y se observa hasta qué dilución hay aglutinación (conglomeración y adherencia) entre sí y al vidrio del tubo o a la porcelana de la placa.

También se ha propuesto para el control del tratamiento térmico de la soya substituir esta determinación visual por un método espectrofotométrico que se basa en la observación de que la velocidad de sedimentación de los glóbulos rojos de conejo es proporcional a la concentración en hemoaglutinina (4). La actividad hemoaglutinante se calcula entonces por medidas de absorbancia a 620 nm de la suspensión de hematíes no sedimentados en un tiempo determinado y en comparación con un estándar.

2. *Determinación directa de ácido erúico por cromatografía de papel (19, 20).*

Una semilla o cotiledón de raps o colza, colocada en la cavidad de una

microcubeta se tritura con varilla junto con 50 μ l de una mezcla de isooctano e isopropanol (9 + 1). Después de 30 min se agregan 100 μ l de una solución de 6 g de KOH en 30 ml de agua, adicionada de 60 ml de metanol y 150 ml de isopropanol.

Después de 1 hora se aplican 40 μ l de esta solución sobre papel Whatman 1, impregnado previamente con solución al 15% de parafina líquida en éter dietílico. Se desarrolla con ácido acético al 95% como líquido de arrastre hasta una altura de unos 10 cm (en \pm 3 horas). Luego se seca el papel en aire caliente durante unos 60 min. Al día siguiente se revela por inmersión del papel durante 45 min en una solución de 4 g de acetato cúprico y 10 g de acetato sódico en 30 ml de agua, ajustada a pH 4,5-5 (o bien: acetato de cobre al 0,8% + acetato de sodio al 0,05%, también a pH 4,5-5). El exceso de sal cúprica se elimina por lavado en comente de agua durante 1 hora. Después de secar el papel cromatográfico al aire caliente, se reconocen los jabones cúpricos de los ácidos grasos por inmersión del papel en solución de ácido rubeánico (ditiooxamina) al 0,03% en etanol.

Se detectan 5 manchas de color verde-grisáceo más o menos intensas que en el orden del frente de avance del cromatograma hacia el punto de partida corresponden a los ácidos grasos: C18:3; C18:2; C18:1; C20:1; y C22:1. Este Último, de Rf más bajo, corresponde al ácido enólico.

Por esta técnica se pueden diferenciar los niveles mayores del 40% de los mínimos con 0 a 3% de ácido enólico. De este modo se pueden controlar, rápidamente y en serie, semillas o cotiledones de colza, exentos de ácido erúxico, por ausencia de su mancha.

3. Determinación jiuorimétrica y por bioensayo de Saxotoxina en moluscos

Según Hellwig y Petuely (46) se extraen 10 g de muestra homogeneizada con 20 ml de una mezcla de ácido tricloracético 1 M y HCl 0,2 M (1 + 1) en un tubo de centrífuga de 50 ml. Se calienta al baño de agua hirviente bajo agitación frecuente y durante 20 min. Estando aún caliente, se centrifuga por 30 min y luego se separa la grasa sobrenadante por filtro plegado húmedo. Se ajusta a pH 5-5,5 con KOH 1 M y se vuelve a centrifugar. El líquido sobrenadante se pasa por una columna cromatográfica (5 \times 1 cm) llena con 10 ml de una suspensión de intercambiador Biorex 70 (50-100 mesh, de la Fa. Bio Rad) en ácido acético 0,2 M y ajustada a pH 5,2.

(Previamente la resina se ha suspendido en forma sucesiva en HCl 3 M, KOH 3 M y ácido acético 0,2 M, intercalando lavados con agua destilada hasta reacción neutra después de las suspensiones triples en HCl y KOH).

A continuación se lava la columna con tampón de acetato de potasio 0,2 M

de pH 5,2 seguido de lavado con agua destilada. La Saxitoxina se eluye luego con 10 ml de mezcla de ácido acético 2 M y HCl 1 M (1 + 1), recogiendo el eluido en matraz aforado de 10 ml.

Para la determinación espectrofluorimétrica se mezclan 2 ml del eluido con 2 ml de NaOH 1,2 M y 50 μ l de H₂O₂ al 30% y se centrifuga. Después de 40 min. a la temperatura ambiente se neutraliza el sobrenadante claro con ácido acético glacial y se hace un blanco, sustituyendo el H₂O₂ por agua. Se aplica una excitación a 330 nm y se mide la emisión a 380 nm. Se hace una prueba de recuperación agregando a 10 g de muestra 50 μ l de solución estándar de Saxitoxina (100 μ g/ml) del FDA, San Francisco.

Para realizar el *Bioensayo* se pueden usar 5 ml del mismo eluido, ajustado a pH 2-4 con KOH 1 M y completado con agua a 10 ml., 1 ml de esta solución se inyecta por vía intraperitoneal en cada una de 5 lauchas masculinas de 20 g y se mide el tiempo hasta que ocurre el último movimiento respiratorio. Se calibra el método con diluciones de la misma solución estándar de Saxitoxina.

Los autores han encontrado una buena coincidencia entre los resultados de la determinación por espectrofotometría de fluorescencia y por bioensayo, siendo, eso sí, el primer método bastante más sensible, con un límite de detección de 1 μ g de Saxitoxina contra 20-40 μ g/100 g de muestra en el bioensayo.

En Austria se rechazan conservas de almejas o mejillones con más de 10 μ g/100 g de Saxitoxina para el consumo humano. En EE.UU. la AOAC (17) prescribe un método biológico similar, aceptándose 80 μ g/100 g para el consumo humano.

Por otra parte, G. Cumont (47) informa para los tóxicos de la *Ciguatera* una buena correlación entre los resultados obtenidos con "Test de la laucha" (muerte en 24 horas) y un "Test del mosquito" (por inyección intratorácica del *Aedes aegypti*) realizados en extractos diluidos y debidamente purificados del material por examinar.

4. Control biotóxico de harinas de pescado (35).

(Véase también Capítulo IV, inciso 6.4: Ictiotoxicosis)

Básicamente consiste en bioensayos estandarizados que utilizan pollos broilers en crecimiento, que se alimentan con las harinas de pescado a controlar. Terminado su período de alimentación se sacrifican y se evalúan las lesiones a la molleja o estómago muscular. El grado de severidad de estas lesiones (Úlceras, hemorragias, necrosis) está perfectamente definido y permite clasificar las harinas de pescado de acuerdo a los siguientes grados de biototoxicidad, frente a las patologías aviares: erosión de molleja y vómito negro.

a) *Harinas de pescado normales o atóxicas.*

Son aquéllas que no causan ningún daño a las mollejas y que pueden, por lo

tanto, utilizarse sin limitaciones en las distintas etapas de crecimiento de los pollos broilers.

b) *Harinas de pescado de toxicidad leve.*

Causan lesiones leves caracterizadas por pequeñas úlceras, hemorragias y necrosis locales o bien enrojecimiento de las **corrugaciones**, especialmente en la unión del proventrículo-molleja y en el orificio molleja-duodeno. Estas harinas de pescado bajo condiciones comerciales de producción de broilers permiten en las aves, alcanzar buenos parámetros productivos en ganancia de peso como conversión alimentaria y pueden ser incluidas en las dietas sin problemas hasta niveles de un 10-12%.

c) *Harinas de pescado de toxicidad mediana.*

Causan evidentes signos de lesiones en extensas áreas de la capa córnea de la molleja.

El uso de estas harinas debe restringirse a niveles de 3-5%, o bien diluirse con otras fuentes alimenticias de tipo proteico, ya que en niveles superiores causan un serio deterioro en el performance productivo de las aves.

d) *Harinas de pescado de toxicidad grave.*

Causan un severo enrojecimiento y destrucción de la capa córnea de la molleja, resultando en la pérdida del revestimiento interno por la marcada presencia de un *gran* número de áreas hemorrágicas necróticas y ulcerosas. Estas harinas de pescado pueden causar *Úlceras perforadas* y casos típicos de mortalidad por vómito negro aviar. Su uso no es posible en alimentación aviar, ni en alimentación de otras especies animales.

(Véase Fig. 5, págs. 32 y 33).

5. *Determinación cuantitativa de ácido fítico en cereales y derivados (11, 12)*

En un matraz con tapa se agregan **5 a 15 g** de harina, **40 ml** de una solución que contiene 34 ml de HCl conc. y 50 g. de Na_2SO_4 por litro; se deja durante 90 min, agitando frecuente y vigorosamente.

Después de sedimentar, se colocan **20 ml** del líquido sobrenadante (filtrado, en caso necesario) en un tubo de **100 ml**. Se agregan **20 ml** de la misma solución de HCl y Na_2SO_4 y **20 ml** de la siguiente solución: 7,8432 g de $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (sal de Mohr) en agua y **14 ml** de HCl conc., se oxidan con H_2O_2 en caliente y luego se agrega una punta de espátula de persulfato amónico. Después de frío, se completan **1000 ml** con agua y se comprueba el título de Fe^{+++} 0,02 M.

A continuación se agregan al tubo 20 ml de ácido sulfosalicílico al 20% en agua y se cierra con tapón de goma, atravesado por un tubo estrecho de vidrio de 30 cm de largo. Se calienta al baño de agua hirviendo por **15 min**, se enfría al chorro de agua y se deja en posición vertical. Comprobada la formación de un

precipitado blanco de fitato félico, se miden 20 ml de sobrenadante límpido, se completan en un vaso unos 200 ml con agua, se ajusta a pH 2,5 mediante 0,75 g de glicina y se calienta a 70°C. Se titula en caliente y con agitador magnético el exceso de Fe^{III} con EDTA-Na₂ 0,01 M (3,7214 g por 1000) hasta viraje del color rojo-marrón al amarillo claro.

$$\text{Cálculo: } \% \text{ Acido fítico} = \frac{0,66(10 - v)}{p}$$

en que “v” son los ml de EDTA-Na₂ + 2H₂O 0,01 M y “p” los g de la muestra.

6. Control de residuos de plaguicidas en alimentos

Como en el caso de las micotoxinas, una extracción lo más exhaustiva posible, seguida (según la naturaleza del producto) de una adecuada purificación o “clean-up” (por ej. a través de columnas de resinas) constituyen las fases previas para la identificación y cuantificación de los diferentes plaguicidas. Sin poder considerar aquí la amplísima literatura existente sobre el tema, los procedimientos de cromatografía gas-líquido, la cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC) y fotodensimetría en Scanner-TLC (67) y actualmente también la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) constituyen los métodos más adecuados para estos fines.

También la cromatografía en capa fina es útil como método de identificación en el “screening” o barrido con el objeto de orientar hacia un análisis más completo o para resolver rápidamente un caso grave (“field analysis”) (36, 64). También suele recurrirse a esta modalidad cromatográfica para un posible “clean-up” previo a la aplicación de las cromatografías anteriormente citadas o para la confirmación de los resultados obtenidos por otros métodos analíticos.

Es en este contexto que se reproduce a continuación un resumen de las diferentes fases a seguir, según la literatura consultada (36, 64, 65 y 66):

—Extracción con éter de petróleo, con mezcla de éter de petróleo y cloruro de metileno (3 + 1) o con mezcla de éter de petróleo y 2-propanol (3 + 1).

Triviño y Oyanguren (66) describen el siguiente método rápido para la extracción de plaguicidas en alimentos, como leguminosas, cereales y derivados: Para la extracción se utilizan columnas de 20 cm de largo por 0,5 de diámetro, provistas de un reservorio, de capacidad de 50 ml en el cual se colocan sucesivamente: un poco de lana de vidrio, 1,8 g de Florisil activado (60-100 mesh), 1,8 g de sulfato de sodio anhidro, 15 g de muestra finamente molida (porej. harina) y mezclada con igual cantidad de Florisil. Finalmente se cubre con una delgada capa de sulfato sódico y se hacen pasar 50 ml de una mezcla de éter de petróleo y cloruro de metileno (3 + 1). El eluido se concentra a menos de 50°C hasta unos 2 ml, de los cuales se aplican hasta 50 µl en la línea

de partida de una cromatoplaca. El desarrollo y revelado se realizan como se describe a continuación, con confirmación a base de estándar interno.

—**Evaporación** del extracto a baja temperatura, eventualmente con **N₂**.

—**Cromatografía** en cromatoplaca de Silicagel 60, F254 (con indicador fluorescente); se activa por calentamiento a **110°C** durante 1 hora.

—**Desarrollo** con un adecuado líquido de arrastre que puede ser la mezcla de hexano y acetona (80 + 20).

Al usar como fase estacionaria una cromatoplaca con indicador fluorescente se puede observar, si hay inhibición de fluorescencia en la zona donde emigró el plaguicida, con luz UV a 254 nm.

—**Revelado** con pulverización de **reactivos cromógenos**:

1. Para Plaguicidas Organoclorados:

- a) **Difenilamina** al **0,5%** en etanol o una solución de 0,5 g de difenilamina y 0,5 de cloruro de zinc en **100 ml** de acetona. Se seca al **aire** y se calienta 5 min a **120-200°C**. Se puede examinar también a la luz UV a **365 nm**.
- b) **Nitrato de plata** al **0,5%** en etanol. Después de secar a **100°C** por **5 min** se pulveriza con azul de bromofenol al **0,2%** y nitrato de plata al **0,15%** en mezcla de etanol y acetato de etilo (**1 + 1**). Luego se seca a **100°C** por **10 min**, obteniéndose manchas amarillas en fondo azul.

2. Para Plaguicidas Organofosforados y Carbamatos:

- a) Se pulveriza la placa primero con solución de 4-nitrobencilpiridina al 2% en acetona. Luego se calienta la placa a **110°C** por **10 min** y finalmente se expone a los vapores de trietilamina apareciendo manchas de color rojo.
- b) Se pulveriza con solución de **2.6-dibromoquinonclorimida (DBCQ)** al 5% en ciclohexano. Se calienta a **110°C** por **7 min**. Aparecen manchas de color anaranjado a rojo en los plaguicidas tiofosfatos.
- c) Se pulveriza con solución de cloruro de paladio al **0,5%** en HCl (**1 + 1**) obteniéndose manchas de color amarillo con los tioderivados.

3. Para Plaguicidas a base de Carbamatos y Piretrinas (64):

Se recurre a una pulverización con solución de vainillina al **0,5%** en ácido sulfúrico y etanol (**4 + 1**) (preparación reciente). Se calienta a **100°C** durante no más de **5 min** para evitar carbonización.

7. Determinación rápida de Aflatoxinas en sopas y salsas (con hidrolizados proteicos de tortas oleaginosas) y en forrajes

7.1. **20 g** de muestra se suspenden en **100 ml** de metanol y agua (**55 + 45**) y se agitan dos veces cada vez con **50 ml** de hexano para su desgrasado. La fase hidroalcohólica se extrae tres veces, cada vez con **25 ml** de cloroformo y los extractos reunidos se purifican por paso a través de una columna cromatográfica-

ca de silicagel. Para este objeto **se** seca silicagel con Na_2SO_4 a 110°C durante 1 hora y luego se equilibra a temperatura ambiente, en desecador, durante 1 día. La columna se llena sucesivamente con **5 g** de Na_2SO_4 , 10 g de silicagel con Na_2SO_4 y 15 g de silicagel, todos humedecidos con cloroformo.

Después se vacian los extractos clorofórmicos sobre la columna, **se** enjuaga y se hace la elución con 100 ml de n-hexano, 100 ml de dietiléter y 150 ml de cloroformo-metano (97 + 3).

Una vez evaporado el eluido, se completa 1 ml con cloroformo y se efectúa una separación bidimensional con cromatopla de silicagel 60, usando para el arrastre en dirección vertical una mezcla de cloroformo y acetona (8 + 2) con saturación de cámara y dos veces en dirección transversal (haciendo girar la placa), primero con el mismo líquido anterior de arrastre, sin saturación de cámara, y luego con cloroformo y acetona (9 + 1), también sin saturación de cámara (52).

7.2. En el caso de **forrajes** (50, 53) se pueden extraer 50 g de muestra con metanol-agua (55 + 45 v/v), agitando por 20 min. 50 ml del filtrado **se** extraen con 50 ml de éter de petróleo (p.e. $40-60^\circ\text{C}$) en un embudo de decantación, adicionando además una solución de 5 g de NaCl en 55 ml de agua para provocar un "salting out". La fase metanólica-acuosa se extrae tres veces con cloroformo, recogiendo la fase orgánica y secándola con sulfato de sodio anhidro.

Los extractos clorofórmicos reunidos, se concentran a sequedad en evaporador rotatorio y bajo vacío. El residuo se disuelve en acetónitrilo-benceno (2 + 98 v/v) para el análisis cromatográfico.

Para eliminar previamente impurezas interferentes como ethoxiquin, agregada como antioxidante a harinas de pescado, Saelzery colab. (50) aplican una limpieza cromatográfica, realizada en la cromatopla misma y basada en la migración de las impurezas mencionadas con el éter etílico anhidro, al usarlo como líquido de arrastre, mientras que las aflatoxinas permanecen en el sitio de aplicación.

Las muestras **se** aplican entonces a lo largo de una línea a 40 mm del borde superior de una cromatopla de Silicagel 60. Se desarrolla con éter anhidro hasta sobrepasar los 30 mm del borde superior y **se** corta la placa a la altura de estos 30 mm, dejando fuera las impurezas finales. Luego se gira la placa en 180° y se desarrolla ahora con cloroformo-acetona (88 + 12 v/v) para lograr una buena separación de las 4 aflatoxinas, cuya determinación cuantitativa se puede efectuar por espectrofluorimetría.

Se puede realizar todavía un test confirmatorio por pulverización de las manchas cromatográficas con H_2SO_4 al 25% que reacciona sobre el doble enlace del anillo furano de las aflatoxinas: las manchas, inicialmente azules al

UV a 366 nm para las aflatoxinas B1 y B2 cambian a amarillas y las verdes-azuladas de las G1 y G2 pasan a verde-amarillentas. En cambio, la fluorescencia azul del ethoxiquin no varía con el H₂SO₄.

0. Determinación de otras micotoxinas en alimentos

Como ya se ha indicado para las aflatoxinas, según el material por analizar puede ser necesario un clean-up previo a través de una apropiada columna cromatográfica o por partición líquido-líquido.

La **patulina** se puede determinar por TLC en silicagel, usando como líquido de arrastre la mezcla de tolueno, etilacetato y ácido fórmico al **90% (5 + 4 + 1)**. La detección puede hacerse por pulverización con el reactivo **MBTH** (3-metil-2-benzothiazolinona hidrazona, hidrocloreto) en solución acuosa al 0,5%, seguido de calentamiento a 130° C por **10** minutos. La visualización es al UV 366 nm.

Los métodos oficiales alemanes Bundesgesundheitsamt (54) prescriben para la patulina una TLC en silicagel y un tratamiento: a) con hexano y éter (**1 + 4**) seguido por b) éter en cámara saturada y a la oscuridad. inmediatamente después de seco se hace la medida de remisión a 273 nm.

Por otra parte, se ha recomendado para patulina la TLC en silicagel con la mezcla de n-hexano, diclorometano y n-butanol (**55 + 45 + 9**) como líquido de arrastre. Después de pulverizar con el mismo reactivo MBTH se efectúa la cuantificación fotométrica *in situ* a **420** nm.

También es posible la HPLC en columnas de silicagel enlazado a cadena propil-CN.

Para la **ochratoxina A** se ha recomendado una cromatografía TLC sobre silicagel con líquidos de arrastre de diferente composición, siendo uno de ellos la mezcla de benceno y acetona (**12 + 7**).

La detección se puede efectuar por pulverización con 4- (4-nitro**encil**)-piridina al **1%**, seguido de calentamiento a **150°** C durante 30 minutos. Después se pulveriza con solución de tetraetilenpentamina al 3% (53).

Esta determinación semicuantitativa puede aplicarse también a toxinas derivadas del **trichothecene** como las toxinas T-2, HT-2, diacetoxiscirpenol, monoacetoxiscirpenol, scirpentriol y otras en alimentos y forrajes.

Para las mencionadas micotoxinas derivadas del trichothecene se ha descrito también una TLC en silicagel, usando como líquido de arrastre la mezcla de tolueno, etilacetato y ácido fórmico (en proporciones variables, siendo una: **5 + 4 + 1**). Se detectan con dos reactivos de pulverización: 1) Solución de cloruro de aluminio en **etanol (20%)**, seguido de calentamiento a **110°** durante **5** minutos y 2). Solución de ácido cromotrópico con calentamiento a 110° C por 5-10 min. Se visualiza al UV 366 nm.

Otros (53) recomiendan como líquido de arrastre la mezcla de tolueno y ácido acético (95 + 5) y la medida de la fluorescencia a 365 nm. Esta técnica se puede aplicar para determinar ochratoxina A y también zerealenona y la vomitoxina.

Una TLC bidimensional se ha recomendado también para la ochratoxina A en alimentos vegetales, con la mezcla de acetonitrilo-KCl al 4%-HCl 6N (88 + 10 + 2). Se detecta por fluorescencia después de una exposición a los vapores de amoníaco. La fluorimetría in situ, con excitación a 340 nm y emisión a 475 nm (53) permite su cuantificación.

8.1. Majerus y R. Woller (51) hacen un estudio comparativo entre la Cromatografía en capa fina (TLC) con Scanner y la Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para su aplicación en el análisis de micotoxinas. Como en el aspecto de costos no hay una diferencia significativa en los equipos necesarios para ambas técnicas, las consideran como complementarias en cuanto al suministro de resultados.

La ventaja principal de la capa fina consiste en el suministro de resultados rápidos y seguros, de carácter cualitativo en una gran variedad de muestras diferentes. En cambio, la HPLC está indicada en muestras semejantes entre sí, con un menor coeficiente de variación y con la posibilidad de una automatización.

Habiendo gran variación de muestras, la TLC presenta mayor flexibilidad en el sentido de permitir un cambio rápido de los líquidos de arrastre y del material de la cromatoplaque. También la TLC permite una confirmación de un resultado positivo por derivatización directa sobre la placa, después de haber observado el color de la fluorescencia.

9. Determinación de Aminas Biogénicas en alimentos

9.1. Determinación de Serotonina (5-hidroxi-triptamina) en alimentos (56, 57)

A 15 g de muestra homogeneizada se agrega en un vaso de precipitado una mezcla compuesta de unos 90 g de arena fina lavada, y unos 45 g de sulfato sódico anhidro. Se revuelve hasta obtener una masa seca y homogénea, se agregan 50 ml de butanol alcalino (200 ml de n-butanol se llevan a pH 9-10 con gotas (aprox. 1 ml) de NaOH acuoso saturado) y se deja media hora, agitando de vez en cuando. Luego se coloca esta mezcla en un tubo de vidrio de 500 × 300 mm, con filtro y llave y envuelto en papel negro, pues la serotonina es sensible a la luz. Se enjuaga el vaso con 150 ml de butanol alcalino, el cual se agrega al tubo. Se regula con la llave, de modo que la elución, gota a gota, demore aprox. 1 hora. Este eluido de butanol alcalino se lava en embudo de

decantación seis veces con porciones de 20 ml de agua dest. A continuación se agregan a este butanol, lavado con agua, 10 ml de éter de petróleo y se extrae con cinco porciones de 20 ml de HCl 0,1 N. Se reúnen los extractos clorhídricos y se completa el volumen final de 100 ml con HCl 0,1 N.

La identificación se efectúa por espectrofluorimetría a la máxima longitud de onda: de excitación de 295 nm y de emisión de 340 nm.

Los respectivos espectros de excitación y emisión se comparan con aquellos que se obtienen por una curva de calibración de serotonina, preparada a partir de serotonina-creatininasulfato monohidrato (Merck). Para este objeto se parte de una solución patrón (de preparación reciente) que corresponda a 1 mg de serotonina pura por ml de HCl 0,1 N. De ésta se diluye 1 ml hasta 100 ml con HCl 0,1 N (= 10 µg/ml) y con esta solución se preparan diluciones que contengan: 0,01 - 0,02 - 0,06 - 0,10 - 0,40 - 0,60 - 1,00 - 1,50 y 2,00 µg/ml de HCl 0,1 N. Para cada serie de determinaciones debe prepararse una nueva curva de calibración.

Para verificar los resultados obtenidos los autores recomiendan realizar una *cromatografía en capafina*, para lo cual se lava el mismo extracto clorhídrico 3 veces con 20 ml de éter dietílico, cada vez. La solución clorhídrica, así lavada, se evapora hasta sequedad en evaporador rotatorio a 40° C y se redissuelve el residuo en 1 ml de HCl 0,1 N. En una misma cromatoplaqueta de silicagel 60 (Merck) activada 30 min a 100° C antes de su uso se aplican: este extracto de la muestra, la solución estándar de serotonina y ambos en forma superpuesta (como prueba de recuperación). Se usa como líquido de arrastre la mezcla de cloroformo, metanol y ácido acético (70 + 20 + 40). Para el revelado se pulveriza con solución de o-ftalaldehído (OPT) (Fluka) al 0,5% en etanol. Después de calentar a 110° C la serotonina produce una fluorescencia amarilla-parda a 360 nm.

9.2. Determinación de Tiramina (4-hidroxi-fenil-etilamina) en alimentos y bebidas

Esta determinación, p. ej. en quesos (thyros = queso), cacao y derivados, bebidas alcohólicas y vinagres reviste importancia, tanto por la toxicidad de la tiramina misma (la cual puede manifestarse por cefalea o jaqueca) como especialmente en forma indirecta por interacción con medicamentos inhibidores de la monoaminooxidasa (véase Capítulo VIII).

Se tritura en un mortero unos 5 g de queso (60, 61) o unos 2 g de derivado de cacao (62) (o se trata un volumen adecuado de bebida (63)) con 10 ml de tampón de borato (a 50 ml de una solución 0,1 M de ácido bórico y 0,1 M de cloruro de potasio se agregan 43,7 ml de NaOH 0,1 M, enrasando a 100 ml con agua). Después de agregar 1-1,2 g de carbonato sódico en polvo para ajustar a un pH aprox. de 10,4 se mezcla con 70-80 g de arena fina, lavada y 50-60 g de

sulfato sódico anhidro para obtener así una masa seca y suelta. Luego se agregan 100 ml de acetato de etilo, agitando, de vez en cuando para su maceración, durante 30 min. Con esta mezcla se carga una columna de vidrio con placa porosa y provista de llave, de 3×50 cm. El mortero o vaso se enjuaga con otros 100 ml de acetato de etilo. Los 200 ml se eluyen, regulando la llave, de modo que eluyan en aprox. 2 horas. El eluido se extrae en un embudo de decantación 3 veces, cada vez con 8 ml de HCl 0,2 M. Se reúnen los extractos ácidos y se enrasan a 25 ml.

Una alícuota de este extracto final (2 ml) se agita en un tubo de ensayo con 1 ml de alfa-nitroso-beta-naftol (al 0,1% en etanol de 95%) y se agrega 1 ml de solución nítrica reciente (HNO_3 1 M que contiene 2% v/v de solución acuosa de NaNO_2 al 2,5% p/v), agitando nuevamente el tubo. Se calienta a 60°C por una hora y, después de frío, se agita con 10 ml de dicloroetano (para extraer el exceso de reactivo). Una vez separadas las fases, se hace la lectura de la fase acuosa al espectrofluorímetro, a una longitud de onda de excitación de 450 nm y de emisión de 545 nm.

Las concentraciones de tiramina se calculan mediante un patrón a base de clorhidrato de tiramina, p. ej. en concentraciones de 0, 1 a $1\mu\text{g/ml}$, utilizando el mismo procedimiento analítico entre cada serie de ensayos y las soluciones patrones de la curva de calibración; se ajusta el instrumento con 2 ml de HCl 0,2 M como blanco, con los mismos reactivos.

Como comprobación de que se trata de tiramina se recurre, fuera de las longitudes de onda ya indicadas, a la siguiente cromatografía en capa fina: otra alícuota del extracto final se evapora a sequedad en evaporador rotatorio, a 40°C y el residuo se redisuelve en 2 ml de HCl 0,2 M. Sobre una cromatoplaça de celulosa MN-300, activada a 100°C por 30 min, se aplican este líquido y solución de tiramina pura y se usa como líquido de arrastre n-butanol, ácido acético y agua (12 + 5 + 3). Para el revelado se pulveriza con la misma solución alcohólica de alfa-nitroso-beta-naftol y luego con HNO_3 3 M, conteniendo 0,05% de nitrito de sodio. Después de calentar la placa a 80°C durante 20-30 min aparecen las manchas, de R_f coincidentes y de color rojo, con fluorescencia, al ultravioleta, a 366 nm.

9.3. Determinación de Histidina y de Histamina en vinos y líquidos biológicos (58, 59)

El método se basa en separar ambos compuestos mediante la resina de intercambio iónico: Amberlita CG-50 (H) tipo II (BDH), que no fija la histidina y retiene la histamina, la cual es eluida después con HCl 3 N. Por condensación del anillo imidazólico de ambos compuestos con el dialdehído orto-ftáico como grupo fluoróforo se pueden determinar por espectrofluorimetría.

La resina mencionada requiere una preparación previa con las siguientes etapas: La suspensión acuosa **se** lleva a pH **9,0** (al potenciómetro) mediante NaOH **10N**. Después de lavarla **2** veces con agua dest. se ajusta el pH a **2,8** con HCl **10 N** y una vez lavada de nuevo con agua se lleva a pH **7,5** mediante tampón de fosfato de sodio **0,5 M**.

Luego **se** coloca la resina en un adecuado tubo de vidrio y se eluye la histidina (no retenida) con el tampón de fosfato de pH **7,5**.

Para obtener la histamina (retenida) se sigue con una elución mediante HC13 N.

Para determinar la *histidina*, a una parte alícuota del primer eluido, llevada a pH **12,15** con NaOH **0,5 N** (aprox. **0,2ml**) se agregan **0,1 ml** de dialdehído orto-ftálico al **1%** en metanol absoluto para producir la condensación en **4** min. Luego se acidula con unos **0,15 ml** de HCl **3 N**, se agitan fuertemente los tubos en que se ha efectuado la reacción (conjuntamente con un testigo de histidina patrón) y se procede a la espectrofluorimetría, a longitudes de onda de **360 nm** para la excitación y de **450 nm** para la emisión.

Para determinar la *histamina* (de especial interés toxicológico) a otra parte alícuota (**2ml**) del *eluido ácido* se agregan: aprox. **0,6 ml** de NaOH **5 N** para ajustar a pH **12,45** y **0,1 ml** de solución metanólica de dialdehído orto-ftálico al **1%** (o al **0,5%** en etanol) realizando la condensación en **4** min exactos. Luego se procede a acidular con aprox. **0,4ml** de HCl **11,8 N**. (Se agita después de cada adición). La lectura espectrofluorimétrica debe hacerse a los **30** min después de realizada la condensación con el o-ftalaldehído (OPT). Las longitudes de onda son de **420 nm** para el espectro de excitación y de **340 nm** para el de emisión.

A la vez se aplica una cromatografía en capa fina del eluato ácido de la muestra en comparación con una solución patrón de histamina y en forma similar a la descrita para la serotonina.

10. Separación de componentes de alimentos (y de drogas) mediante gases supercríticos

A pesar de que los fundamentos de este proceso fueron mencionados ya en **1869** por el químico Andrews (**69**) sólo los progresos alcanzados en los últimos tiempos en el desarrollo de las técnicas instrumentales de alto vacío ha hecho posible su aplicación práctica.

Al sobrepasarse ciertos límites, tanto de temperatura como de presión, el "fluido" resultante ya no reúne las propiedades que corresponden al estado, ni de gas, ni de líquido, pero tiene una densidad relativamente alta (**0,45 g por cm³**, en el CO₂). Esto facilita la difusión molecular desde la fase líquida a la fase gaseosa supercrítica, a lo que se debe su gran capacidad como disolvente

frente a sustancias termolábiles y difícilmente volátiles (69). Pero a la vez el fluido conserva aún la viscosidad comparativamente baja y la alta movilidad de un gas, lo que permite un transporte rápido de las sustancias a disolver.

La separación de sustancias por gases supercríticos suele conocerse también con el nombre de "destrucción" pues reúne este proceso los efectos de una *destilación* que *separa* componentes de diferentes tensiones de vapor y de una *extracción*, basada en el intercambio específico entre disolventes y componentes a separar.

Entre! los gases empleados para estos fines, el anhídrido carbónico es el más manejable por sus datos críticos: temperatura de 31° C y presión de 73 bar; fuera de sus ventajas de precio y de no ser combustible, ni corrosivo (69). En menor escala *se* usan *pentano*, tolueno, monóxido de dinitrógeno (N₂O); este último p. ej. para la *extracción* del aceite de palma (70).

La adición de un asfllamado "agente de arrastre", es decir de una sustancia cuya temperatura crítica es más alta que la temperatura del sistema, *pero* más baja que aquella de la sustancia a disolver puede hacer que el proceso se haga más selectivo y permite trabajar a presiones más bajas, lo que abarata el alto costo del proceso. Se usan para este objeto sobre todo acetona o etanol (p. ej. 10% en peso en la fase gaseosa).

La separación puede hacerse también *fraccionada* en varias etapas con disminución sucesiva de la presión y por sistemas de circulación continua o de corriente contraria.

En este contexto se ha propuesto para un fraccionamiento con gradientes de presiones realizar una conexión directa de la "destrucción" con una cromatografía en capa fina (71) para detectar a qué presión es extraída una sustancia, una vez que se haya desarrollado el cromatograma.

En general, este proceso es apropiado para la separación de compuestos orgánicos de polaridad relativamente escasa, p. ej. ésteres, éteres, lactonas y óxidos ya son separables dentro de presiones de 70 a 100 bar, mientras que la presencia de grupos funcionales fuertemente polares (COOH, OH) dificultan la "destrucción"; azúcares y aminoácidos no son separables hasta una presión de 500 bar.

Los siguientes son casos prácticos en que este proceso ya ha tenido aplicación para separar:

- componentes del aroma de café, té y cacao;
- componentes extractivos (resinas, ácidos lupulínicos) del hoblón;
- nicotina del tabaco;
- componentes de las esencias de diversas especias (pimienta, clavos, canela, vainilla) y de materias primas de perfumería;
- de componentes tóxicos, como el ácido cianhídrico de almendras amargas,

- la goitrina de la semilla de colza o raps y micotoxinas de semillas y cereales, para fines de desintoxicación;
- para identificar **benzopireno** y **benzantraceno** en gases de desecho (usando **CO₂** a 33-39" C y 98-210 bar).

Variando las presiones, el proceso ~~se~~ puede hacer selectivo para ciertos componentes lábiles como los principios activos de la manzanilla y otras drogas vegetales.

Para el caso práctico de la fabricación de *café decafeinado* se mezclan los granos de café crudo en un recipiente a presión con el **CO₂** en condiciones cercanas a sus supercríticas: a 80" C y 150bar. Entonces se carga el gas con la cafeína y se puede recuperar rápida y totalmente por descenso de presión o aumento de temperatura. Después de su compresión se puede bombear de nuevo al recipiente. Una modificación del proceso para la regeneración del gas sin descompresión consiste en trabajar en presencia de carbón activado para absorber la cafeína y en separar posteriormente el carbón de las semillas agotadas, por tamización. Los componentes aromáticos se conservan y se manifiestan en la tostación ulterior, mientras que la extracción con disolventes no daba cafeína pura y modificaba el aroma.

REFERENCIAS

- (1) *National Academy of Sciences*: National Research Council: Toxicants occurring naturally in foods. Publication **1354**. Washington D.C. (1966).
- (2) *H. Schmidt-Hebbel*: Intoxicaciones por Alimentos. Escuela Salesiana La Graciosa Nacional, Santiago (1969).
- (3) *W.G. Jaffé*: Nuevas observaciones sobre Faseolotoxina. Bol. Soc. Quím. Perú **2**, **144**, **155**. Lima (1959).
Id. Bol. Oficina San. Panam. (1963).
Id. Arch. Latinoam. Nutr. **XVII**, **205** (1968).
- (4) *I.E. Liener*: The photometric determination of hemoagglutinating activity of soya and crude soybean extracts. Arch. Biochem. Biophys. **54**, **223** (1955).
- (5) *Th. Hatzold*: Chemische und Chemisch-Technische Untersuchungen zur Beurteilung von Lupinen (*L. mutabilis*). Dissertation. Giessen (1982).
- (6) *G. Díaz C.* y *P. Lobos G.*: Efecto de tostación sobre composición química y valor nutritivo de harina de lupino dulce. Tesis de Quím. Farm. Universidad de Chile (1980).
- (7) *R.L. Ozy*: Antinutrients and Natural toxicans in foods. Food and Nutrition Press. Westport, Connecticut (1981).
- (8) *J.C. Ayres & J.C. Kirschman*: Impact of toxicology in food processing. AVI Publishing Co. Westport, Connecticut (1981).
- (9) *H. Schmidt-Hebbel*: Sobre la formación de Nitrosaminas. Revista Alimentos. Santiago, **5**, **2**, **36** (1980).
- (10) *H. Schmidt-Hebbel*: Carne y Productos Chicos. Editorial Universitaria. Santiago (1984).
- (11) *R. García Villanova, R.J. García Villanova y C. Ruiz de Lope*: Determination of folic acid by complexometric titration of iron (III). Analyst **107**, **1503-1507** (1982).
- (12) id.: Determinación de ácido fólico en harinas de cereales por complexometría indirecta con Fe (III). Anal. Bromatol. **XXXIV** - 1, **9-12** (1982).
- (13) *E. Lindner*: Toxikologie der Nahrungsmittel. Georg Thieme Verlag. Stuttgart (1979).
- (14) *F.G. Reyes & R.A. Scanlan*: N-Nitrosaminas: Formación e ocorrência em alimentos. Bol. Soc. Bras. Cienc. e Tecn. Alim. Campinas. **18**, **4**, **299-309** out./dez. **1984**. (Seminario Latinoamericano de Toxicología de alimentos, agosto de 1983).
- (15) *Verband der Chemischen Industrie*, Frankfurt: Fakten zur Chemie Diskussion. Nr. **29**: Natürliche Gifte (1985).
- (16) *H. Schmidt-Hebbel, I. Pennacchiotti y colab.*: Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos, pág. **33**. Editorial Universitaria. Santiago (1985).
- (17) *A.O.A.C.*: Official methods of the Assoc. of Off. Anal. Chemists. William Horwitz, Editor. XIII Ed. Washington (1980).
- (18) *J. Causeret*: Nitrates, Nitrites, Nitrosamines. Apports alimentaires et santé. Ann. Fals. et de l'expertise chimique e toxicologique **77**, **826**, **133-151** (1984).

- (19) *W. Thies*: Rapid and simply analysis of fatty acid composition of individual rape cotyledons. *Z. Pflanzenzüchtung* **65** (3); **181-202** (1971).
- (20) *S. Mora G. & N. Manquidán T.*: Cromatografía de papel, un método rápido para la determinación de ácido erúico en semillas de Raps. *Rev. Agro Sur* (Valdivia, Chile) **13**, (1), **74-76** (1985).
- (21) *G. Czok*: Efectos recíprocos entre la alimentación y los medicamentos. *Universitas XIII*, **2**, **97-104** (1975).
- (22) What's new in Food and Drug Research **36**, **1** (1963).
- (23) Todesfälle nach Käsegenuss. *Mitteilungsblatt G.D.Ch. Fachgr. Lebensm. U. Gerichtl. Chem.* **18**, **9**, **197** (1964).
- (24) *W. Baltes*: Lebensmittelchemie. Springer Verlag. Heidelberger Taschenbücher. Berlin. (1983).
- (25) *R. Bressani*: Acondicionamiento, procesamiento y aspectos nutricionales y toxicológicos de leguminosas. Trabajo presentado en el V. Seminario Latinoamericano de Ciencia y Tecnología de alimentos. Viña del Mar. Chile (1985).
- (26) *A. Levv Beshimol y colab.*: El valor bioquímico de las semillas del haba de Lima (*Phaseolus lunatus*) en comparación con las del frijol común (*Phaseolus vulgaris*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* Vol. XXXV, Nº **1**, **70-79** (1985).
- (27) *H. Schmid-Hebbel*: Las Especies. (Condimentos vegetales). Su importancia en química y tecnología de alimentos y en el arte culinario. Editorial Universitaria. Santiago (1980).
- (28) *H. Schmid-Hebbel*: Aditivos y Contaminantes en alimentos. Editorial Universitaria, Santiago (1979).
- (29) *I. Chakravarty*: india Institute of Hygiene and Public Health. Life: Leage of international food education, **18**, **5**, **2**. Washington (1985).
- (30) *H.H. Belitz, W. Grosch*: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1982).
- (31) *H. Schmid-Hebbel*: Tras las huellas de la historia de la enseñanza de las Ciencias Farmacéuticas en Chile. Editado por la Academia de Ciencias Farmacéuticas de Chile (1986).
- (32) *A.I. Calabrese y E.A. Astolfi*: Toxicología. Editorial Kapelusz. Buenos Aires (1969).
- (33) *Ministerio de Agricultura, Servicio Agrícola y Ganadero (SAG)*: Establece clasificación toxicológica de los plaguicidas de uso agrícola. Resolución del **14** de agosto de **1984**.
- (34) *R. Casares L.*: Tratado de Bromatología. Editorial Casares. Madrid. (1968).
- (35) *E. Castro C.*: Historia del control de calidad biotoxicológica de la Harina de Pescado. Fundación Chile, Recursos marinos (comunicación personal). (1986).
- (36) *R. Tapia Z.*: Plaguicidas como tóxicos potenciales en los alimentos. Curso sobre intoxicaciones por alimentos. CENEXI. (1986).
- (37) *L. López V.*: Metabolitos tóxicos, producidos por hongos. Curso sobre intoxicaciones por alimentos. CENEXI. (1986).
- (38) *M.I. Vergara R.*: Contaminación de los alimentos y del agua por virus. Curso sobre intoxicaciones por alimentos. CENEXI. (1986).
- (39) *R. Walker* (University of Surry U.K.). Curso especializado, Universidad de Santiago de Chile (16-22 abril 1986).
- (40) *W.G. Juffé*: Toxicología de alimentos. Conferencia sobre: ¿Venenos en nuestros alimentos? del ciclo de "Temas de Venezuela Contemporánea" (1971).
- (41) *H. Schmid-Hebbel*: Avances en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Alfabetá Impresores. Santiago (1981).
- (42) *Ministerio de Salud Pública*: Reglamento Sanitario de los Alimentos. Decreto Nº 60 del 5 de abril de 1982.

- (43) Ministerio de Salud Pública: Fija tolerancias máximas de residuos de pesticidas en los alimentos de consumo interno. Resolución N° 1.450 del 13 dicbre. (1982). Diario Oficial de la Rep. Chile 3 enero (1983).
- (44) F. Krusen: *Iss & Lebe*. Olzog Verlag. Miinchen (1985).
- (45) E. Kapfelsperger. U. Pollmer: *Iss und stirb*. Verlag Kiepenheuer & Witsch, Koln (1982).
- (46) E. Hellwig u. F. Petuely: Bestimmung von Saxitoxin in Muschelkonserven. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 171, 165-169 (1980).
- (47) G. Cumont: Intoxications collectives: Méthodes modernes d'examen appliquées aux aliments. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 78, 842, 431-437 (1985).
- (48) Pr. M. Chaumont: Conclusion Général Séance commune Société de Médecine Legale et Société des Experts Chimistes de France. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 78, 842, 451 (1985).
- (49) J. Reiss: *Mykologie*. Verlag Thieme. Stuttgart (1971).
- (50) R. Saelzer F., María Alejandra Sepúlveda H., M. Vega H., R. Villegas F., R. Woerner V.: Elimination of interference produced by ethoxiquin in aflatoxin analysis by HPTLC. *Proceedings 3. International Symposium on Instrumental High Performance. Thin Layer Chromatography*, p. 189-200. Edit. R.E. Kaiser. Published by Institute of Chromatography, Bad Dürkheim, Germany (1985).
- (51) P. Majerus u. R. Woller: Thin-Layer Chromatography and High-Pressure Liquid Chromatography in Micotoxin Analysis. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 318, 281-282 (1984).
- (52) R. Woller. P. Majerus. H. Crist: *Chemisches Untersuchungsamt Tner. Lebensm. Chem. u. Cer. Chemie* 38, 5, 124 (1984).
- (53) Merck Informa: Análisis cromatográfico de aflatoxinas y otras micotoxinas. 19/86, págs. 10-14 (1986).
- (54) *Mitteilungen aus dem Bundesgesundheitsamt*: Analysenverfahren zur Bestimmung der Aflatoxine in Lebensmitteln. *Bundesgesundheitsblatt* 18. Nr. 10, S. 173 (1975).
- (55) Yona Anita: Tea drinking may cause anemia in infants. *LIFE (Leage for Iniemational Food Education)* 18, 6, 2 (1989/1986).
- (56) García-Moreno et al.: Improved method for determination and identification of Serotonin in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* vol. 66. N° 1 (1983).
- (57) C. García y A. Mariné: Contenido de serotonina en alimentos frescos y elaborados. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* 25, 1, 60-70 (1985).
- (58) C. Tejedor y A. Mariné: Histamina en vinos. Contenido en vinos españoles y estudios preliminares sobre su evolución en la vinificación. *Agroquím. Tecnol. Aliment.* 19, 2, 261-269.
- (59) B. Plumas et C. Sautier: Methode de dosage simultané de l'histidine et de l'histamine dans les liquides biologiques. Application aux vins. *Ann. Fals. Exp. Chim.* N° 703, 322-336 (1972).
- (60) M.H. Muñoz Alcón y A. Mariné *Fonr*: Análisis de tiramina en quesos. Terceras Jornadas Toxicológicas Españolas. Ed. Monografías Médicas Liade. Madrid. (1981).
- (61) M.H. Muñoz Alcón, J.C. Rivas y A. Mariné *Fonr*: Tiramina en quesos españoles. *Anal. Bromatol.* XXXIII-2, 225-232 (1981).
- (62) M. Jalon. C. Santos-Buelga. J.C. Rivas-Gonzalo & A. Mariné *Fonr*: Tyramine in Cocoa and denvatives. *J. Food Sci.* 48, 2, 545-547 (1983).
- (63) J.C. Rivas, P. Pindado y A. Mariné: Contenido de tiramina en vino, otras bebidas alcohólicas y vinagres. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 22, 1, 133-138 (1982).
- (64) K. Visweswariah: Rapid detection of pesticides under field conditions. *Food Lab. Newsletter* 5, 26-27 (1986).

- (65) C. Ciudad B.: Manual de Técnicas Analíticas Oficiales para Pesticidas organoclorados y organofosforados en alimentos, tejidos y muestras ambientales. Estación Experimental La Platina. Laboratorio Central de Contaminantes y Alimentos.
- (66) I. Triviño y C. Oyanguren: Optimización de técnicas por cromatografía en capa fina para la determinación de plaguicidas. Ministerio de Salud. Instituto de Salud Pública de Chile. Subdepto. Bromatología. Departamento de Salud Ocupacional.
- (67) Merck Informa: Análisis de residuos de pesticidas en aguas potables mediante HPTLC y Fotodensimetría. 19/86, 17-20 (1986).
- (68) Th. Wieland: Ztschr. Allg. Med. 59, 1259 (1983), transcrito por E. Merck: Revista Spektrum 2/86, 53 (1986).
- (69) W. Asche: Ueberkritisches Kohlendioxid löst Trennprobleme. Umschau 80, 18, 568-569 (1980).
- (70) S. Peter: Stofftrennung mit überkritischen Fluiden. Fette, Seifen, Anstrichmittel 85, 4, 135-142 (1983).
- (71) E. Stahl & W. Schilz: Extraktion mit überkritischen Gasen in direkter Kopplung mit der Dünnschicht-Chromatographie Chem. Ing. Tech. 48, 9, 773-778 (1976).
- (72) R.A. Górniz-Brenes y R. Bressani: Evaluación de un aparato para medir la dureza del grano de fréjol y su utilización para la determinación de los tiempos de cocción. Arch. Latinam. Nutrición XXXV. 4, 654-665 (1985).
- (73) V. Ruiz Gutiérrez: Toxicología de aceites y grasas comestibles. Revista: Grasas y Aceites 36. 5-6, 390-398 (1985).
- (74) Gareth Edwards: The Lord Rank Research Centre. Lincoln Road, High Wycombe, England. Food Laboratory Newsletter 6, 21-24 (1986).

OBRAS PUBLICADAS POR EL MISMO AUTOR

1. *Prácticas de Bromatología Analítica*. 1937 (agotado)
2. *Tratado de Bromatología*. 1942 (agotado)
3. *Tratado de Bromatología-Tecnología de Alimentos*. 1952 (agotado)
4. *Manual de Toxicología*. 1954 (agotado)
5. *Química y Tecnología de Alimentos*. 1966 (agotado)
6. *Intoxicaciones por Alimentos*. 1969 (en venta)
7. *Curso de Análisis Química de Alimentos*. 1970 (en portugués) (agotado)
8. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1973 (agotado)
9. *Métodos de valoración de Vitaminas*. 1958 y 1977 (agotados)
10. *Aditivos y Contaminantes de Alimentos*. 1979 (en venta)
11. *Las Especies*. **Su Química y Tecnología**. 1980 (en venta)
12. *Avances en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1981 (en venta)
13. *Las Enzimas en los Alimentos*. 1982 (en venta)
14. *Carne y Productos Cárnicos*. 1984 (en venta)
15. *Tabla de Composición de Alimentos Chilenos (con participación de la Prof. Irma Pennacchiotti y colab.) Séptima Edición*. 1985 (en venta)
16. *Tras las huellas de la enseñanza de las Ciencias Farmacéuticas en Chile*. (1986).

