

2. MUESTREO Y EQUIPAMIENTO PARA ANALISIS DE MICOTOXINAS

Dra. Silvia Resnik
 Dra. en Ciencias Químicas U.B.A.
 Coordinadora Subprograma de Micotoxinas de la
 Secretaría de Ciencia y Técnica de la Nación
 Asesora del Programa Nacional de Investigaciones
 en Tecnología de Alimentos.
 Argentina.

El objetivo del muestreo es tomar una porción de un lote que sea representativo de dicho lote. Cuando las micotoxinas están distribuidas homogéneamente, tal es el caso de aflatoxina M₁ en leche, una simple agitación nos permite extraer una muestra representativa.

En la Figura 1 se encuentra el esquema de tres mazorcas de maíz, las zonas rayadas corresponden a aquellos granos que presentaban contaminación por aflatoxinas. Como se puede observar la presencia de estas sustancias tóxicas tiene una distribución bastante heterogénea.

La heterogeneidad se puede ver en el Cuadro 1, donde se observa el contenido de aflatoxina B₁ en muestras tomadas en distintos puntos de un silo conteniendo maíz. Como se puede ver hay mayor contaminación en la periferia que en el centro. Las muestras que se tomaron de la periferia demostraron que la contaminación varía de acuerdo a la posición de la misma en el silo. Esto se puede deber a las condensaciones por diferencia de temperatura.

CUADRO 1. Heterogeneidad de la contaminación. Hemilton (1978).

Muestra	Lugar de muestreo en el silo de maíz	Contenido de aflatoxina B ₁
1	Periferia	120
2	"	350
3	"	35
4	Centro	20
5	"	20
6	"	20

El error total en la determinación de la contaminación por micotoxinas se debe al error de muestreo propiamente dicho, al de las submuestras y por último al error analítico.

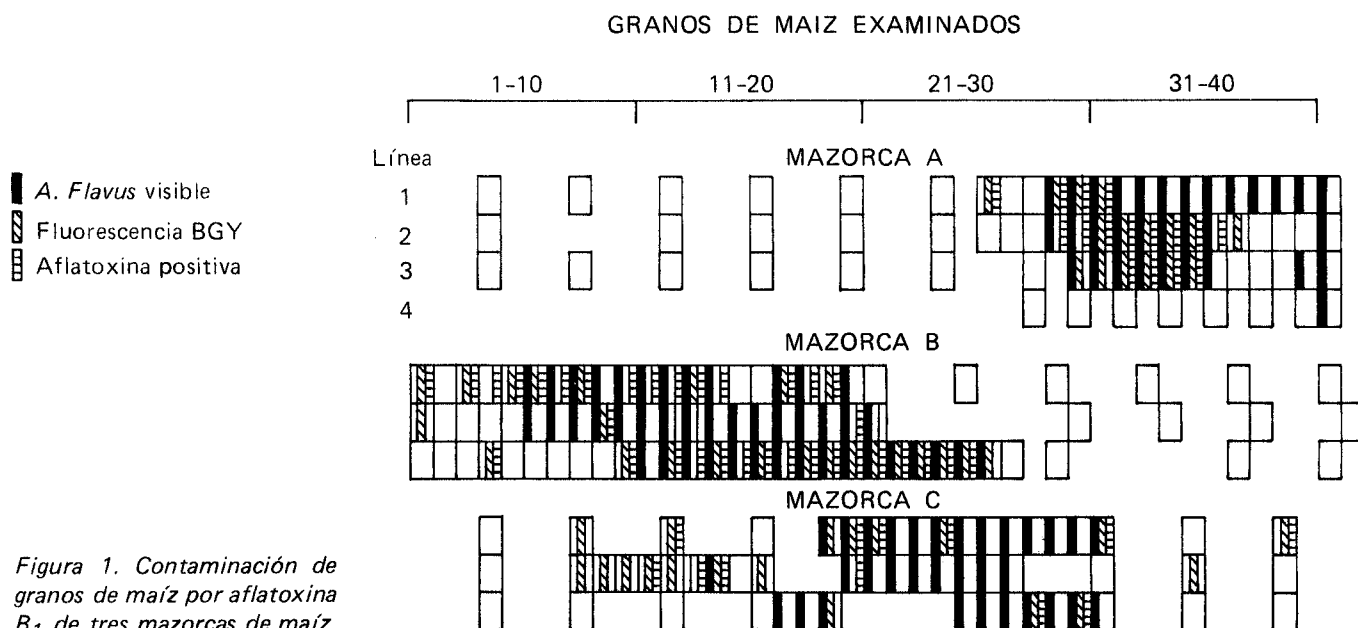


Figura 1. Contaminación de granos de maíz por aflatoxina B₁ de tres mazorcas de maíz.

Si analizamos la contribución relativa de los tres errores (Figura 2), para el caso de un lote de maní (Whitaker, 1977, Pure and Appl. Chem., 49/709) para una muestra de 21,8 kg de la cual se tomó una submuestra de 1,1 kg el análisis por duplicado de 18,3 g nos permite concluir que el muestreo propiamente dicho es el que contribuye en mayor grado al error total.

Dadas las características antes enunciadas, pasaremos a analizar el equipamiento a utilizar para realizar el muestreo y las posibles alternativas para disminuir el error.

EQUIPAMIENTO

En otros países se cuenta con procedimientos automáticos para extraer muestras primarias del lote, asegurando la representatividad del conjunto. En la Argentina no se cuenta con muestreadores automáticos y el instrumental más usado en el caso de cereales y oleaginosas es el recomendado por la Junta Nacional de Granos (JNC) y que figura en su resolución 26.120/84 (Método de muestreo de granos). Revisando dicha resolución y considerando la disponibilidad de equipamiento es conveniente la utilización de la Norma Panamericana COPANT 989/

78, ya que presenta algunas ventajas. Por ejemplo, en caso de no poder extraer muestras en flujo se debe tomar del acoplado, vagón, etc. y en este caso la Norma COPANT recomienda más puntos de extracción que la JNG. La Norma COPANT define la cantidad de muestras a tomar de acuerdo al ensayo.

Por estas y otras apreciaciones se ha decidido utilizar la norma COPANT para la detección de micotoxinas.

La forma de utilización del equipamiento de muestreo y el lugar de su aplicación se encuentran detallados en la misma. Se propone una variante a dicha Norma en cuanto al toma de muestra conocido como cucharín tipo Pelicano (Figura 3). Como se puede observar en la Figura 4 es difícil colocar el cucharín tipo Pelicano, sin poner en peligro al personal encargado de la toma de muestra. Por ello se ha diseñado un muestreador modificado del tipo Pelicano, cuyo esquema se observa en la Figura 5. En la Figura 6 se puede ver su forma de aplicación.

Desde la obtención de la muestra hasta su análisis se debe prevenir el crecimiento de hongos y producción de micotoxinas. Ello se logra por un rápido procesamiento o por el secado de las muestras.

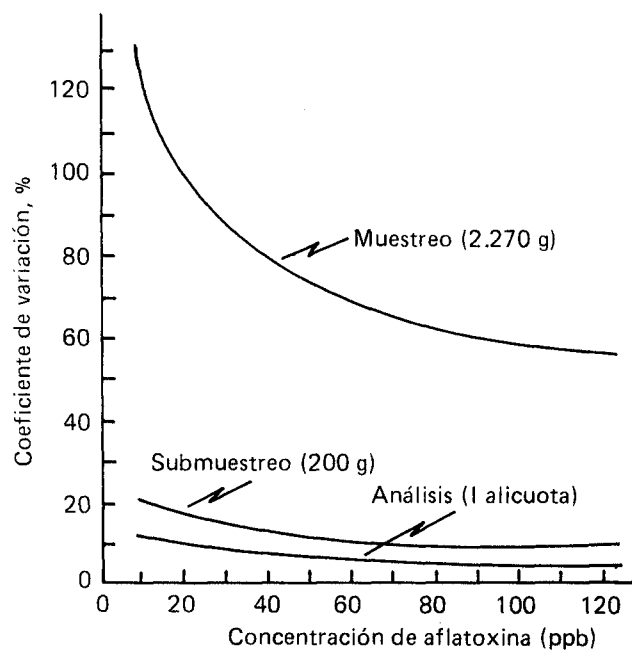


Figura 2. Contribución relativa de los errores de muestreo, submuestreo y análisis.

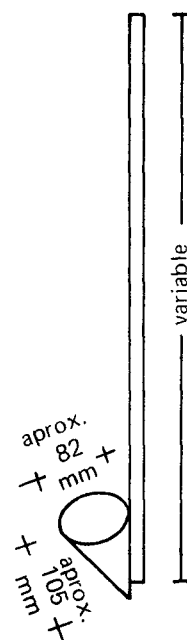


Figura 3. Sacamuestras cucharín.

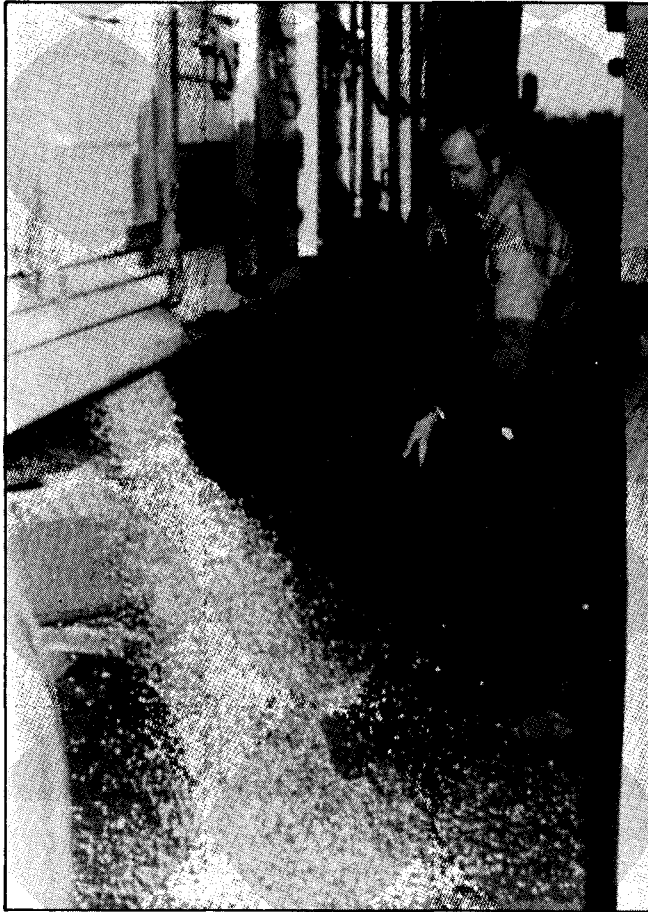


Figura 4.



Figura 6.

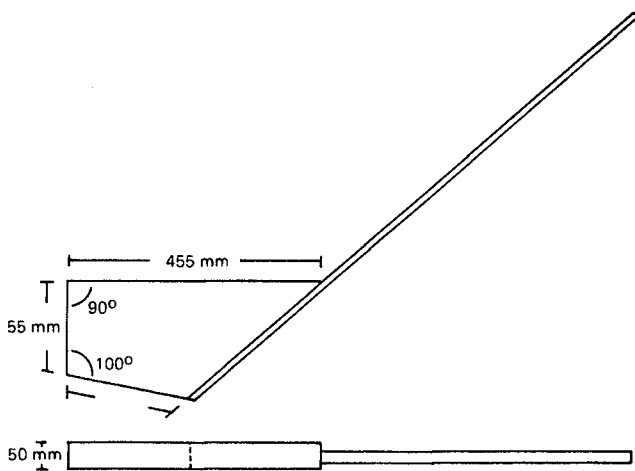


Figura 5. Muestreador de cereales.

En lugar de analizar grandes muestras, usualmente se toma una submuestra para determinar el contenido de micotoxinas. Los artículos muestreados deberán mezclarse, molerse y mezclarse nuevamente antes de tomar la submuestra.

Debido a que el error de submuestreo es inversamente proporcional al número de partículas de la submuestra, se busca que la molienda de la muestra produzca partículas extremadamente pequeñas. En algunos casos, por ejemplo en maíz, una vez obtenida la muestra representativa del lote, luego de la mezcla, se realizan dos moliendas. Una molienda gruesa para reducir el tamaño de partículas de modo que el material pase por una malla 14, se mezcla para uniformar y se subdivide para obtener una porción que se vuelve a moler (debe pasar por una malla 20), se mezcla y se subdivide para obtener la muestra analítica de 25 a 100 g dependiendo del método a utilizar.

En la Figura 7 se puede observar el cuarteador y en la Figura 8 el molino que se utiliza para que el material pase por malla 14 y en la Figura 9 el molino necesario para que pase por malla 20.

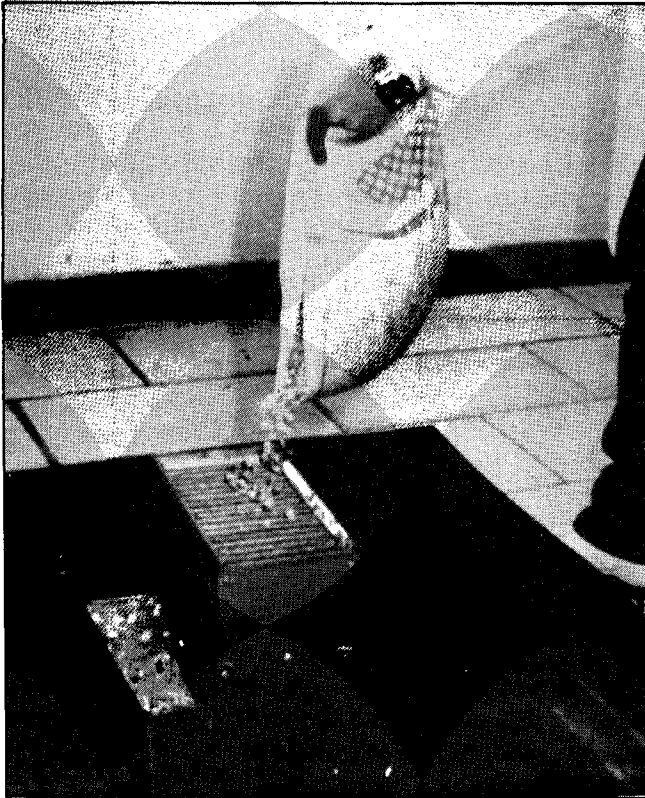


Figura 7.

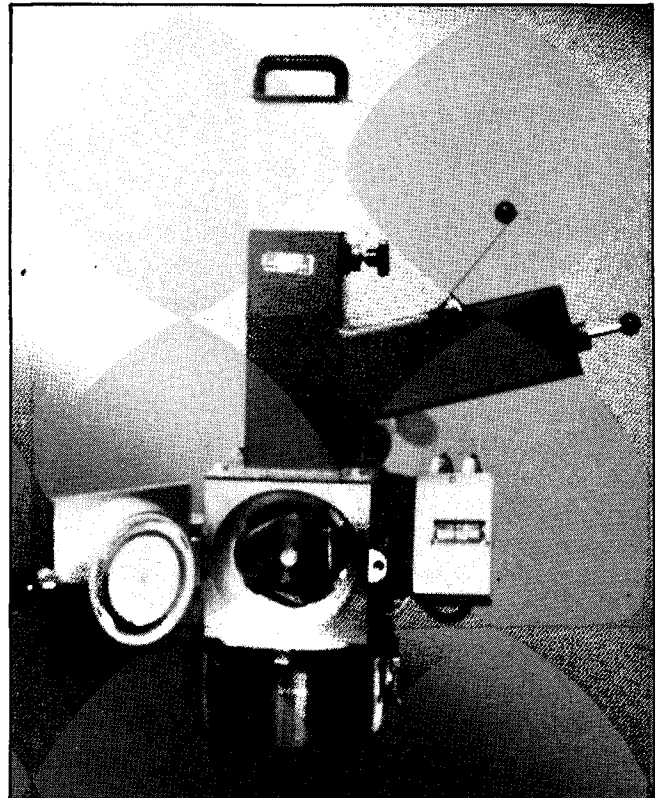


Figura 9.



Figura 8.

METODOLOGIA

Existen tres alternativas para disminuir el error del muestreo:

1. Recolectar muestras representativas mayores.
2. Análisis de varias muestras.
3. Descenso del nivel de contaminación aceptado del lote.

En la Figura 10 aparece la curva característica de operación para distintos tamaños de muestra. La misma representa la probabilidad de que un plan de muestreo acepte un lote cuyo contenido de micotoxinas sea de 20 microgramos por kilo de aflatoxinas. Como se puede observar a medida que aumenta el tamaño de muestra la curva de operación se acerca a la ideal, o sea existe menor riesgo para el consumidor y el productor.

Un programa usado en EE.UU., el año 1975, para determinar el contenido de aflatoxinas en el cultivo de maní, significó establecer un número de 6 análisis para determinar la aceptación o rechazo de un lote de maní. Esto implica un alto costo de análisis.

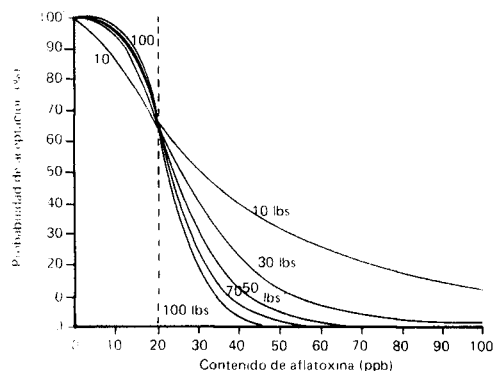
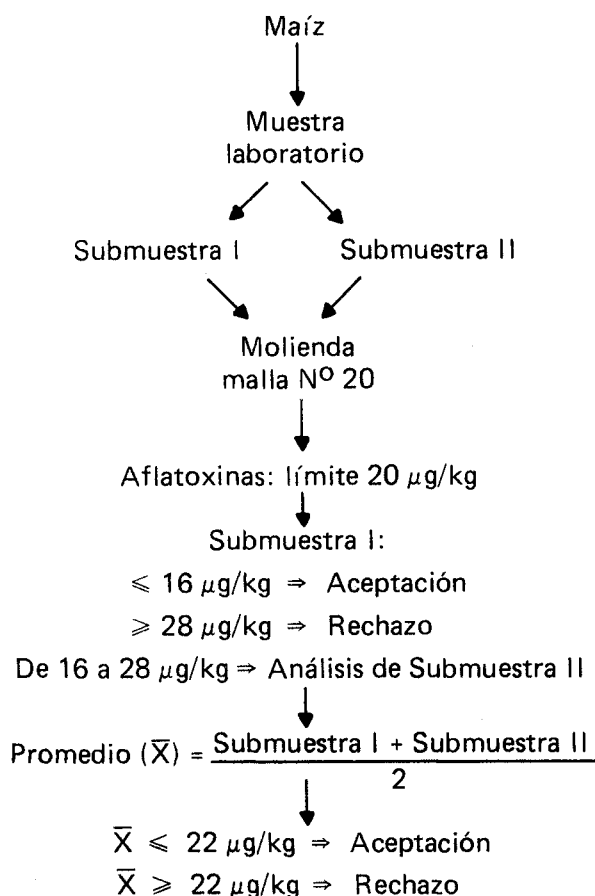


Figura 10. Curva de operación en función del tamaño de muestra.

En base a estas consideraciones y utilizando una distribución Chi-cuadrado, aceptando como válida la distribución de contaminación de aflatoxinas en maíz establecida por Whitaker en EE.UU., minimizando los costos que incluyan riesgos del comprador y del productor, el costo del muestreo y de los análisis, como así también el beneficio que resulte de rechazar previo a su industrialización, exportación o consumo los lotes de calidad inaceptable se propuso el siguiente esquema de trabajo:



Para ello se ha supuesto que las varianzas analíticas y la del submuestreo son despreciables frente a la varianza de muestreo.

Es necesario conocer la distribución de contaminación de cada micotoxina de acuerdo al grano para minimizar este plan de muestreo. Para ello se ha establecido como primera aproximación los tamaños de muestra (Cuadro 2) para que por sucesivos estudios de incidencia se puedan ajustar los planes de muestreo para cada micotoxina.

CUADRO 2. Tamaño de la muestra según tipo de granos.

Tipo de grano	Tamaño de la muestra (kg)
Pequeños granos (trigo, sorgo, avena y maíz)	10
Maní, soja y girasol	50
Algodón	60

BIBLIOGRAFIA

1. AOAC. 1980. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th Ed. Chapter 26, p. 420.
2. FAO. 1979. Serie Inspección de los Alimentos, N° 4 "Directrices para la vigilancia de las micotoxinas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma.
3. HORWITZ, W. 1982. Analytical Chemistry 54, 67A-76A.
4. QUIROGA, N. 1985. "Estudio de metodología analítica para aflatoxinas y zearalenona en maíz y aflatoxinas en pellet de soja", Tesis de Magister Sciental en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Mar del Plata.
5. RESNIK, S.L. 1988. "Situación del problema de las micotoxinas en la República Argentina", Seminario Latinoamericano y del Caribe sobre Micotoxinas, Buenos Aires, 14-18 de noviembre.
6. RODRICKS, J.V.; Hesseltine, C.W. and Mehlman, M.A. 1977. Mycotoxins in Human and Animal Health, Pathotox, Illinois.

7. SCOTT, P.M.; Panalaks, T.; Kanhere, S. and Miles, W.F. 1978. Analysis of zearalenone in cornflakes and other corn based foods by thin layer chromatography, high pressure liquid chromatography and gas liquid chromatography/high resolution mass spectrometry. *J. Assoc. Offic. Chem.* 61: 593-600.
8. SMITH, J.E. and Moss, M.O. 1985. *Mycotoxins. Formation, analysis and significance*, John Wiley & Sons, 1985.
9. VARSAVSKY, E.; Vaamonde, G. y Resnik, S.L. 1985. *Micotoxinas. Panorama actual en la República Argentina*. Publicación de la Secretaría de Ciencia y Técnica, Programa Nacional de Investigaciones en Tecnología de Alimentos.