

Estudio de la presencia de aflatoxinas en cereales para niños, expendidos en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca

Study of the presence of aflatoxins in cereals for infants, expended in the market El Arenal of the city of Cuenca

Monica Tinoco¹

¹ Facultad de Ciencia y Tecnología Universidad del Azuay, mtinoco@uazuay.edu.ec

Recibido: 07-01-2016. Aceptado: 15-06-2016

Resumen. El presente estudio tiene como objetivo determinar la presencia de aflatoxinas en los cereales extrusados que se venden al granel en el mercado El Arenal. En un periodo de cinco meses se recolectaron 30 muestras, las cuales fueron analizadas en los laboratorios de la Universidad del Azuay utilizando el kit Veratox para aflatoxinas HS, el cual es capaz de determinar cuantitativamente aflatoxinas B1, B2, G1, y G2 a través de la lectura por el método de inmuno adsorción ligado a enzimas (ELISA). Del total de muestras analizadas, el 1 % estuvieron dentro de los límites permitidos 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, valor regulado por la legislación de la Unión Europea, misma que se ha tomado como referencia para este estudio ya que el Ecuador no dispone de una normativa para productos derivados del maíz; sin embargo es importante observar que el 80 % de las muestras presentan niveles bajos de aflatoxinas y esto en plazos largos podría ser una de las causas de diferentes patologías relacionadas con el cáncer.

Palabras claves. aflatoxina, carcinogénico, cereales, ELISA.

Abstract. This study aims to determine the presence of aflatoxins in extruded cereals sold in bulk at El Arenal market. During a period of five months, 30 samples were collected and then analyzed in the laboratories of “Universidad del Azuay” by using the Veratox kit for Aflatoxin HS. This kit is capable of determine quantitatively aflatoxins B1, B2, G1 and G2 through the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. From the total samples analyzed, 1 % was within the permitted limit of 10 mg/Kg, which is the European Union legislation. This value has been taken as reference for this study because Ecuador does not have a regulation for corn products; however, it is important to note that 80 % of the samples show low levels of aflatoxins, which in a long term could be one of the causes of various diseases related to cancer.

Keywords. aflatoxin, carcinogenic, cereals, ELISA.

Forma sugerida de citación: Monica Tinoco(2016), “Estudio de la presencia de aflatoxinas en cereales para niños, expendidos en el mercado El Arenal de la ciudad de Cuenca” , Revista de la Facultad de Ciencias Químicas, N°. Ed. especial, Septiembre, pp.7-12, ISSN: 1390 - 1869.

1. Introducción

Las aflatoxinas B1, B2, G1, G2 son metabolitos secundarios producidos por *Aspergillus flavus* o *Aspergillus niger* [1]; de ahí su nombre: la letra A hace referencia al género *Aspergillus*, las tres siguientes letras FLA procede del especie *flavus* y TOXINA se refiere a su efecto tóxico en cuanto a la diferenciación B y G se debe al color de fluorescencia que emite bajo la luz UV, azul (Blue) y verde (Green) respectivamente y los subíndices 1 y 2 para hacer referencia a su movilidad cromatográfica relativa [2].

Dentro de las propiedades químicas de las aflatoxinas se sabe que es una molécula polar, es decir puede extraerse con disolventes polares como cloroformo, soluciones acuosas de metanol o acetona, son termo resistentes y estables a un pH entre 3 y 10.

Estas toxinas son muy comunes en granos y cereales como maíz, maní, semillas de algodón, alimentos que por sus condiciones de almacenamiento y transporte generan el ambiente propicio para el crecimiento de los hongos.

La aflatoxina B1 es considerada por la Agencias Internacional para la Investigación sobre el Cáncer como un carcinogénico afectando principalmente a los riñones, hígado y cerebro. Diferentes factores dentro de la fisiología del ser humano, así como la dosis ingerida, influyen para que se presente la enfermedad conocida como aflatoxicosis [3]. Puede presentar una toxicidad aguda, la cual es menos probable en el hombre, por la ingesta de cantidades elevadas de aflatoxinas, manifestándose con necrosis y/o muerte celular hepática; y la toxicidad crónica, siendo la forma más frecuente, debido al consumo de alimentos contaminados con bajos niveles de aflatoxina durante largos periodos de tiempo, a través de la dieta normal, se manifiesta como un hepatocarcinoma con síntomas como dolor abdominal, náuseas, pudiendo llegar a la muerte [3].

Teniendo presente la incidencia de aflatoxinas en los cereales y semillas y su efecto en el ser humano, la Unión Europea en su Reglamento (EU) n°165/2010 de la Comisión, de 26 de febrero de 2010 [4], que modifica, en lo que respecta a las aflatoxinas, el Reglamento (CE) n°1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios establece: un contenido máximo de aflatoxina B1 de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y un contenido máximo total de aflatoxinas de 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en todos los cereales y todos los productos derivados de los cereales, con excepción del maíz que vaya a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano con relación al cual se haya establecido un contenido máximo de aflatoxina B1 de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y un contenido máximo total de aflatoxinas de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. El Comité Científico para la Alimentación de la Comisión Europea emitió en 1994 una opinión estableciendo que cantidades tan bajas como 1 ng/Kg peso/día o inferiores podrían ser suficientes para contribuir al riesgo de padecer cáncer de hígado.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es determinar la posible presencia de aflatoxinas en muestras de cereales infantiles a base de maíz. Los mismos que son expendidos al peso sin una marca o registro sanitario en los mercados locales de la Ciudad de Cuenca.

2. Materiales y métodos

2.1 Muestreo

El mercado El Arenal cuenta con 4 puestos que venden al por mayor los cereales extrusados, de acuerdo a las breves entrevistas con las vendedoras, se pudo determinar que todo el producto es procedente de la provincia de El Oro-Ecuador; razón por la cual se optó por recolectar suficiente cantidad de cereales de cada uno de los locales en el mismo día y trabajar con un compost de los cereales por fecha; cada

fecha de muestreo corresponde a una muestra, de esta manera se trabajó con una muestra de mayor representatividad.

Se recolectaron 30 muestras de los cereales extrusados, elaborados a base de maíz en sus diferentes presentaciones (aros, estrellas, bolas, entre otras); así como los cereales reventados, denominados “palomitas” con cubierta de caramelo, producto que en su mayoría es consumido por niños.

El muestreo se realizó en un lapso de 5 meses, este tiempo se debe a que la rotación del producto es en intervalos de 5 a 7 días, a través de esto se garantizó que cada muestra era de un lote diferente.

Las muestras se llevaron al laboratorio a temperatura ambiente, y se trabajó con la metodología del muestreo por cuarteo. Se distribuyó cada muestra en una superficie plana, dividiendo en cuatro parte iguales A,B,C y D de éstas, se tomó las porciones opuestas A y C, mezclando estas dos porciones y repitiendo el proceso de la misma manera hasta obtener el peso necesario para preparar la muestra para el análisis: esto se conoce como método de cuarteo [5].

2.2 Preparación de la muestra

Las muestras fueron preparadas de acuerdo a las instrucciones que da el kit VERATOX para aflatoxinas HS.

Aproximadamente 200 gramos de muestra se trituran y se pasa a través de un tamiz de malla 20 mesh. Las muestras trituradas se almacenaron en bolsas de plástico a temperaturas de refrigeración hasta ser analizadas.

De acuerdo a la técnica VERATOX, se pesó 5 gramos de muestra a la que se adicionó 25ml de metanol al 70 % con agitación fuerte durante tres minutos. Esta mezcla fue filtrada en papel Whatman N°1. Una vez obtenido el extracto, la muestra estuvo lista para ser analizada.

2.3 Análisis de aflatoxinas en muestras

En la presente investigación, para la parte analítica se utilizó el kit “Veratox-Análisis cuantitativo de aflatoxinas”, técnica aprobada por la AOAC USDA-GIPSA 2008-011.

El kit VERATOX para aflatoxinas HS, determina cuantitativamente aflatoxinas (B1, B2, G1, G2) a través de la lectura por el método por inmuno absorción ligado a enzimas (ELISA).

El inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) es una de las técnicas más aplicadas para la detección de antígenos y anticuerpos. El principio básico es el uso de anticuerpos o antígenos conjugados con una enzima que al reaccionar con el sustrato específico producen una reacción de color que se puede cuantificar con un espectrofotómetro a una longitud de onda apropiada [6].

Este kit cuenta con 38 pocillos, una solución sustrato, una solución de conjugado y una solución “stop” para detener la reacción, además de 4 controles de aflatoxinas 0ppb, 5ppb, 15 ppb y 50 ppb.

Adicionalmente, algunas muestras (n=xx) fueron enviadas a un laboratorio externo, Laboratorios AVVE, el mismo que se encuentra acreditado con la finalidad de garantizar la confiabilidad de los resultados.

3. Resultados y Discusión

3.1 Resultados

De los resultados del contenido de aflatoxinas en las 30 muestras analizadas se determinó que el 100 % de las muestras analizadas están por debajo de los 10 ppb de aflatoxina permitidos por la legislación Europea en su Reglamento (EU) n°165/2010.

Para el análisis estadístico se maneja un análisis descriptivo donde las muestras generaron los resultados que se presentan en la Tabla 1, donde el valor mínimo es de 0 ppb y el valor máximo es de 8.3 ppb.

Tabla 1. Análisis estadístico de los datos.

Tamaño de la muestra	30
Mínimo	0
Máximo	8.3
Mediana	1.2
Media aritmética	1.4033
Varianza	2.5307
Desviación estándar	1.5908

En la Figura 1 box plot se observa claramente que los datos están agrupados en su mayoría hacia el primer cuartil, es decir que las muestras están por debajo de la mediana 1.2, los bigotes representan los valores atípicos que en este caso son los límites máximo y mínimo.

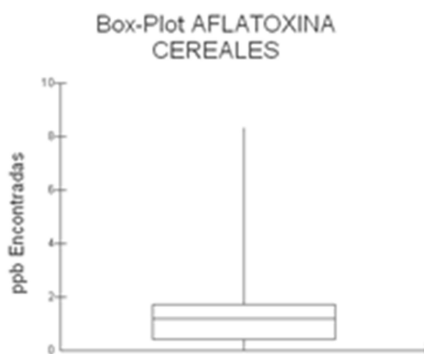


Figura 1. Box plot muestras de cereales extrusados.

En la Figura 2 se aprecia un gráfico de sectores los cuales demuestran que el 80 % de las muestras estudiadas contienen aflatoxinas en cantidades de 2ppb o menor, mientras que en porcentajes menores del 6.7 % contienen 3.1 ppb hasta 8.3 ppb de aflatoxinas.

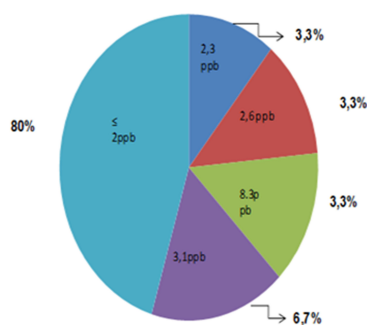


Figura 2. Gráfico de sectores.

3.2 Discusión

En el país existen algunas investigaciones referentes al contenido de aflatoxinas en diferentes alimentos, entre uno de ellos está un estudio en el que se determina que la harina de maíz expandida en un sector de la provincia de Pichincha, contiene niveles fuera de norma de aflatoxina B1[7], lo que pone en alerta sobre la presencia de esta micotoxina, este antecedente permite deducir que existe el riesgo de que los productos elaborados a partir de esta materia prima puedan exceder los límites permitidos. Es muy posible que en el resto del país se den condiciones similares en los granos de maíz, por lo que es necesario que los organismos de control no descuiden la inocuidad de los alimentos relacionados con aflatoxinas.

El Ecuador tiene la norma INEN 187:2013 [8], en la cual no existe como requisito el control de micotoxinas, dejando a opción del productor el control de este factor; FDA señala en su regulación los niveles de aflatoxina para alimentos (excepto la leche) un límite máximo de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Sin embargo por la importancia que tiene esta toxina dentro de la salud pública la regulación Europea es mucho más exigente, la cual señala un límite máximo de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas totales y máximo 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxina B1.

De las muestras analizadas, se demuestra que los cereales extrusados que se expenden en los mercados de la ciudad de Cuenca están dentro de los parámetros exigidos por las normas de referencia, por lo que se trata de un producto sin mayor riesgo, en cuanto a aflatoxinas se refiere, para el consumidor vulnerable como son los niños. Sin embargo, del número de muestras analizadas, el 60 % tiene un contenido mayor a 1 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de aflatoxina y de acuerdo al pronunciamiento por la autoridad europea de seguridad alimentaria, EFSA, la exposición a las aflatoxinas procedentes de cualquier fuente debía ser la más baja razonablemente posible, ya que las aflatoxinas se activan en el hígado y se convierten en carcinogénicos activos que se acumulan por años en el ADN, específicamente se estima que un 17 % de aflatoxinas no se elimina del cuerpo [9].

Es importante recalcar que la toxina es capaz de persistir en la matriz alimenticia a pesar de que el hongo toxigénico haya desaparecido. Debido a la composición química de la aflatoxina, los procesos térmicos que recibe la harina de maíz para la producción de cereales infantiles, no elimina por completo la presencia de las micotoxinas debido a su elevada estabilidad térmica [10], por otro lado al trabajar con temperaturas superiores a las recomendadas en el proceso, se pueden presentar cambios indeseables en la calidad y valor nutricional del producto final, por lo que, los consumidores están expuestos a bajos niveles de aflatoxina dentro de la dieta habitual.

4. Conclusiones

El 100 % de las muestras de cereales extrusados elaborados a base de maíz para niños, expandidos en los mercados de la ciudad de Cuenca están dentro de los límites permitidos por la legislación en lo que se refiere a aflatoxinas, es decir, el contenido de esta micotoxina está por debajo de 10ppb.

A pesar de que los cereales cumplen con los límites permitidos por la normativa europea, el 60 % de las muestras contienen cantidades entre 1.2 ppb (mediana) y como está demostrado, estas toxinas con el tiempo van acumulándose en el organismo, pudiendo en un futuro ser un riesgo de sufrir algún tipo de enfermedad hepática, más aun si el alimento es de continua ingesta. Los cereales extrusados vendidos al granel no cuentan con registros sanitarios ni datos que permitan llevar una trazabilidad del producto. Por lo tanto, se recomienda a los entes de control en los mercados, considerando la importancia de las micotoxinas en la salud pública, la supervisión a los alimentos procesados y envasados que cuenten con su registro sanitario, lo que ya sería una garantía sobre la inocuidad del producto. Por otro lado, es importante y necesario crear consciencia en los vendedores y consumidores sobre la importancia de conocer la procedencia de los alimentos que se consumen y los riesgos a la salud de

la población, que estos implican al no tener las garantías sanitarias y de inocuidad.

Referencias

- [1] P. Valle Vega and B. Florentino, *Toxicología de Alimentos*, México, DF, 2000.
- [2] J. Soriano Castillo, *Micotoxinas en alimentos*. España: Editorial Diaz Santos, 2007.
- [3] D. G. Peña, “La exposición a la aflatoxina B1 en animales de laboratorio y su significado en la salud pública,” *Salud Pública Mex*, vol. 49, pp. 227–235, 2007.
- [4] Reglamento (EU) No 165/2010 de la Comisión de 26 de febrero de 2010. Unión Europea: Diario Oficial de la Unión Europea, 2010.
- [5] D. O. de la Federación, *Norma Mexicana NMX-AA-15-1985*. México: Protección al ambiente-Contaminación del Suelo-Residuos Sólidos Municipales-Muestreo-Método de Cuarteo, 1992.
- [6] S. Gutiérrez, *Fundamentos de Ciencias Básicas aplicadas a la Odontología*. Colombia: 1ra ed., Editorial Pontificia Universidad Javeriana, 2006.
- [7] M. J. Vallejo López, *Determinación de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 presentes en harina de maíz del sector Tumbaco mediante el uso de columnas de inmutafinidad (IAC) y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)*. ESPE, Sangolquí: Tesis Doctoral, 2012.
- [8] I. E. de Normalización, *Granos y Cereales. Maíz en grano. Requisitos*. Quito, Ecuador: N. T. E. I. E. N. 187:2013, Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013.
- [9] M. N., *Advierten que ciertos alimentos pueden provocar cáncer*. México: El Universal, 2008.
- [10] M. Bolet Astoviza and M. Socarrás Suárez, “Micotoxinas y cáncer,” *Rev Cubana Invest Biomed*, vol. 24, pp. 54–59, 2005.