

PRESENCIA DE AFLATOXINAS EN ALIMENTO BALANCEADO COMERCIAL PARA CONSUMO ANIMAL*

Presence of aflatoxins in commercially balanced food for animal consumption

Yumaris Arias¹, AriannyBonilla¹, Carlos Gómez¹, Ángel Vizcaya² y Jean Ruiz²

RESUMEN

Las aflatoxinas representan un peligro latente para la salud humana y animal, son definidas como metabolitos del grupo bis furanocumarina producido por el género *Aspergillus (flavus y parasiticus)*, denominados B1, B2, G1, G2, M1 y M2. La finalidad del estudio fue detectar la presencia de aflatoxinas en alimento balanceado comercial para consumo animal. Los resultados se compararon con los niveles permitidos de aflatoxinas según las normas COVENIN 1603-80 2007 y FDA 2006; se relacionó el efecto de la temperatura y la humedad del alimento con la presencia de aflatoxinas. La investigación se realizó entre septiembre y octubre de 2013, en alimentos balanceados para consumo animal, fabricados en una planta ubicada en Guanare-Portuguesa. Se realizó un muestreo aleatorio simple constituido por 40 muestras de aproximadamente 200 g cada una. Las muestras se procesaron por método inmunoenzimático mediante la técnica de Elisa competitivo (Kit VERATOX^R), estandarizada en el laboratorio de diagnóstico fitosanitario de aflatoxinas totales INSAI, Portuguesa. Los resultados mostraron la presencia de aflatoxinas en todas las muestras, con niveles entre 3,7 y 114 ppb con promedio de 29 ±20 ppb. Por comparación de medias T de student se obtuvo que el nivel promedio fue significativamente (P<0,01) mayor a lo indicado en la norma de referencia, por lo que no es apto para el consumo de animales jóvenes y en producción de leche. La humedad y temperatura de almacenamiento no influyó (p>0,01) sobre la cantidad de aflatoxinas presentes en cada muestra. Se recomendó utilizar técnicas de análisis más específicos para determinar el grupo de aflatoxina presente en el alimento.

Palabras clave: contaminación, alimento balanceado, Elisa competitivo

ABSTRACT

Aflatoxins represent a latent danger to human and animal health; they are defined as metabolites of the bis furanocoumarin group produced by the genus *Aspergillus (flavus y parasiticus)*, denominated B1, B2, G1, G2, M1 and M2. The purpose of the study was to detect the presence of aflatoxins in commercial balanced feed for animal consumption. The results were compared with the permitted levels of aflatoxins according to the standards COVENIN 1603-80 2007 and FDA 2006; the effect of temperature and humidity of the food was related to the presence of aflatoxins. The researcher conducted the study between September and October 2013, on balanced feed for animal consumption, manufactured at a plant located in Guanare-Portuguesa. A simple random sampling consisted of 40 samples of approximately 200 g each. The samples were processed by immunoenzymatic method using the competitive Elisa technique (Kit VERATOXR), standardized in the laboratory of phytosanitary diagnosis of total aflatoxins INSAI, Portuguesa. The results showed the presence of aflatoxins in all the samples, with levels between 3.7 and 114 ppb with an average of 29 ± 20 ppb. By comparing student T means, it was obtained that the average level was significantly (P <0.01) higher than that indicated in the reference norm, so it is not suitable for the consumption of young animals and in milk production. The humidity and storage temperature did not

(*) Recibido: 22-03-2017

Aceptado: 15-08-2018

¹Unellez, Vicerrectorado de Producción Agrícola, Programa de Ciencias del Agro y el Mar, Subprograma Ingeniería de Producción Animal. E-mail y_u_maris@hotmail.com.

²Laboratorio de diagnóstico fitosanitario de aflatoxinas totales INSAI, Portuguesa.

influence ($p>0,01$) on the amount of aflatoxins present in each sample. The results recommended using more specific analysis techniques to determine the aflatoxin group present in the food.

Key words: contamination, balanced feed, competitive Elisa

INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas, químicamente son un grupo de metabolitos del grupo bis furanocumarina producido por *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y *Penicillium puberulum* denominadas B1, B2, G1 y G2, las M1 y M2 son metabolitos hidroxilados de la aflatoxina B1 (Ledezma *et al.* 2004 y Carvajal 2013). Se han descubierto más de 3.500 micotoxinas con diferentes niveles de toxicidad, sin embargo, las aflatoxinas son las más frecuentes y dañinas en cantidades trazas. Las aflatoxinas no tienen sabor, color ni olor. Son fluorescentes con ultravioleta, resistentes a altas temperaturas (de 260 a 320 °C), de modo que hervir, cocer, fermentar o pasteurizar los alimentos no las elimina.

La B1 es considerada la más tóxica, es clasificada como cancerígena para el ser humano y la aflatoxina M1 como posiblemente cancerígena para el ser humano. Las aflatoxinas son inmunosupresoras porque inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica en la que inhibe la formación del ADN, ARN y proteínas en el ribosoma (Carvajal 2013). Todas las aflatoxinas son carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas.

La toxicidad aguda de las aflatoxinas se manifiesta principalmente como lesiones hepáticas. En la forma subaguda, los animales jóvenes pueden presentar retardo en el crecimiento, pérdida del apetito, se compromete el sistema inmunitario por su acción degenerativa sobre el timo y la bursa de Fabricio, aumento de la fragilidad capilar porque afecta el tiempo de coagulación sanguínea, provocando la presencia de hematomas, postración y muerte (Requena *et al.* 2005). Por la pérdida de apetito hay disminución de sus capacidades productivas, como disminución en la puesta de huevos en las gallinas (Iqbal *et al.* 1983), disminución en la producción de leche en las vacas, disminución en la ganancia en peso y disminución en la conversión alimentaria (Dieckman y Green 1992), trastornos

reproductivos, hormonales y disminución de la resistencia inmunológica (Morris 2011; Kensler *et al.* 2010).

Los *Aspergillus* son generalmente hongos que se multiplican en condiciones de almacenamiento y por lo común no contaminan los granos antes de la cosecha, sin embargo, condiciones de estrés en las plantas y daño producido por insectos pueden predisponer la infección a nivel de campo y la producción de aflatoxinas en los granos aún no cosechados (Fernández *et al.* 2000), principalmente la B1, y B2 producidas por el *Aspergillus flavus*. Armijo y Calderón (2009) citan que los alimentos más propensos al ataque micótico son los cereales, semillas y frutos secos, en general los alimentos en los que se ha encontrado gran producción y crecimiento de aflatoxinas es en maíz, trigo y arroz. Las aflatoxinas M1 y M2 por lo general son encontradas en la leche, debido a la ingesta del animal de alimento contaminado con aflatoxina B1.

Cuatro factores están vinculados estrechamente a la contaminación fúngica de los alimentos en el campo, así como durante el almacenamiento. Estos son: humedad, temperatura, oxígeno y tiempo (Ledezma *et al.* 2004) Otros factores que influyen en el crecimiento de los hongos son: la calidad del grano, la composición del sustrato (González *et al.* 1989), la capacidad genética del hongo (Dorner *et al.* 1984), la presencia de insectos (Barry *et al.* 1986) y el empleo de sustancias químicas (sales inorgánicas) durante el almacenamiento (Thanaboripat *et al.* 1992).

Detección de micotoxinas

Los métodos para el análisis de las micotoxinas han evolucionado en busca de una mayor precisión en la identificación de estas sustancias en alimentos, tejidos y fluidos orgánicos. En los primeros años que siguieron al descubrimiento de las aflatoxinas se publicó el

uso de la lámpara ultravioleta para detectar la fluorescencia.

Luego surge la utilización de los anticuerpos monoclonales para la detección rápida de aflatoxinas, en lotes sospechosos que posteriormente podrán ser sometidos al análisis cuantitativo. La cromatografía en capa delgada (TLC) se toma como una herramienta valiosa en el análisis semi cuantitativo o cuantitativo, adoptados como método oficial establecido por la Association of Analytical Chemistry hasta llegar actualmente a métodos más sofisticados como la Cromatografía de Alta Precisión (HPLC) y la Reacción en Cadena de Polimerasas (PCR).

También pueden utilizarse métodos basados en ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), a pesar de que es aconsejable reconfirmar por alguno de los métodos señalados anteriormente cuando se encuentren resultados positivos, ya que ELISA utiliza anticuerpos policlonales que puede dar resultados falsos positivos (Carlson *et al.* 2004).

OBJETIVOS

La finalidad del estudio fue cuantificar la presencia de aflatoxinas en alimento balanceado comercial para consumo animal. Comparar los resultados obtenidos del ensayo con los niveles de aflatoxinas permitidos por las normas COVENIN 1603-80 y la FDA 2006, relacionar el efecto de la temperatura y la humedad en el silo de almacenamiento sobre la presencia de aflatoxinas en el alimento.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó entre septiembre y octubre 2013, en una planta procesadora de alimentos balanceados para animales, ubicada en Guanare, estado Portuguesa. En la planta se lleva a cabo recepción semanal de maíz como materia prima proveniente de diferentes empresas y productores. La toma de muestras se realizó por muestreo aleatorio simple por 40 días (una muestra diaria). Se seleccionaron muestras homogéneas de aproximadamente 200 g cada una del alimento balanceado comercial para

consumo animal. Se tomaron 5 kg de alimento por cada 10 lotes (4 t /lote) para un total de 50 kg, de los cuales se escogieron los 200 gr de alimento a utilizar en el ensayo.

En el silo donde estaba almacenado el alimento, al momento de la toma del muestreo se midió la humedad y temperatura. Las muestras de alimentos fueron procesadas en el laboratorio para micotoxinas, adscrito al INSAI Araure-Portuguesa. Se usó la metodología inmunoenzimático sugerida en el Kit de Elisa competitivo VERATOX^R, laboratorio NEOGEN, que proporciona concentraciones exactas en partes por mil millones (ppb) de la toxina libre en la muestra. Es utilizado para el análisis cuantitativo de aflatoxinas en productos como el maíz, harina de maíz, harina de gluten de maíz, mezcla de maíz y soja, de trigo, arroz, el arroz elaborado, millo, soja, semilla de algodón entera, harina de semilla de algodón, maní crudo, mantequilla de maní. La determinación de los resultados fue realizada por el software estadístico Statistix 8.0 para Windows. Se evaluaron de manera descriptiva los resultados de contenido en ppb de aflatoxinas en muestras de alimento procesado comercial de consumo animal. Se compararon los niveles de aflatoxinas mediante la aplicación de la prueba de comparación de medias de T de Student (TDS) ($P < 0,01$) Se correlacionó el contenido de aflatoxinas en las muestras con la temperatura y humedad de los silos donde se almacenaba el alimento, mediante comparación de cuadrado de Pearson al 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todas las muestras de alimento balanceado se detectó la presencia de aflatoxinas. En la Tabla1 se aprecia que el promedio fue de 29 ± 20 ppb con valores mínimo de 3,7 y máximo de 114 ppb. Este resultado indica la variabilidad en el contenido individual de las muestras analizadas. Lemus *et al.* (2007) en la zona Nororiental de Venezuela, detectaron en maíz amarillo tipo duro cantidades mayor a 20 ppb de aflatoxinas, mediante el método inmunoenzimático Agree Screen (detección de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2).

La comparación de medias T Studen permitió apreciar, que el nivel promedio de aflatoxinas detectadas fue mayor ($P < 0,01$) a lo permitido en la norma COVENIN 1603-80 2007 y FDA 2006 para el maíz y maní (Tabla 2), lo que indicó que el alimento analizado no es apto para el consumo de animales jóvenes, vacas, cabras, ovejas y búfalas en producción de leche. Sin embargo, el alimento analizado puede ser consumido por animales de pie de cría de bovinos, porcinos y aves. Así como también en cerdos y bovinos de engorde.

Las aflatoxinas pueden resistir parcialmente los procesos de transformación, generan metabolitos secundarios similarmente tóxicos (principalmente aflatoxinas M1 y M2), que

pueden acumularse en los tejidos y se convierten en fuentes indirectas del aporte de estas toxinas, a través de las carnes, leche y huevos, generando así un problema en salud pública, y también puede provocar implicaciones económicas en la producción.

Referente al efecto de la temperatura y la humedad (30, 8-38 °C y 9,8 y 15 % respectivamente) en el silo sobre el contenido de aflatoxinas, no se encontró correlación entre la humedad $r = 0,0435$; $P = 0,7898$ y la temperatura $r = 0,1612$; $P = 0,03203$. Lo que indicó que estas condiciones no influyeron en la cantidad de aflatoxinas presentes en las muestras analizadas (Tabla 3).

Tabla 1. Contenido de aflatoxinas (ppb) en muestras de alimento comercial para consumo animal.

N° de muestras	Promedio σ ppb \pm	CV %	Mín. ppb	Máx. ppb
40	29 \pm 20	70	3,7	114

σ = desviación estándar; CV %: coeficiente de variación; Mín: cantidad mínima; Máx: cantidad máxima

Tabla 2. Comparación del contenido (ppb) de aflatoxinas en las muestras analizadas con lo estipulado en las normas COVENIN 1603-80 2007 y FDA 2006 (maíz y maní).

	Aflatoxinas en las Muestras (ppb)	Norma COVENIN 1603-80 2007 FDA 2006	Especie
Promedio	29,098ppb	20 ppb	Humanos, animales jóvenes, vacas lecheras.
TDS	2,82	100 ppb	Pie de cría en bovinos, porcinos y aves.
(P<0,01)	P=0,0037**	200 ppb	Acabado de cerdos de engorde(+ 45kg)
		300 ppb	Consumo de bovinos de engorde

Tabla 3. Correlación del contenido de aflatoxinas en muestras de alimento balanceado, con la temperatura y la humedad en el silo. Cuadrado de Pearson al 95 %.

	Humedad	Mín	Máx	Temperatura°C	Mín	Máx
AFLATOXINA	$r = 0,0435^{ns}$	9,896	15,174	$r = 0,1612^{ns}$	30,8	38
	P= 0,7898			P= 0,03203		

r: correlación; ns: no significativo; P: probabilidad. Mín: mínima; Máx: Máxima.

CONCLUSIONES

Todas las muestras procesadas presentaron concentraciones detectables de aflatoxinas, en el alimento balanceado comercial analizado, la cantidad detectada fue superior a los niveles y requerimientos establecidos en las normas COVENIN 1603-80 2007 y FDA, 2006 para la alimentación animal, no es recomendable su uso en animales jóvenes y en hembras lecheras, sin embargo, puede ser consumido por animales de pie de cría de bovinos, porcinos y aves.

Es de cuidado la presencia de aflatoxinas en el alimento destinado al consumo del animal porque de manera indirecta, el hombre al consumir leche, carne y huevos que contienen cantidades apreciables de estos metabolitos corre el riesgo de sufrir los efectos patógenos provocados por las aflatoxinas.

La humedad y temperatura en el alimento comercial al momento del muestreo no influyó sobre la cantidad de aflatoxinas, lo que permitió sugerir análisis más específicos para detectar el tipo de aflatoxina que está relacionado directamente con la contaminación del alimento balanceado comercial.

REFERENCIAS

Armijo C. y Calderón J. 2009. Esquema de acciones para evitar, controlar y desinfectar productos de hongos y aflatoxinas Rev. Per. Quím. Ing. Quím. 2 (2) : 15-24.

Barry, D., Lillehoj, N., Widstrom, W., McMillan, M., Zuber, W., Wolek and Guthrie W 1986. Effect of husk tightness and insect (Lepidoptera). Infestation on aflatoxin contamination of preharvest maize. Environ. Entomol. 6 (15): 1116-1118.

Carlson, P., Ensley, M., Grant, J., y Smith, R. 2004. Aflatoxina M1 en Leche. [Documento en línea]. En: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/aflatoxina-leche-t26045.htm> [abril de 2014].

Carvajal, M. 2013. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. D.R. © TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas 16(2):109-120.

Comisión Venezolana de Normas de alimentos COVENIN 1603-80. 2007. Métodos para determinar las aflatoxinas.

Dieckman, M., and Green, M. 1992. Mycotoxin and reproduction in domestic livestock. J. Anim. Sci. 70 (8): 1615-1627.

Dorner, J., Cole, R, and Diener, U. 1984. The relationship of *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. Mycopathología 87 (1): 13-15.

Fernández, G., Negron, G., Isea, G. y Sánchez, E. 2000. Reporte de análisis cuantitativo de aflatoxinas por el método de ELISA en muestras de materias primas de alimento balanceado para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara del estado Zulia, Venezuela. Rev. Científ. FCV-LUZ. X (1):63-68.

González, M., Elba, A. y Acosta, A. 1989. Evaluación y optimización de la producción de Aflatoxina B1 en sustratos naturales. Rev. Salud Animal 11 (6): 101-108.

Iqbal, Q., Rao, K. and Reddy, S. 1983. Dose response relationship of experimentally induced aflatoxicosis. Indian J. Anim. 53 (1): 1277-1280.

Kensler, T., Roebuck, B., Gerald N., and Groopman, J. 2010. Aflatoxine: A 50-year odyssey of mechanistic and translational. Toxicological Science, 1-21.

Ledezma, P., Ledezma, D., y Ledezma, S. 2004. Aflatoxinas. Acta méd. costarric vol.46 (4) [Revista en línea]. En: <http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?scrip>

[t=sci_arttext&pid=S0001-60022004000400004](#)[abril de 2014].

Lemus, E., Maniscalchi, B., Maria T., Vera, R., De Freitas, J. y Angermano, A. 2007. Presencia de aflatoxinas y hongos aflatoxigénicos en maíz amarillo tipo duro clase I de la zona nororiental de Venezuela. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela 19 (1): 43 - 49.

Morris, L. 2011. Determinación de aflatoxinas en muestras de maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) para consumo humano en cinco departamento del Caribe. [Revista en línea]. En: www.bdigital.unal.edu.co/4908/1/598921.2011.pdf [mayo de 2014).

Requena, F., Saume, E. y León, A. 2005. Micotoxinas: Riesgos y prevención. Zootecnia Trop. 23 (4): 393-410.

Sharma R. 1993. Immunotoxicity of mycotoxins. J. Dairy Sci. 76: 892-897.

Smith T. 1982. Influence of mycotoxins on protein and aminoacid utilization. Federation Proceedings 41 (2): 2828-2832.

Thanaboripat, D., Ramunsri, W., Apintanapong, M., and Chusanatasana, U 1992. Effects of sodium chloride, propionic acid and ammonium hydroxide on growth of *Aspergillus flavus* on corn and aflatoxin production. ASEAN Food J. 7 (1): 24-29.