

AFLATOXINAS: INCIDENCIA, IMPACTOS EN LA SALUD, CONTROL Y PREVENCIÓN

María Marcela Martínez Miranda¹
Liliana María Vargas del Río²
Verónica María Gómez Quintero³

RESUMEN

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos principalmente por *Aspergillus flavus*. La necesidad de investigar estas toxinas ha crecido en los últimos años debido a su alta incidencia en los alimentos de consumo masivo y a su toxicidad. Con el fin de profundizar en el conocimiento de las aflatoxinas, este artículo presenta una revisión general sobre estudios que reportan su presencia en alimentos en Latinoamérica, su impacto sobre la salud humana y animal, la legislación colombiana e internacional de aflatoxinas totales o individual, procesos de control, prevención, descontaminación y detoxificación, y por último los principales métodos para su análisis. Se encontró que en América Latina se presenta una incidencia importante de aflatoxinas, en especial la aflatoxina B1 en productos de alto consumo. La investigación en este campo ha contribuido al desarrollado de métodos físicos, químicos y biológicos de descontaminación y detoxificación de aflatoxinas, aunque estos podrían incrementar los costos de producción. Igualmente, estudios para detectar y cuantificar estas micotoxinas, han llevado a la generación de métodos analíticos confiables, siendo el más empleado en los últimos 30 años la cromatografía líquida de alta resolución. En concordancia con lo anterior, es relevante implementar medidas para evitar el crecimiento

de hongos productores de aflatoxinas, en procesos de cultivo, cosecha, recolección, almacenamiento y transporte, disminuyendo su presencia en alimentos. Finalmente, el impacto negativo en la salud humana y animal, en especial debido a su carcinogenicidad, muestra la importancia de realizar investigación sistemática en Colombia para comprender los mecanismos de producción y de acción de estas toxinas, generando fundamentos científicos más sólidos para prevenirlas y controlarlas, mediante normativas que regulen su concentración en diferentes matrices alimentarias; advirtiendo que en Colombia aún no se cuenta con resoluciones de obligatorio cumplimiento.

Palabras clave: aflatoxinas, incidencia, impactos en la salud, prevención y control, legislación sobre alimentos, descontaminación, análisis.

AFLATOXINS: INCIDENCE, IMPACT ON HEALTH, CONTROL AND PREVENTION

ABSTRACT

Aflatoxins are secondary toxic metabolites produced mainly by *Aspergillus flavus*. The need to investigate these toxins has grown in the last years due to their high influence in massive food intake and due to their toxicity.

¹ Bacterióloga y laboratorista clínico. M.Sc. Microbiología. Docente Departamento de Ingeniería. Universidad de Caldas. Autor para correspondencia: marcela.martinez@ucaldas.edu.co

² Ingeniera de Alimentos. Especialista en Desarrollo Agroindustrial. Universidad de Caldas.

³ Ingeniera de Alimentos. Universidad de Caldas.

In order to go deeper in the knowledge of aflatoxins, this article presents a general review of studies that report their presence in food in Latin America, their impact on animal and human health, the Colombian and international legislation of total or individual aflatoxins, control processes, prevention, decontamination and detoxification, and finally the main methods for their analysis. It was found that in Latin America there is an important presence of aflatoxins, especially B1 aflatoxin in products of high consumption. Research in this field has contributed to the development of physical, chemical and biological methods of aflatoxins decontamination and detoxification, although these methods could increase the production costs. To the same extend, studies to detect and quantify these mycotoxins have driven to the creation of reliable analytical methods being the High Performance Liquid Chromatography the most used in the last 30 years. According

to has been mentioned above, it is relevant to implement measures to prevent the growth of aflatoxin producing fungi in processes of farming, harvesting, recollecting, storing and transporting thus, reducing their presence in food. Finally, the negative impact in human and animal health, especially because of its carcinogenicity, shows the importance of carrying out systemic research in Colombia to understand the forms of production and action of these toxins in order to create more solid scientific foundations to prevent and control them through rules that regulate their concentration in different food matrices, warning that currently in Colombia there are no resolutions of mandatory compliance.

Key words: aflatoxins, incidence, health impact, prevention and control, legislation on food, decontamination, analysis.

INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas han sido foco de investigación dentro de las sustancias denominadas micotoxinas, principalmente por su alta incidencia en alimentos y porque su consumo en dosis bajas, medias o altas, causa tanto efectos tóxicos en corto tiempo (agudos), como aquellos que pudieran manifestarse a los meses o años (crónicos), siendo estos últimos los más comunes. Los efectos de las aflatoxinas sobre la salud de organismos vivos son negativos, como es el caso de la aflatoxina AFB₁ considerada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como evidente cancerígeno en animales de experimentación, convirtiéndose en la aflatoxina de mayor importancia en salud pública. Por otro lado, las aflatoxinas han sido implicadas en la patogénesis de la malnutrición proteico-energética (PEM), y se ha establecido que aun para los diferentes tipos de animales, la dosis letal oral aguda (DL₅₀ en mg kg⁻¹) es diferente. Se ha sugerido que la alimentación de

pollos de engorde con alimentos que contengan bajas concentraciones de AFB₁ puede causar hepatotoxicidad e inducir aflatoxicosis crónica. Igualmente, se ha sugerido que hay diferencia de los impactos en la salud por aflatoxinas entre diferentes razas humanas ocasionados por exposición crónica a estas toxinas.

Estas micotoxinas se producen en clima tropical, donde están reunidas las condiciones óptimas de crecimiento de los hongos aflatoxigénicos, principalmente respecto a la humedad relativa y temperatura; resultando contaminados alimentos de alto consumo.

Durante el desarrollo de esta revisión se analizarán de forma general los aspectos más relevantes de las aflatoxinas, como son su incidencia en alimentos en América Latina, los principales impactos en la salud humana y animal, la legislación actual internacional y en Colombia, los procedimientos de control y la prevención, los métodos de descontaminación

y detoxificación y finalmente, las principales metodologías para su detección y cuantificación en alimentos.

AFLATOXINAS

Las aflatoxinas son un grupo de compuestos químicos orgánicos no proteicos, de bajo peso molecular, cuyo esqueleto básico es un anillo de furano unido al núcleo de cumarina, producidos principalmente por los hongos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y *A. nonius*; así como los metabolitos de estos compuestos originados en el organismo de los animales que han consumido alimentos contaminados con aflatoxinas (Figura 1) (1, 2).

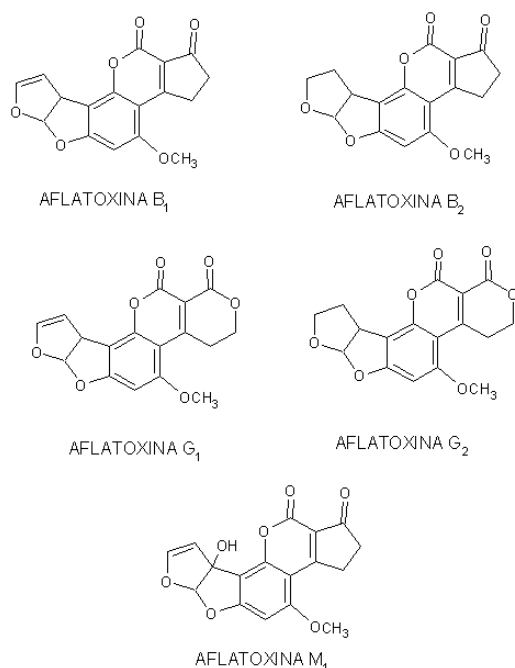


Figura 1. Estructura química de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂ y M₁.

Las aflatoxinas de mayor interés son las B₁, B₂, G₁ y G₂ (toman el nombre con base en la fluorescencia que presentan en capa fina de gel) y la M₁ que es el metabolito (derivado hidroxilado) de la AFB₁, que se elimina en la leche de los animales que ingieren piensos contaminados con AFB₁ (1).

Las aflatoxinas son conocidas desde 1960, cuando en Inglaterra se presentó una epidemia que mató alrededor de 100.000 pavos alimentados con maní infectado con *A. flavus* proveniente de Brasil. Los micelios de ésta y otras especies afines productoras de aflatoxinas, son capaces de colonizar semillas de oleaginosas de maní, girasol, algodón, soja, sésamo, avellanas, almendras y cereales y sus derivados almacenados en sacos o silos (3).

Se ha reportado la presencia mundial de aflatoxinas, sobre todo en semillas de plantas cuyas zonas geográficas de vegetación se sitúan en clima tropical, donde están reunidas las condiciones óptimas de crecimiento de los hongos aflatoxigénicos, 80 a 90% de humedad relativa y temperatura de 30 a 35°C; esto explica la frecuente contaminación del maíz y otros (4).

AFLATOXINAS EN ALIMENTOS EN AMÉRICA LATINA

Las aflatoxinas se han detectado como contaminantes naturales en un gran número de productos agrícolas, habiéndose confirmado su presencia en prácticamente todas las zonas del mundo y, en mayor o menor grado, en casi todos los alimentos de primera necesidad. Los alimentos considerados más susceptibles a la contaminación fúngica con la consiguiente producción de aflatoxinas incluyen típicamente al maíz, cacahuates, pistachos, nueces de Brasil, semillas de algodón y la pulpa seca de coco (copra). También se han encontrado aflatoxinas en semillas oleaginosas como el girasol y la soja, en aceites vegetales sin refinar, en otros frutos secos como las almendras, avellanas y nueces, en las especies como el pimentón, el chile, la pimienta, etc., en las frutas desecadas como los higos secos y las pasas, en el café y el cacao, en el resto de los cereales y sus productos derivados y en los piensos (4).

A continuación se presenta una tabla resumen sobre la incidencia de aflatoxinas en diferentes alimentos para consumo humano y animal en América Latina (Tabla 1).

Tabla 1. Incidencia de aflatoxinas en alimentos en América Latina

Alimentos	País	Incidencia (%)	Aflatoxinas	Concentración ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Referencia
Maní tipo japonés, nueces, jengibre, comino semilla, sésamo, curri, semillas de lupino, maní salado y maní pelado.	Chile	10,5%	Totales	23-173,3	(5)
Harina de maíz	Ecuador	26%	B1	4,34-11,26	(6)
Maíz y arroz	Colombia	12,5%	Totales	9,2	(7)
Maíz blanco	Colombia	16,6-33,3%	B1	3-10	(8)
		16,7%	B1	> 10	
		16,7%	B2	3-10	
		33,3%	Totales	3-10	
		16,7%	Totales	> 10	
Arepas de maíz blanco		1,8%	B1	3-10	
		1,8%	Totales	3-10	
Maíz amarillo	Venezuela	16,6%	Totales	20	(9)
Trigo, harina de maíz, harina de soya, maíz amarillo y sorgo	Venezuela	43%	Totales	0,25-34,2	(10)
Maíz	México	56%	Totales	-	(11)
Maíz	Argentina	8,23-15,52%	Totales	9,72-15,52	(12)
Maíz	Perú	82%	Totales	4,2	(13)
Maíz	México	33,1%	Totales	1-18	(14)
Leche	Colombia	20%	M1	15,6	(15)
Queso	Colombia	67%	M1	240	(16)
Alimentos de consumo infantil	Colombia	10%	B1	18,42-71,25	(17)
Maíz	Panamá	2,8%	B1	1290	(18)
Maíz, cereal, arroz, semillas y <i>snacks</i> y cereales para el desayuno.	Colombia	8,9%	Totales	12,6	(19)
Maíz	Guatemala	28,57%	Totales	-	(20)
Maíz	Colombia	100%	B1	15,2-282,6	(21)

IMPACTOS EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL

Las micotoxinas tienen actividad tóxica aguda sobre especies sensibles que produce: inhibición de la síntesis de proteínas, síndromes de Reye y de Kwashiorkor especialmente en niños de los trópicos, inmunosupresión, irritación dérmica, disrupciones endocrinas, hepatitis aguda y otras perturbaciones metabólicas; el cuadro clínico incluye hígado graso y edema cerebral severo. A largo plazo se presentan efectos carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, estrogénicos, inmunotóxicos, nefrotóxicos y neurotóxicos (2, 22-32). Las micotoxinas suelen entrar en el cuerpo a través de la ingestión de alimentos contaminados, pero la inhalación de esporas toxigénicas y el contacto cutáneo directo son rutas también importantes (2, 22, 30, 31, 33). Son absorbidas en el tracto gastrointestinal debido a su alta liposolubilidad y biotransformadas en el hígado por enzimas microsomales de la superfamilia del citocromo P450, entre las que se encuentran CYP1A2, 2B6, 3A4, 3A5, 3A7 y GSTM1 (24). Las dos enzimas más importantes son representadas por la CYP3A4 (34), que interviene en la formación de la forma exoepóxido y el metabolito aflatoxina Q1 (AFQ₁), y la CYP1A2 forma en su mayoría la forma endoepóxido y la aflatoxina M₁ (AFM₁). Adicionalmente, en humanos se producen otros metabolitos como son aflatoxicol, AFP₁, AFB_{2a} y AFB₁-2,2 dihidrodiol (24).

Las aflatoxinas pueden tener un efecto muy negativo en la salud de los organismos vivos, la AFB₁ es considerada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como evidente cancerígeno en animales de experimentación y también ha sido clasificada como cancerígeno humano (grupo I), y es la de mayor importancia en salud pública (23-25, 35, 36). En el año 2009, se realizó una investigación sobre la farmacocinética de la AFB₁ con tres personas voluntarias a las cuales se les suministraron bajas dosis orales de esta aflatoxina y se encontró que fue rápidamente

absorbida en plasma en todos los voluntarios (24). La AFM₁ se origina en el hígado de los mamíferos luego del consumo de alimentos contaminados con AFB₁. La AFM₁ se excreta en la leche y puede ser ingerida por los humanos al consumir este alimento contaminado, siendo la población infantil la más expuesta (23). La AFM₁ se excreta en las 48 horas siguientes a la ingestión y representa entre el 1-4 % de la AFB₁ ingerida (24). El carcinoma hepatocelular es una de las causas de muerte por cáncer, en especial en regiones de Asia y África, originándose estudios epidemiológicos que buscan correlacionar la presentación del carcinoma con el consumo de aflatoxinas y la interacción de éstas con otras enfermedades hepáticas (23, 29-31, 36). Es importante determinar con mayor claridad la influencia de las aflatoxinas sobre el cáncer de hígado, debido al efecto de otros factores, como la infección ocasionada por el virus de la hepatitis B, el cual podría estar implicado en la etiología del cáncer hepático. A nivel molecular está claro que el gen p53 supresor tumoral, puede estar involucrado no solo en las mutaciones en este gen, que es el cambio más frecuente encontrado en los tumores humanos, sino que éste juega un importante papel en la regulación de la transcripción y la traducción de muchos otros genes involucrados en el control de la división celular y la diferenciación (24, 25, 33). El debate sobre el papel de las aflatoxinas y la hepatitis B en el cáncer de hígado parece resolverse cuando se acepta la interacción entre los dos; con la reacción de las aflatoxinas con el ácido desoxirribonucleico (ADN) del gen y el virus de la hepatitis, teniendo un sitio de unión específico a la proteína producto del gen, la posibilidad de estas interacciones parece totalmente admisible (25, 31).

La mutagenicidad de la AFB₁ ha sido establecida previamente mediante ensayos con *Salmonella typhimurium* empleando la prueba de Ames. Los resultados obtenidos para varios tipos de *Salmonella* indican que la AFB₁ requiere una activación para producir mutaciones. La ruta de activación es la conversión de AFB₁ en el

metabolito electrofílico AFB₁-8,9-epóxido. La formación del epóxido requiere la presencia de un doble enlace entre los carbonos C8-C9, por esta razón las aflatoxinas B₂ y G₂ son prácticamente atóxicas en comparación con las aflatoxinas B₁ y G₁. La AFM₁, aunque presenta el doble enlace entre los carbonos C8 y C9, es dos órdenes de magnitud menos tóxica que la AFB₁ en cuanto a carcinogenicidad se refiere. En experimentos con roedores se ha evidenciado que en los humanos la enzima CYP3A4 tiene una menor afinidad por la AFB₁ y en cambio la enzima CYP1A2 posee una alta afinidad. Esta última se conoce por su capacidad para bioactivar muchos pro-carcinógenos a su forma carcinogénica activa (24).

Por otra parte, las aflatoxinas han sido implicadas en la patogénesis de la malnutrición proteico-energética (PEM), una condición que afecta a más de 118 millones (aproximadamente 32%) de los niños en el mundo en desarrollo. En el espectro de PEM incluyendo *kwashiorkor*, marasmo y *kwashiorkor* marásmico, algunos investigadores han asociado las aflatoxinas con el desarrollo solo de *kwashiorkor* específicamente; que es una forma de desnutrición que ocurre cuando no hay suficiente proteína en la dieta. Esto se concluyó luego de la detección de aflatoxinas en más altas frecuencias y concentraciones en pacientes con *kwashiorkor* que en otros grupos nutricionales, lo cual se atribuye a una posible disminución en el metabolismo de las aflatoxinas en los pacientes con *kwashiorkor* en comparación con otros grupos. Sin embargo, otros estudios también han implicado a las aflatoxinas en la patogénesis de otros tipos de desnutrición, tales como pérdida del tamaño del músculo (emaciación) y retraso del crecimiento y en estudios experimentales en animales las aflatoxinas dan lugar a deficiencias de micronutrientes incluyendo vitaminas A y D, así como zinc y deficiencias de selenio (29, 35). En un estudio realizado en Nigeria para determinar la asociación entre las aflatoxinas y la malnutrición proteico-calórica (PEM) con mediciones de aflatoxinas en el suero, la orina

y los alimentos en el plato de niños nigerianos con PEM, se concluyó que las aflatoxinas son frecuentes en los fluidos corporales de niños sanos y de niños con PEM. Sin embargo, se detectan con más frecuencia y en concentraciones más altas en los niños con PEM, posiblemente debido a la disminución de la excreción o el aumento de la exposición. Futuros estudios prospectivos son necesarios para confirmar si las aflatoxinas pueden contribuir a la patogénesis de todos los tipos de PEM y no necesariamente solo a *kwashiorkor* (35).

La intoxicación aguda por aflatoxinas es excepcional, la intoxicación crónica es la que causa preocupación mundial, ya que ha sido establecido que aún para los diferentes tipos de animales la dosis letal oral aguda (DL₅₀ en mg kg⁻¹) varía desde 0,3 en conejos, 0,6 en gatos, 0,5 a 1,0 en perros, 17,9 en ratas (hembras), 5,5 en ratas (machos), 9,0 en ratones y 10,2 en hámster, entre otros. También se ha encontrado diferencia de los impactos en la salud por aflatoxinas entre diferentes razas humanas ocasionados por exposición crónica a estas toxinas, la dosis tóxica (TD₅₀ en µg kg⁻¹ peso corporal/día) para carcinogénesis de la AFB₁ para humanos es 132 (25, 27, 29). En el año 2006 se realizó una investigación con pollos de engorde, en la cual se evaluó la ingestión de 0,07 mg kg⁻¹ de AFB₁ en el alimento, y se concluyó que no altera significativamente la actividad enzimática sérica de Alanino-aminotransferasa (ALT), pero sí disminuye la actividad sérica de aminotransferasa (AST). Estos resultados sugieren que el consumo de alimento con bajas concentraciones de AFB₁ (0,07mg kg⁻¹), pueden causar hepatotoxicidad en pollos de engorde e inducir aflatoxicosis crónica. Otro factor preocupante es la presencia de aflatoxinas en una variedad de materias primas para la producción de alimentos para animales y humanos, especialmente en maíz, cacahuates, semilla de algodón y frutos secos, lo cual reafirma la importancia de prevenir y controlar el efecto negativo de estas toxinas en la salud (30, 37, 38).

LEGISLACIÓN INTERNACIONAL Y COLOMBIANA

Dentro del campo de las micotoxinas, las aflatoxinas son las más importantes para los países debido a su alta incidencia y toxicidad, por lo cual se dedica mayor atención a su control tanto en matrices alimentarias para humanos como para animales.

Los rangos de concentraciones aceptadas de aflatoxinas en alimentos varían de acuerdo con los países y su forma de legislar, sin embargo se pueden encontrar tendencias relacionadas a los bloques económicos mundiales. Entre los que se encuentran la Unión Europea, La Asociación de Naciones del Sudeste de Asia y el Mercado Común del Sur (MERCOSUR). Dichos grupos han armonizado sus normativas para facilitar el comercio entre naciones.

La Unión Europea ha legislado estas micotoxinas en géneros alimenticios para consumo humano y actualmente los niveles máximos admisibles están establecidos entre 2 a 8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para AFB_1 y de 4 a 15 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para la sumatoria de las cuatro aflatoxinas (B1, B2, G1, G2), dependiendo de los diferentes alimentos (maní, frutos de cáscara, frutos secos y subproductos, cereales y subproductos) para consumo humano directo o como materias primas alimenticias. Se incluyen los productos sometidos a selección o transformación física antes del consumo, teniendo en cuenta que esos procesos pueden reducir la concentración original de AFB_1 (4, 39, 40).

Otros países no hacen una discriminación entre productos y usos a los que están destinados, por lo que dan un límite en todos los alimentos, unos para AFB_1 , no solo por su toxicidad, sino también por su frecuencia de aparición, y otros para la suma de las cuatro aflatoxinas. Los límites permisibles para la primera se pueden encontrar entre 1-20 $\mu\text{g kg}^{-1}$, pero su mayoría se encuentra principalmente entre 2-5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (41).

Para las aflatoxinas totales los límites varían entre 0-35 $\mu\text{g kg}^{-1}$, el límite que aparece con mayor frecuencia es de 4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ en países europeos y asiáticos, seguido de 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$, aplicado por países en América Latina (donde existe también un límite armonizado en MERCOSUR) y en varios países del África. También Estados Unidos, uno de los primeros en fijar un límite para las aflatoxinas, se rige por el valor de 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (42, 43).

La AFM_1 en productos lácteos se legisla comúnmente separada de las demás por ser tan específica en cuanto a su ocurrencia. Sus límites se encuentran entre 0,025 $\mu\text{g kg}^{-1}$ en alimentos para lactantes y leches de uso medicinal, 0,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para leche líquida y 5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para leche en polvo. Igualmente varían entre naciones (39, 42-45).

En Colombia, existen normas técnicas de aplicación voluntaria que establecen los requisitos para el muestreo y análisis de aflatoxinas totales en alimentos como el maíz (NTC 366), cereales, leguminosas secas y sus productos molidos (NTC 271) (45, 46) y las arepas refrigeradas de maíz (NTC 5372) (47), el contenido máximo de aflatoxinas totales en alimentos para consumo humano (NTC 3581) que se establecen en 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (43), así como los métodos de análisis de aflatoxinas de ocurrencia natural (NTC 1232) (48).

En 2012 el *Codex Alimentarius* estableció un contenido de 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de aflatoxinas totales en los higos secos "listos para el consumo". El contenido máximo se basa en la evaluación llevada a cabo por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en su reunión No. 68 sobre el impacto de la exposición y el riesgo para la salud de diferentes contenidos máximos hipotéticos de aflatoxinas en las almendras, las nueces de Brasil, las avellanas, los pistachos y los higos secos. En lo que respecta a los higos secos, el comité llegó a la conclusión de que, cualquiera que fuera el escenario hipotético con respecto

a los contenidos máximos, no habría ninguna consecuencia significativa en la exposición alimentaria total a las aflatoxinas. Se demostró que aplicando buenas prácticas era posible llegar a un contenido total de $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ de aflatoxinas (49, 50).

Sin embargo, el panel encargado de dicha evaluación reiteró su conclusión anterior de que la exposición a las aflatoxinas procedentes de todas las fuentes debe ser tan bajo como sea razonablemente posible, porque las aflatoxinas pueden causar los impactos negativos a la salud expuestos anteriormente. Se debe dar prioridad a la reducción de la cantidad de alimentos que llegan al mercado altamente contaminados con aflatoxinas, independientemente del tipo de producto (50).

CONTROL Y PREVENCIÓN

La trazabilidad o rastreabilidad puede definirse como la posibilidad de encontrar y seguir el rastro, a través de todas las etapas de la producción, transformación y distribución de un alimento, un pienso, un animal destinado a la producción de alimentos o sustancias destinadas a ser incorporadas a los alimentos o con posibilidad de serlo, es lo que se conoce como la ruta "desde la granja a la mesa". Básicamente, la trazabilidad está formada por tres elementos (51, 52):

1) Buenas prácticas agrícolas: referido a todos los procedimientos que se realizan en el campo y durante la cosecha para evitar el crecimiento de hongos que producen las toxinas.

2) Buenas prácticas de almacenamiento y manufactura: son todas las etapas de empaquetamiento, almacenamiento, transporte e industrialización donde se debe controlar variables como: humedad (menor al 12%), actividad de agua en el alimento (menor a 0,7), temperatura ($20-22^{\circ}\text{C}$), y una adecuada ventilación con aire frío y húmedo para evitar el

crecimiento de hongos toxigénicos y la posible producción de micotoxinas.

3) Sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP por sus siglas en inglés *Hazard analysis and critical control points*). Con lo cual se debería tener completo dominio del proceso productivo (53).

Dentro de las medidas que se pueden llevar a cabo en campo para prevenir la producción de aflatoxinas, se pueden resaltar las siguientes (54):

Durante la siembra

- Limpieza del terreno de siembra para el nuevo cultivo destruyendo o eliminando las cabezas o frutos de semillas (por ejemplo de maíz, maní o cacahuate, etc.) de cultivos susceptibles de acumular aflatoxinas.
- Hacer estudios de suelo y entorno, para solo usar la cantidad necesaria de fertilizantes, herbicidas e insecticidas.
- Uso de semillas resistentes a variedades de hongos micotoxigénicos.
- Evitar la excesiva densidad de siembra.
- Hacer una buena rotación de cultivos.

Durante la etapa de recolección

- Recolectar los cultivos cuando estén completamente maduros, a no ser que por dejar que el cultivo llegue a su plena madurez se le exponga a condiciones extremas de calor, lluvias o sequía.
- Realizar un secado, evitar apilamiento de productos húmedos, con lo que se fomentaría el crecimiento de hongos y posteriormente la producción de aflatoxinas.
- Proteger contra la lluvia durante el secado al sol.

Durante el almacenamiento y transporte

- Tomar las medidas adecuadas de saneamiento en las estructuras de

almacenamiento y transporte.

- Protección de la lluvia y contacto con el agua.
- Impedir el acceso a insectos, roedores y aves.
- Cuando se almacena en sacos, ubicarlos encima de estibas o un medio de aislamiento impermeable entre los sacos y el suelo.
- Asegurarse de que los cultivos que hayan de almacenarse estén libres de mohos e insectos y que se sequen hasta alcanzar niveles de humedad inocuos (lo ideal sería que los cultivos se secan hasta llegar a tener un contenido de humedad en equilibrio con una humedad relativa del 70%).
- Procurar una ventilación constante para asegurar el mantenimiento de las condiciones de aireación y temperatura.
- Es posible utilizar conservantes como el ácido propiónico (ácido orgánico), poniendo atención en las cantidades que garanticen la inhibición del hongo, pero que no sobrepasen los niveles permitidos en los productos en los que se va a utilizar (según normativa para alimentos y piensos de cada país).

DESCONTAMINACIÓN Y DETOXIFICACIÓN

La descontaminación se refiere a los métodos por los cuales las micotoxinas son eliminadas o neutralizadas de los alimentos, mientras que la detoxificación son los procedimientos para reducir las propiedades tóxicas de las micotoxinas. El método de descontaminación o detoxificación ideal debe ser fácil de usar, económico, no formar compuestos más tóxicos que la micotoxina original y no alterar las propiedades nutricionales ni organolépticas de los alimentos. Existen diferentes métodos de descontaminación físicos, químicos y biológicos aunque se suele usar combinaciones entre ellos (4).

Métodos físicos

Estos métodos incluyen: extracción con solventes, adsorción, inactivación por calor e irradiación.

- Extracción: se ha usado para remover aflatoxinas en semillas oleaginosas, maní y semillas de algodón que a su vez pueden solo ser usadas para alimentación animal. Los solventes usados incluyen etanol al 95%, acetona acuosa al 90%, isopropanol al 80%, hexano-metanol, metanol-agua, acetone-trilo-agua, hexano-etanol-agua y acetona-hexano-agua. La proporción solvente/muestra ha mostrado ser crucial para la recuperación de la toxina. La extracción con solventes puede remover trazas de aflatoxinas con formación de subproductos tóxicos o reducción del contenido de proteínas y calidad, sin embargo, su aplicación a gran escala es limitada por los altos costos y problemas relacionados con la disposición de residuos tóxicos (55).
- Adsorción: los agentes adsorbentes son aquellos que tienen la capacidad de quelar las micotoxinas, lo cual permite reducir su disponibilidad. Estos agentes se unen a las micotoxinas que se encuentran en el alimento, evitando su disociación en el tracto digestivo del animal. De manera general, los agentes adsorbentes se clasifican como adsorbentes minerales (arcillas, carbón activado, tierra de diatomeas) y adsorbentes orgánicos (fibras de plantas, extractos de paredes celulares de levadura y bacterias) (56). Actualmente, se están realizando varios estudios sobre el uso de arcillas (por ejemplo, NovaSil) para disminuir la amenaza de la aflatoxina. Un estudio propone que la arcilla de esmectita sea administrada a alimentos contaminados para actuar como un agente de unión. La arcilla se une con moléculas de AFB₁, blindando su absorción en el sistema digestivo cuando se consume, lo cual permite pasar inofensivamente a través del cuerpo (57).

- **Calor:** las aflatoxinas tienen altas temperaturas de descomposición que van desde 237°C a 306°C. Se ha intentado usar calor para inactivar las aflatoxinas en alimentos contaminados, pero esto puede tener repercusiones en las cualidades organolépticas y nutricionales en éstos. Es importante tener en cuenta en estos tratamientos, no solo la temperatura, sino el tiempo de aplicación a la cual se ven sometidos, ya que conlleva a una mayor efectividad en el proceso de descontaminación (4). En las Tablas 2 y 3 se muestran diferentes tratamientos con calor que han sido usados para la descontaminación de alimentos contaminados con aflatoxinas.

Tabla 2. Reducción de AFM₁ en leche por pasteurización y esterilización (58)

Tratamiento	Contaminación ^a	Reducción (%)
62°C, 30 min	N	32
62°C, 30 min	A	0
62°C, 30 min	A	35
71°C, 40 s	A	29
71°C, 40 min	N	6-13
72°C, 45 s	N	45
74°C, 30 min	A	40
75°C, 40 s	N	12
77°C, 16 s	N	0
80°C, 45 s	N	64
120°C, 15 min	N	24
120°C, 15 min	A	24
Pasteurización	N	24

^aN, natural; A, artificial.

Tabla 3. Reducción de AFM₁ en leche por pasteurización y esterilización (57)

Tratamiento	Alimento	Aflatoxina	Nivel inicial ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Destrucción (%)	Contaminación ^a
Asado: 204°C	Maní	B1-G1	253-186	53-41	N
Asado: 204°C	Maní	B1-G1	346-286	41-51	N
Asado: 121°C, 30 min	Maní	B1-G1	2200-4100	84-85	A
Asado: 121°C, 30 min	Maní	B1-G1	90-150	73-76	A
Asado: 204°C, 5 min	Maní	B1-G1	90-150	69-64	A
Asado: 204°C, 5 min	Maní	B1-G1	2200-4100	69-64	A
Asado: 150°C, 30 min	Maní	B1	370	48	N
Asado: 150°C, 30 min	Maní	B1	317	47	A
Autoclave: 116°C, 0,7 bar, 30 min, en salmuera 5% NaCl	Maní	Total ^b	5012-19992	80-100	A
Calentamiento: 200°C, 20 min	Aceite de oliva	B1	100	25	A
Calentamiento: 250°C, 10 min	Aceite de oliva	B1	100	65	A
Extrusión: 105°C	Maíz	Total	500	40-70	N

^aN, natural; A, artificial. ^bB1 + G1 + B2 + G2.

· Irradiación: es una de las últimas técnicas físicas empleadas, sin embargo no consigue destruir las micotoxinas y su mutagenicidad (4). Las aflatoxinas son sensibles a los rayos UV. AFB₁ absorbe luz UV a 222, 265 y 362 nm, lo cual puede llevar a la formación de más de 12 productos de fotodegradación que son menos tóxicos. Hay ejemplos de alimentos tratados con este método como aceite de cacahuete, leche e higos secos (58). Por otro lado, el uso de radiación gamma para inactivar aflatoxinas fue investigada. La toxicidad de una harina de maní contaminada con AFB₁ fue reducida entre un 75% y 100% después de la radiación con rayos gamma a una dosis de 1 a 10 KGy, respectivamente. La presencia de agua juega un importante papel en la destrucción de aflatoxina por rayos gamma, ya que la radiólisis del agua lleva a la formación de radicales libres altamente reactivos. Estos radicales libres pueden atacar la AFB₁, en el anillo furano terminal, resultando en productos de baja actividad biológica (58).

Métodos químicos

Los estudios han demostrado que los alimentos contaminados por aflatoxinas pueden ser detoxificados mediante el uso de sales inorgánicas y ácidos orgánicos, amonificación y el uso de los agentes aglutinantes de la AFB₁ (59).

· Sales orgánicas y ácidos orgánicos: Shekhar y colaboradores demostraron la eficacia de seis productos químicos en la degradación de los niveles de aflatoxina en el maíz almacenado. Estos productos químicos no tóxicos son seguros para su uso en alimentos e incluyen carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de amonio, ácido acético y propionato de sodio (60). Otro estudio registró los efectos del ácido cítrico en la detoxificación de arroz contaminado con aflatoxinas. Los investigadores encontraron que al aplicar ácido cítrico al arroz que tenía bajos niveles

de aflatoxinas (menos de 30 µg kg⁻¹), éstas eran completamente degradadas. En el arroz que contenía altos niveles de aflatoxinas (30 µg kg⁻¹ o más), un 97,22% de las aflatoxinas eran degradadas (61).

· Amonificación: actualmente es el recurso económicamente más viable para descontaminación. El amoníaco en forma gaseosa se añade a cultivos en un área sellada y permite impregnar durante 1 a 2 semanas. En un estudio sobre maíz contaminado artificialmente, los procedimientos de amonificación destruyeron 90% de aflatoxinas (62). Esta práctica normalmente hace que los productos anteriormente inseguros para consumo, sean seguros para el consumo animal por la disminución de los niveles de aflatoxinas en un rango menor. Los estudios sobre los pollos de engorde demuestran los efectos de la amonificación sobre estos animales. Los investigadores estudiaron dos grupos de polluelos; un grupo fue alimentado con maíz contaminado con aflatoxinas, mientras que se alimentó otro grupo con maíz contaminado con aflatoxinas que había sido tratado con amoníaco. Después de 6 semanas, el primer grupo mostró un aumento significativo en la tasa de mortalidad, en comparación con el segundo grupo. Así mismo, la ingesta dietética, el aumento de peso y la tasa de conversión alimenticia fue suprimida en los pollos del primer grupo, mientras que los del grupo 2 mostraron un crecimiento normal (63).

· Nixtamalización: la nixtamalización o hidrólisis alcalina es un proceso precolombino de tratamiento del maíz para la obtención de una masa que se emplea en la fabricación de las tradicionales tortillas mexicanas. Ha sido ampliamente postulado que durante el proceso de la nixtamalización se reduce del 75 al 90% del contenido de aflatoxinas del grano. Un estudio realizado en México por Anguiano-Ruvalcaba y colaboradores

concluyó que la nixtamalización tradicional destruye 95% de la aflatoxina presente en maíz contaminado de manera natural y que el proceso es capaz de destruir el aflatoxicol, un compuesto reducido de la AFB₁ que se produce por la acción de una reductasa aislada de organismos superiores, pero que también surge de cepas toxigénicas de *A. flavus* y otros microorganismos (64). Sin embargo, se ha sugerido que la detoxificación por nixtamalización parece no ser muy efectiva como se pensaba; ya que un alto porcentaje del contenido original de aflatoxinas se revierte a su forma original fluorescente en el medio ácido; a un pH similar al que ocurre durante la digestión, lo que lleva a la reconstitución de las moléculas de aflatoxinas; con el consecuente riesgo que esto implica para la salud humana (65).

Ozonización: el ozono (O₃) reacciona a través de los doble enlaces 8, 9 del anillo de furano de aflatoxinas a través de ataque electrofílico, causando la formación de ozónidos primarios seguido por transposición en derivados de monozonido tales como aldehídos, cetonas y ácidos orgánicos. Un estudio realizado en Turquía demostró que la reducción del contenido de AFB₁ en los pimientos rojos fue del 80% y el 93% después de la exposición a 33 mg L⁻¹ y 66 mg L⁻¹ de ozono durante 60 min, respectivamente (66).

Métodos biológicos

Hay tres ramas crecientes de investigación en los métodos biológicos: el uso de agentes biológicos de control, enzimas biotransformadoras y plantas modificadas genéticamente (4).

En el primer caso se requiere aplicar hongos u otros microorganismos antagónicos que inhiben el crecimiento de hongos micotoxigénicos y por tanto la presencia de la micotoxina en el producto elaborado. El uso de cepas fúngicas no aflatoxigénicas de *Aspergillus*

flavus y *A. parasiticus* compite con las cepas micotoxigénicas produciendo una reducción en la contaminación por aflatoxinas cercana al 99% cuando es aplicado en cacahuates. La aplicación de microorganismos como *Flavobacterium aurantiacum*, que degradan ciertas micotoxinas, ha resultado para la degradación de AFB₁ en aceites vegetales, maíz, cacahuates y derivados. También se ha visto que la aplicación de mezclas probióticas como *Lactobacillus* y *Propionibacterium* reduce la biodisponibilidad de la aflatoxina en la dieta (4). Alberts y colaboradores investigaron la degradación de la AFB₁ por *Rhodococcus erythropolis* y encontraron que este degradó efectivamente esta micotoxina mediante extractos celulares en cultivos líquidos, indicando que la degradación es enzimática y que las enzimas responsables son extracelulares y producidas constitutivamente. Además, la degradación coincidió con la pérdida de la mutagenicidad de la AFB₁ (67).

El empleo de enzimas biotransformadoras puede modificar la micotoxina en compuestos derivados, menos tóxicos o no tóxicos respecto a la micotoxina original, para eliminados por la orina o las heces, o bien aplicados a la materia prima para reducirla *in situ*. Este caso puede tener relación con una enzima sintetizada por *F. aurantiacum* y que podría ser la responsable de la reducción de la AFB₁ (4).

Con respecto al uso de plantas para control biológico extractos acuosos obtenidos a partir de semillas y hojas de varias plantas medicinales fueron evaluadas por su habilidad para detoxificar la AFG₁. Se encontró que la degradación de las aflatoxinas B1, G1, B2 y G2 por los extractos de *Trachyspermum ammi* estuvo entre un 46% y 65% dentro de 6 h a 24 h de incubación, concluyendo que los extractos biológicos de *T. ammi* puede proveer un método biológicamente seguro para proteger a los alimentos de las aves de corral o ganado y otros productos agrícolas de la contaminación por las aflatoxinas (68).

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Los métodos normalizados de análisis para diferentes micotoxinas, validados por estudios interlaboratorio, han sido recomendados por parte de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) y el Comité Europeo de Normalización (ECS). Como métodos oficiales de análisis de la AOAC se pueden encontrar alrededor de cuarenta métodos validados para análisis de micotoxinas pertenecientes a diferentes familias químicas, mientras que el ECS ha publicado un documento con criterios específicos para varios métodos de análisis de micotoxinas. A continuación se abordarán las técnicas analíticas más empleadas en el análisis de aflatoxinas, teniendo en cuenta la extracción y purificación, las técnicas de exploración o *screening* y las técnicas de confirmación (4).

a) Extracción y purificación

La mayoría de los métodos utilizados para la determinación de micotoxinas necesitan métodos confiables de extracción y purificación. Estos pasos son vitales para un protocolo exitoso, ya que consumen mucho tiempo (la preparación de la muestra es el principal factor de tiempo en un análisis y toma aproximadamente dos tercios del total) y afectará la elección final de procedimiento de detección. El método de extracción utilizado para extraer micotoxinas de la matriz biológica es dependiente de la estructura de la toxina. Toxinas hidrófobas tales como las aflatoxinas se extraen usando disolventes orgánicos (69). Los solventes orgánicos más empleados son el metanol, acetona, acetato de etilo, acetonitrilo, diclorometano y hexano y mezcla de ellos (4).

La elección de los disolventes de extracción también es dependiente de la matriz de la que se requiere extraer la toxina, ya que mezclas químicas diferentes pueden afectarla. El procedimiento de purificación utilizado en un protocolo es el paso más importante, ya que la pureza de la muestra afecta la sensibilidad de los resultados. Cantidades traza de una

molécula diana pueden estar enmascarados por compuestos que interfieren, encontrados no solo en la matriz, sino en los productos químicos, materiales y disolventes utilizados en la técnica. La cristalería también debe estar libre de contaminación, tales como detergentes alcalinos, que pueden formar sales con los compuestos y dando como resultado tasas de detección más bajas (69).

Las técnicas más utilizadas para extracción y purificación en el análisis de micotoxinas son las siguientes (4):

1. Extracción en fase sólida:
 - Extracción en fase sólida convencional.
 - Extracción con columnas Mycosep.
 - Dispersión de matriz en fase sólida.
 - Microextracción en fase sólida.
2. Extracción con columnas de intercambio iónico.
3. Extracción con columnas de inmunoafinidad.
4. Extracción por fluidos supercríticos.
5. Extracción asistida por microondas.
6. Extracción acelerada por disolventes.

b) Técnicas de exploración o *screening*

La finalidad analítica de las técnicas de exploración o *screening* es la de descartar, de una manera rápida, las muestras negativas y reducir al máximo el número de análisis. Se aplican cuando existe un gran número de muestras, sin embargo es recomendable usar alguna técnica de confirmación para validar los resultados positivos, dado que en general los métodos de *screening* son relativamente sensibles pero poco selectivos. Las técnicas de exploración más usadas para el análisis de micotoxinas son los inmunoensayos y los biosensores (4).

Inmunoensayos. Los inmunoensayos para analitos moleculares pequeños (haptenos) (por ejemplo, las aflatoxinas en solución) se pueden realizar como ensayos homogéneos sin separación de los reactivos, pero más comunes

son las pruebas heterogéneas en las que los reactivos sin reaccionar se eliminan antes de la evaluación. Hay tres tipos de ensayo, que utilizan concentraciones limitadas de anticuerpos: 1) ensayo indirecto competitivo; 2) ensayo directo competitivo, y 3) ensayo no competitivo (70).

Dos técnicas se han usado ampliamente para el análisis de micotoxinas: el radioinmunoensayo (RIA) y el enzoinmunoensayo (ELISA). El primero de ellos consiste en añadir al medio de reacción un anticuerpo específico y una cantidad conocida de la micotoxina marcada radioactivamente, la cual se incuba con las muestras problema. Tras un lavado del medio, se mide la radioactividad emitida por la muestra con un contador de centelleo, siendo la medida inversamente proporcional a la concentración de la micotoxina en la muestra problema. La técnica de ELISA se basa en la reacción específica antígeno-anticuerpo y puede ser de tipo competitivo directo o indirecto (71).

Biosensores. Un biosensor es un dispositivo analítico para la detección de un analito que combina un componente biológico con un componente detector fisicoquímico. Una tecnología prometedora para la detección rápida de aflatoxinas es el biosensor de resonancia de plasmones superficiales (SRP). El principio de la resonancia de plasmón superficial se basa en la detección de un cambio del índice de refracción del medio, cuando un analito se une a una molécula inmovilizada (anticuerpo) (72).

Los biosensores para la detección de aflatoxinas podrían ser muy útiles como una “prueba de campo” cualitativo/semicuantitativo para la identificación de muestras “positivas”, lo que reduce el número de muestras que se tienen que analizar en el laboratorio con métodos estándar de análisis. Los ensayos con biosensores son rápidos, fáciles de realizar y de bajo costo, y podrían ser ventajosos en comparación con ELISA o Cromatografía de Gases Masas (GC/MS) para el análisis de alimentos; pero son necesarias mejoras en los parámetros analíticos

tales como la precisión, exactitud y los límites de detección (especialmente en aplicaciones de biosensores para las aflatoxinas) (72).

c) Técnicas de confirmación

Según Soriano y colaboradores, las técnicas más empleadas en los últimos 30 años para el análisis de las aflatoxinas han sido: cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con un 70% de uso, cromatografía de capa fina con un 23% y electroforesis capilar con un 2% (4). El presente artículo de revisión se centrará en HPLC, sus ventajas y desventajas en el análisis y detección de las aflatoxinas.

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). El método más utilizado para detectar aflatoxinas se basa en técnicas cromatográficas como el HPLC combinados con un detector de fluorescencia o con nuevos equipos como el UPLC (*Ultra Pressure Liquid Chromatography*) que mejoran sus características.

La cromatografía es un procedimiento analítico que se basa en la separación, identificación y cuantificación de los constituyentes de una mezcla. El principio se fundamenta en los equilibrios de concentración de los compuestos presentes entre dos fases no miscibles. Una de ellas, llamada fase estacionaria, está inmovilizada en una columna o fijada sobre un soporte y la otra, llamada fase móvil, se desplaza en el seno de la primera. La velocidad de elución de los analitos de interés presentes en la fase móvil dependerá de la solubilidad de éstos en la fase móvil y de la fuerza de interacción de dicho compuesto con la fase estacionaria (73).

Varios métodos analíticos para la determinación de las principales aflatoxinas han sido desarrollados y continuamente mejorados. Entre los métodos convencionales, la técnica más frecuentemente usada para medir micotoxinas en cereales y subproductos es HPLC acoplada a extracción con columnas de inmunoafinidad. Varios métodos inmunológicos, ELISA y otras

pruebas rápidas basadas en anticuerpos, son generalmente usadas para *screening*, aunque estos métodos requieren a menudo análisis confirmatorios con métodos más robustos. En la

Tabla 4 se muestran las ventajas y desventajas de los métodos tradicionales y emergentes para el análisis de micotoxinas.

Tabla 4. Ventajas y desventajas de métodos tradicionales y emergentes para el análisis de micotoxinas (74)

Método	Ventajas	Desventajas
CG	Análisis simultáneo de micotoxinas, buena sensibilidad, puede ser automatizado (automuestreador).	Equipo costoso, requiere experticia, requiere derivatización, problemas de interferencia de matriz, curva de calibración no lineal, efectos de arrastre de la muestra anterior, variación en reproducibilidad y repetibilidad.
HPLC	Buena sensibilidad, buena selectividad, buena repetibilidad, puede ser automatizado (automuestreador), tiempos de análisis cortos, métodos oficiales disponibles.	Equipo costoso, requiere experticia, puede requerir derivatización.
LC/MS	Análisis simultáneo de micotoxinas, buena sensibilidad, provee confirmación, no requiere derivatización.	Muy costoso, requiere experticia, la sensibilidad depende de la técnica de ionización, curva de calibración asistida por la matriz (para análisis cuantitativo), falta de estándares internos.
ELISA	Preparación simple de la muestra, equipo no costoso, alta sensibilidad, análisis simultáneo de múltiples muestras, útil para <i>screening</i> , uso limitado de solventes orgánicos.	Reactividad cruzada con micotoxinas relacionadas, problemas de interferencia de matriz, posibles resultados falsos negativos/positivos, requiere confirmación.

GC = Gas Chromatography; HPLC = High Performance Liquid Chromatography. LC/MS = Liquid Chromatography/Mass Spectrometry; ELISA = Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.

CONCLUSIONES

En América Latina se ha encontrado una alta incidencia de aflatoxinas, en especial la AFB₁, en productos agrícolas como el maíz, arroz, maní y sorgo entre otros, confirmando que las aflatoxinas siguen siendo contaminantes naturales ampliamente distribuidos en alimentos y piensos de alto consumo humano y animal.

La incidencia negativa en la salud humana y de animales de las aflatoxinas, particularmente debido a su carcinogenicidad demostrada en varias investigaciones, evidencia la necesidad de realizar investigación sistemática en Colombia para comprender los mecanismos de producción y de acción de las mismas en los cultivos de alimentos, las materias primas, el organismo humano y animal y sus efectos negativos,

generando cada vez más fundamentos científicos sólidos para prevenir, vigilar y controlar estas toxinas en Colombia.

Si bien existen normativas que regulan la cantidad de micotoxinas, en Latinoamérica hace falta reforzarlas con resoluciones obligatorias que especifiquen cantidades según grupos de alimentos, teniendo en cuenta las frecuencias de consumo y riesgo que cada uno de ellos tiene para la población.

Todas las medidas que se tomen para evitar el crecimiento de los hongos, en procesos de cultivo, recolección y cosecha, almacenamiento y transporte, llevará a disminuir el riesgo de producción de las aflatoxinas.

La aplicación de un plan de trazabilidad “desde la granja a la mesa”, no solo da un seguimiento de cada uno de los productos, sino un conocimiento específico de cada una de las

etapas por las que éste pasa antes de llegar al consumidor final y sus riesgos asociados como la presencia de aflatoxinas.

Los métodos de descontaminación o detoxificación de aflatoxinas incluyen métodos físicos, químicos y biológicos y se suelen usar en combinación cuando los alimentos y piensos ya están contaminados con estas para eliminar, neutralizar y/o reducir sus propiedades tóxicas.

Es importante contar con métodos analíticos confiables para la detección y cuantificación de aflatoxinas en alimentos, como herramienta indispensable para el control de las mismas. El método más empleado en los últimos 30 años ha sido HPLC, pero independientemente del método de análisis empleado, es crucial una representativa recolección de la muestra y una adecuada extracción y purificación de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rimblas Corredor ME. Los compuestos químicos en alimentos desde la perspectiva de la seguridad alimentaria. España; 2004. ISBN 84-95393-46-8.
2. Urrego Novoa JR, Díaz GJ. Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. Rev Fac Med Univ Nac Colomb 2006; 54(2):108-116.
3. Cornell University, Department of Animal Science. Plants Poisonous to Livestock. Aflatoxins: Occurrence and Health Risks. [En línea] [Citado el 20 de Junio de 2013]. Disponible en: <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/aflatoxin/aflatoxin.html>
4. Soriano-del-Castillo JM, et al. Micotoxinas en alimentos. 1a ed. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 2007.
5. Subsecretaría de Salud Pública, Ministerio de Salud Instituto de Salud Pública de Chile. Informe de monitoreo de micotoxinas en alimentos. [En línea] [Citado el 15 de Julio de 2013]. Disponible en: http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/05/informe_micotoxinas_2011.pdf
6. Vallejo-López MJ. Determinación de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 presentes en harina de maíz del sector Tumbaco mediante el uso de columnas de inmunoafinidad (IAC) y Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). [En línea] [Citado el 15 de Julio de 2013]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5013/2/T-ESPE-033049-A.pdf>.
7. Morris-Navarro LF. Determinación de aflatoxinas en muestras de maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) para consumo humano en cinco departamentos de la Costa Caribe Colombiana mediante cromatografía de alta eficiencia durante seis meses en 2011. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2011. p. 50.
8. Arcila MP, Martínez OL. Factores relacionados con la presencia de aflatoxinas en la fabricación de la arepa delgada de maíz blanco en dos industrias de Medellín y su área metropolitana. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2005. p. 146.
9. Lemus D, Maniscalchi MT, Vera V, De Freitas J, Sangermano A. Presencia de aflatoxinas y hongos aflatoxigénicos en maíz amarillo tipo duro clase I de la zona nororiental de Venezuela. Saber 2007; 19(1):43-49.
10. Fernández G, Negrón G, Isea G, Sánchez E. 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 de Zulia, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 2000; X(1):63-68.
11. Martínez Flores R, et al. Inspección de aflatoxinas en maíz cultivado, almacenado y transportado en el estado de Tamaulipas, México, en 1998. Anales del Instituto de Biología, UNAM, Serie Botánica 2003; 74(2):313-321.
12. Pacin A, Cano G, Resnik SL, Villa D, Taglieri D, Ciancio E. Incidencia de la contaminación por aflatoxinas en maíz argentino, período 1995-2002. Procedente de IV Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. La Habana, Cuba; 2003.
13. Caballero J, Arbaiza T, Lucas O. Niveles críticos de aflatoxina en muestras de maíz para consumo animal en Lima metropolitana. Rev Inv Vet 2001; 12(1).
14. García G, Martínez R, Melgarejo J. Inspección para aflatoxinas en el maíz almacenado o transportado en el estado de Sonora, 1998 [Informe técnico]. Anales del Instituto de Biología, UNAM, Serie Botánica 2001; 72(2):187-193.
15. Combata AP, Mildenberg S. Detección de aflatoxinas M1 en leches frescas comercializadas en la zona del Valle del Cauca (Colombia) mediante la técnica de ELISA. Bogotá, Colombia: Universidad Pontificia Bolivariana; 2009.
16. Aranguren EM, Argüelles MJ. Detección de aflatoxina M1 en quesos frescos comercializados en el municipio de Yopal, Casanare, mediante la técnica de ELISA. Bogotá, Colombia: Universidad Pontificia Bolivariana; 2009.
17. Rojas Contreras OL, Wilches Flórez AM. Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander. Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas 2009; 7(1).
18. Rojas V, Martin M, Quinzada M. Aflatoxinas en maíz recién cosechado en Panamá. Rev Med de Panamá 2000; 25:4-7.
19. Díaz GJ, Perrilla NS, Rojas Y. Occurrence of Aflatoxins in Selected Colombian Foods. Mycotoxin research 2001; 17:15-20.

20. Salazar Juárez LF. Determinación de la presencia de aflatoxinas en granos de maíz (*Sea mays*) producidos en Petén y distribuidos en la central de mayoreo de la ciudad capital, y elaboración de un Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC). Guatemala: Universidad de San Carlos; 2008.
21. Acuña CA, Díaz GJ, Espitia ME. Aflatoxinas en maíz: reporte de caso en la costa atlántica colombiana. *Rev. Med. Vet. Zoot.* 2005; 52:156-162.
22. Zahin ME. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society* 2011; 15:129-144.
23. Duarte S, Villamil LC. Micotoxinas en la salud pública. *Revista Salud Pública* 2006; 8(1):129-135.
24. International Agency For Research On Cancer (IARC). Chemical Agents and Related Occupations: Review of Human Carcinogens - Aflatoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 2012; 100:225-248.
25. Moss MO. Risk assessment for aflatoxins in foodstuffs. *Int Biodeterior Biodegradation* 2002; 50:137-142.
26. Fasullo M, Smith A, Egnér P, Cera C. Activation of aflatoxin B1 by expression of human CYP1A2 polymorphisms in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research* 2014; 761:1-9.
27. Bbosa GS, Kitya D, Lubega A, Ogwal-Okeng J, Anokbonggo WW, Kyegombe DB. Capítulo 12: Review of the Biological and Health Effects of Aflatoxins on Body Organs and Body Systems. Creative Commons Attribution License: INTECH; 2013.
28. Kimanya ME, Shirima CP, Magoha H, Shewiyo DH, De Meulenaer B, Kolsteren P, Yun Gong Y. Co-exposures of aflatoxins with deoxynivalenol and fumonisins from maize based complementary foods in Rombo, Northern Tanzania. *Food Control* 2014; 41:76-81.
29. Chen K, Yuan S, Chen J, Peng X, Wang F, Cui F, Fang J. Effects of sodium selenite on the decreased percentage of T cell subsets, contents of serum IL-2 and IFN- γ induced by aflatoxin B1 in broilers. *Research in Veterinary Science* 2013; 95:143-145.
30. Liu Y, Chang CC, Marsh GM, Wu F. Population attributable risk of aflatoxin-related liver cancer: Systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cancer* 2012; 48:2125-2136.
31. Asim M, Sarma MP, Thayumanavan L, Kar P. Role of Aflatoxin B1 as a risk for primary liver cancer in north Indian population. *Clinical Biochemistry* 2011; 44:1235-1240.
32. Schleicher RL, McCoy LF, Powers CD, Sternberg MR, Pfeiffer CM. Serum concentrations of an aflatoxin-albumin adduct in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000. *Clinica Chimica Acta* 2013; 423:46-50.
33. Yang X, Zhang Z, Wang X, Wang Y, Zhang X, Lu H, Wang SL. Cytochrome P450 2A13 enhances the sensitivity of human bronchial epithelial cells to aflatoxin B1-induced DNA damage. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2013; 270:114-121.
34. Li AP, Uzgaré A, LaForge YS. Definition of metabolism-dependent xenobiotic toxicity with co-cultures of human hepatocytes and mouse 3T3 fibroblasts in the novel integrated discrete multiple organ co-culture (IdMOC) experimental system: Results with model toxicants aflatoxin B1, cyclo. *Chemico-Biological Interactions* 2012; 199:1-8.
35. Onyemelukwe GC, Ogoina D, Ibiama GE, y GH Ogbadu. Aflatoxins in body fluids and food of Nigerian Children with protein - energy malnutrition. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 2012; 12(5):6553-6566.
36. Afshar P, Shokrzadeh M, Kalhori S, Babae Z, Saeedi Saravi SS. Occurrence of Ochratoxin A and Aflatoxin M1 in human breast milk in Sari, Iran. *Food Control* 2013; 31:525-529.
37. Arrieta D, Pérez M, Gómez C, Molero G, Novoa E, Rincón H, et al. Efecto del alimento contaminado con aflatoxina B1 (0,07 mg/kg) sobre la morfología hepática y actividad enzimática sérica (AST y ALT) en pollos de engorde. *Rev Cient (Maracaibo)* 2006; 16(1).
38. Kimanya ME, Shirima CP, Magoha H, Shewiyo DH, De Meulenaer B, Kolsteren P, Yun Gong Y. Co-exposures of aflatoxins with deoxynivalenol and fumonisins from maize based complementary foods in Rombo, Northern Tanzania. *Food Control* 2014; 41:76-81.
39. FAO. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. FAO; 2004.

40. Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría de Gobierno. Real decreto 475 Límites máximos permitidos de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en alimentos para consumo humano. Madrid; 1988.
41. Gimeno A. La legislación de la Unión Europea y tolerancias para algunas micotoxinas en la alimentación. *engormix*. [En línea] 20 de octubre de 2005. [Citado el 16 de Agosto de 2013]. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/legislacion-union-europea-tolerancias-t524/p0.htm>
42. MERCOSUR/GMC. Res No. 25/02: Reglamento técnico Mercosur sobre límites máximos de aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz (derogación de la res. GMC n° 56/94). MERCOSUR; 2002.
43. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Nivel máximo permitido de aflatoxinas en alimentos. NTC 3581. Primera Actualización. ICONTEC; 2006.
44. Díaz GJ. Aflatoxina M1: un carcinógeno de potencial presencia en la leche. Bogota: Universidad Nacional de Colombia; 2005.
45. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Industria Alimentaria. Maíz en grano para consumo. NTC 366. Cuarta Actualización. ICONTEC; 1999.
46. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Cereales, leguminosas y sus productos molidos. Muestreo de lotes estaticos. NTC 271. Tercera Actualización. Bogotá: ICONTEC; 2001.
47. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Arepas de maíz refrigeradas. Especificaciones de producto. NTC 5372. Primera Actualización. ICONTEC; 2007.
48. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Granos y cereales. Método de análisis de Aflatoxinas de ocurrencia natural (B1, B2, G1 y G2). NTC 1232. Primera Actualización. ICONTEC; 1996.
49. Comisión Europea. Reglamento (UE) No. 1058/2012 de la Comisión por el que se modifica el Reglamento (CE) No. 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de aflatoxinas en los higos secos; 2012.
50. Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain. Effects on public health of an increase of the levels for aflatoxin total from 4 µg/kg to 10 µg/kg for tree nuts other than almonds, hazelnuts and pistachios. The EFSA Journal 2009; 1168:1-11.
51. Insua V. Trazabilidad avanzada: guía práctica para la aplicación de un sistema de trazabilidad en una empresa alimentaria. Ideaspropias Editorial S.L.; 2006. ISBN 8498390133, 9788498390131.
52. Marvin HJP, Kleter GA, Van der Fels-Klerx HJ, Noordam MY, Franz E, Willems DJM, Boxall A. Proactive systems for early warning of potential impacts of natural disasters on food safety: Climate-change-induced extreme events as case in point. *Food Control* 2013; 34(2):444-456.
53. FAO. Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas. ISSN 1014-2916.
54. Comisión del Codex Alimentarius. Código de prácticas para reducir la Aflatoxina B1 presente en las materias primas y los piensos suplementarios para animales productores de leche. CAC/RCP 45-1997; 2007.
55. Borrell J, Gimeno G. Micotoxinas en los alimentos: medidas de prevención y detoxificación. *Selecciones Avícolas* 2003. p. 567-572.
56. Tapia M, et al. Uso de secuestrantes para disminuir la toxicidad de micotoxinas en alimentos para acuicultura. *Memorias del Décimo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*; 2010. p. 514-542.
57. Dixon JB, Kannevischer I, Tenorio Arvide MG, Barrientos Velásquez AL. Aflatoxin sequestration in animal feeds by quality-labeled smectite clays: An introductory plan. *Applied Clay Science* 2008; 40:201-208.
58. Rustom IYS. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry* 1997; 59(1):57-67.
59. United States Agency for International Development, USAID. Aflatoxin: A synthesis of the research in health, agriculture and trade. [En línea] [Citado el 27 de Agosto de 2013]. Disponible en: <http://www.aflatoxinpartnership.org/~media/Files/Projects/Aflatoxin%20microsite/PACA%20general%20documents/Aflatoxin%20Desk%20Study%20Final%20Report%202012.pdf>
60. Shekhar M, Singh S, Khan AAA, Kumar S. Efficacy of Inorganic salts and Organic acids against Colony Growth of *Aspergillus flavus* and Their use to control Aflatoxin level in Post Harvest Maize. *Internet Journal of Food Safety*

- 2009; 11:4-10.
61. Safara M, Zaini F, Hashemi SJ, Mahmoudi M, Khosravi AR, Shojai-Aliabadi F. Aflatoxin detoxification in rice using citric acid. *Iranian J Publ Health* 2010; 39(2):24-2962.
 62. Nyandieka HS, Maina JO, Nyamwange C. Detoxification of Aflatoxin in Artificially Contaminated Maize Crop by Ammoniation Procedures. *Discovery and Innovation* 2009; 21:1-2.
 63. Allameh A, Safamehr A, Mirhadi SA, Shivazad M, Razzaghi-Abyaneh M, Afshar-Naderi A. Evaluation of biochemical and production parameters of broiler chicks fed ammonia treated aflatoxin contaminated maize grains. *Animal Feed Science and Technology* 2005; 122(3-4):289-301.
 64. Anguiano GL, Vargas AV, Guzmán D. Inactivación de aflatoxina B1 y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su regeneración por acidificación de la masa. *Salud Pública Mex* 2007; 47:369-375.
 65. Arámbula Villa G. La detoxificación de las aflatoxinas, lograda mediante el proceso de nixtamalización, es reversible. Procedente de 1er Simposio "La Investigación y el desarrollo Tecnológico". Queretaro; 2004.
 66. Inan F, Pala M, Doymaz I. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research* 2007; 43:425-429.
 67. Alberts JF, Engelbrecht Y, Steyn PS, Holzapfel WH, Van Zyl WH. Biological degradation of aflatoxin B1 by *Rhodococcus erythropolis* cultures. *International Journal of Food Microbiology* 2006; 109:121-126.
 68. Velazhahan R, Vijayanandraj S, Vijayasamundeeswari A, Paranidharan V, Samiyappan R, et al. Detoxification of aflatoxins by seed extracts of the medicinal plant, *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill - Structural analysis and biological toxicity of degradation product of aflatoxin G1. *Food Control* 2010; 21:719-725.
 69. Turner NW, Subrahmanyam S, Piletsky SA. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Anal Chim Acta* 2009; 632(2):168-180.
 70. Peiwu Li, Zhang Q, Zhang W. Immunoassays for aflatoxins. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2009; 28(9):1115-1126.
 71. Zheng MZ, Richar JL, Binder J. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia* 2006; 161:261-273.
 72. Mosiello L, Lamberti I. Biosensors for Aflatoxins Detection. [aut. libro] and Lamberti Ilaria Mosiello L. [ed.] Dr Irineo Torres-Pacheco. *Aflatoxins - Detection, Measurement and Control* 2011. p. 147-160.
 73. Herrero Querol L. Puesta a punto y validación de un método de análisis de aflatoxinas en frutos secos y cereales. Universidad de Zaragoza; 2012.
 74. Pascale MN. Detection methods for mycotoxins in cereal grains and cereal products. *Proc. Nat. Sci* 2009; 117:15-25.