

DETECCIÓN DE AFLATOXINAS EN MANÍ Y MAÍZ PARA PALOMITAS EN TRES MARCAS LOCALES EN PANAMÁ.

ELISA DETECTION OF AFLATOXINS IN PEANUTS AND POPCORN IN PANAMA.

José J. Him F., Dora Tuñón y Yaira Rodríguez.

jose.him@up.ac.pa; <https://orcid.org/0000-0002-7872-4098>

Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Veraguas. Panamá.

yaira_1701@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-9089-7023>; doracristina@hotmail.es;
<https://orcid.org/0000-0002-2797-4521>

RESUMEN

En Panamá se han hecho pocos estudios sobre la presencia de micotoxinas en alimentos para humanos. Con el propósito de detectar aflatoxinas en productos popularmente consumidos, se analizaron muestras de maní y maíz para palomitas adquiridas en comercios locales. El análisis de las micotoxinas fue realizado mediante el método ELISA competitiva de r-biopharm® para la detección de aflatoxinas. Posteriormente, las muestras de maíz para palomitas fueron tratadas térmicamente para preparar palomitas de maíz y éstas fueron analizadas por aflatoxinas. En maní, la concentración promedio varió entre 16 y 54 ppm, y en maíz para palomitas presentaron rangos entre 18 y 90 ppm. Al comparar los datos de tres marcas de maní en empaques pequeños se determinó que todas tenían similar concentración de aflatoxinas. También se observó similitud entre las muestras de tres marcas de maíz para palomitas. La comparación estadística entre maní y maíz para palomitas no mostró diferencias entre los productos. Se determinó que se dio una disminución significativa de aflatoxinas luego del tratamiento térmico, pero su eliminación no fue total. Estos resultados demuestran el riesgo de la presencia de estos tóxicos en este tipo de productos en Panamá.

PALABRAS CLAVE. *Maní, maíz para palomitas, hongos, micotoxinas.*

ABSTRACT

In Panama, few studies have been done on the presence of mycotoxins in human foods. To detect aflatoxins in popularly consumed products, samples of peanuts and corn were analyzed for popcorn purchased in local stores. Mycotoxin analysis was performed using the competitive ELISA method of r-biopharm® for the detection of aflatoxins. Subsequently, the corn samples for popcorn were heat treated to prepare popcorn and these were analyzed by aflatoxins. In peanuts, the average concentration varied between 16 and 54 ppm, and in popcorn corn, it presented ranges between 18 and 90 ppm. When comparing the data of three peanut brands in small packages it was determined that, they all had a similar concentration of aflatoxins. Similarity was also observed between the samples of three corn brands for popcorn. The statistical comparison between peanuts and corn for popcorn showed no differences between the products. It was determined that there was a significant aflatoxin decrease after the heat treatment, but its elimination was not total. These results demonstrate the risk of the presence of these toxins in this type of products in Panama.

KEYWORDS. *Peanuts, popcorn, molds, mycotoxins.*

Artículo recibido: 15 de agosto de 2021.

Artículo aceptado: 26 de septiembre de 2021.

INTRODUCCIÓN

La presencia de micotoxinas en productos secos es muy común debido a las condiciones de almacenamiento. La aparición de las aflatoxinas está relacionada con las condiciones ambientales de almacenamiento a las que son sometidas las cosechas en cualquier momento de su producción (Kwiatkowski y Alves, 2007; Medina, Rodríguez y Magan, 2014). Las condiciones ambientales de humedad y temperatura favorecen la proliferación de hongos, pero incluso en condiciones secas existe el riesgo de contaminación por aflatoxinas (Wu *et al.*, 2009; Hell y Mutegei, 2011; Wu *et al.*, 2014). Estas sustancias son producidas por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. *A. flavus* es un oportunista en los cultivos. Esta sustancia es un potente carcinógeno. Intoxicaciones por alimentos causadas por estas sustancias a partir de maíz y maní son comunes (Dorner, 2004; Klich, 2007; Khlangwiset *et al.*, 2011).

Desde su descubrimiento en los años 50, las aflatoxinas han sido reconocidas como contaminantes ubicuos de los suministros de alimentos humanos y de animales. Como muchas micotoxinas, las aflatoxinas son metabolitos secundarios de hongos que contaminan materias primas agrícolas y pueden causar enfermedades en humanos y animales (Klich, 2007). Las consecuencias de las intoxicaciones por estas sustancias son muy variadas, ya sea efectos por una exposición alta como efectos agudos, incluyendo muertes rápidas y efectos crónicos como carcinoma hepatocelular (Liu y Wu, 2010; Liu y Huang, 2012; Roze *et al.*, 2013). También se conoce de efectos en el crecimiento de niños (Kensler, Roebuck, Wogan, y Groopman, 2011). Se ha estimado que las dosis de 20-120 µg/kg/día de AFB1 durante periodos de 1 a 3 semanas producen toxicidad aguda, potencialmente mortal.

Las aflatoxinas contaminan el 25 % de las cosechas a nivel mundial, generalmente en cualquier etapa de su almacenamiento (Klich, 2007). Este problema ha sido estudiado particularmente en países de bajos recursos. En África, el problema es de singular importancia; desde 2004 se han detectado 477 envenenamientos por esta toxina asociada con maíz contaminado (Liu y Huang, 2012) y también han sido documentados casos en el este de Kenia (Daniel *et al.*, 2011).

Para disminuir estos problemas, se han hecho recomendaciones para reducir el consumo frecuente de alimentos de riesgo como son el maíz y maní (Lewis *et al.*, 2005; Kang'Ethe y Lang'A, 2009; Hell y Mutegei, 2011). Las acciones para reducir las aflatoxinas después de la cosecha incluyen el secado rápido, adecuada transportación y empaquetado, limpieza, ahumado, control de insectos, y el uso de pesticidas sintéticos y botánicos. También se sugiere el control biológico (Yu, 2012).

En Panamá ya se han reportado datos de aflatoxinas en alimentos como por ejemplo en café (Franco, Vega, Reyes, De León, y Bonilla, 2014), en maíz y arroz (Shigematsu-Embrey y Martín, 1988) y en maní (Rojas *et al.*, 2000). La presencia de estas toxinas parece ser evidente, dadas las condiciones de temperatura y humedad de la región.

El objetivo de este trabajo fue el de detectar aflatoxinas en productos de maní y maíz para palomitas normalmente consumidos en paquetes sellados en Panamá. También se evaluó la persistencia de estas toxinas en el tratamiento térmico que reciben las palomitas de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de productos secos fueron escogidos para hacerles pruebas por aflatoxinas. Los productos fueron maní en paquetes y palomitas de maíz en paquetes de plástico, productos de consumo popular. De cada producto se seleccionaron tres marcas diferentes y de cada marca se muestreó un total de tres paquetes, cada paquete pertenecía a un lote de producción diferente. En total fueron tres

marcas y cinco lotes diferentes. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de análisis de alimentos del CRU de Coclé.

Después de realizado el análisis de aflatoxinas a las muestras de maíz para palomitas, muestras de los mismos paquetes fueron tratados por cocción (tratamiento térmico) para prepararlas como palomitas de maíz. Las palomitas preparadas fueron analizadas para observar la persistencia de las aflatoxinas después del tratamiento térmico.

El análisis de las micotoxinas fue realizado mediante el método ELISA competitiva de r-biopharm® para la detección de aflatoxinas. De cada muestra se pesó 5 g y fue homogeneizada en 25 mL de metanol al 70%. Luego de una agitación manual de 25 veces, se filtró la mezcla con papel filtro Watman No 1 y el filtrado se diluyó con un mL de agua destilada estéril. Luego, 50 µL de esta solución fue procesada en el sistema r-biopharm®; usando el siguiente orden para cada muestra: 50 µL de solución estándar en el primer hoyo, 50 µL en los hoyos siguientes de cada muestra, 50 µL del conjugado enzimático a cada hoyo, 50 µL de anticuerpo aflatoxina; las placas se agitaron suavemente y fueron incubadas a 25 °C por 10 minutos. Posteriormente se decantó el líquido y se hizo el lavado correspondiente. A cada hoyo se le agregó el sustrato cromógeno; las placas se incubaron por cinco minutos a 25 °C en oscuridad, luego fueron agregados 100 µL de solución de ácido sulfúrico, y finalmente se midió la absorbancia a 450 nm. Las concentraciones de aflatoxinas fueron obtenidas del programa de Biopharm.

Los datos fueron analizados con el programa SPSS. Primero se determinó la normalidad de los grupos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y según los resultados se utilizaron las pruebas de Kruskal-Wallis, U de Mann-Whitney o el rango de signo de Wilcoxon; usando un nivel de significancia del 0.05. Fueron comparados las diferentes casas productoras de maní y de palomitas de maíz.

RESULTADOS

En varias ocasiones no se detectó presencia de aflatoxinas en las muestras, pero en todas las marcas se obtuvieron datos positivos. Los datos sometidos a la prueba de Kolmogorov-Smirnov utilizada para observar su comportamiento en cada marca y producto determinó un comportamiento no normal de varios de ellos (Tabla 1). El resultado mostró un comportamiento no normal para dos casas de Maní y para una de Maíz para palomitas, por lo que se aplicaron pruebas no paramétricas.

Tabla 1

Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para los datos agrupados por casa productora (maní, maíz para palomitas)

	Marca del producto	Estadístico	GI	Sig.
Maní	Marca 1	.421	5	.004
	Marca 2	.237	5	.200*
	Marca3	.376	5	.020
Maíz para palomitas	Marca 1	.317	5	.113
	Marca 2	.367	5	.026
	Marca3	.180	5	.200*

Las medias de las concentraciones para maní tuvieron un rango de 16 y 54 ppm, y las medias de maíz para palomitas presentaron rangos entre 18 y 90 ppm. Las pruebas de Kruskal – Wallis demostraron que todas las marcas presentaban igual concentración de aflatoxinas tanto para maní (P=0.076), como en maíz para palomitas (P=0.083) (Tabla 2).

Tabla 2

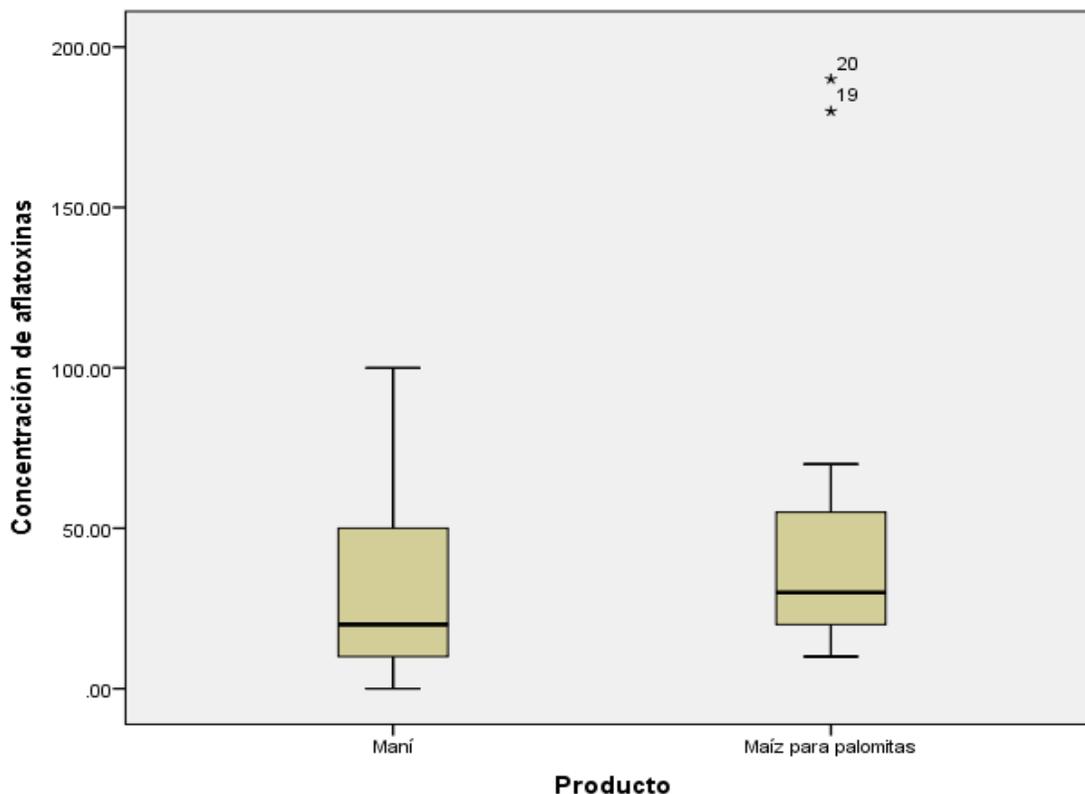
Prueba de Kruskal-Wallis para determinar comparación de las casas productoras para cada producto

	Maní	Maíz para palomitas
Chi-cuadrado	5.160	4.966
Gl	2	2
Sig. Asintótica	.076	.083

Al determinarse la similitud entre las marcas, tanto de maní como de maíz para palomitas; se comparó el grado de contaminación por aflatoxinas entre los dos grupos, maní y maíz para palomitas. El comportamiento de los datos se observa en la **Figura 1**.

Figura 1

Comparación gráfica de los datos agrupados de las diferentes marcas de maní y de maíz para palomitas. Se observa una aparente similitud entre las dos muestras.



Fuente: elaboración propia

El análisis de los datos de concentración de aflatoxinas en maní y maíz para palomitas demostraron que uno de ellos no presentaba normalidad en su distribución (Tabla 3).

Tabla 3

Prueba de Kolmogorov- Smirnov para establecer normalidad de los datos de los productos analizados (Maní, maíz para palomitas)

		Estadístico	gl	Sig.
Concentración de aflatoxinas	Maní	.196	15	.124
	Maíz para palomitas	.245	15	.015

El grupo denominado maíz para palomitas no presentó un comportamiento normal de sus datos, por lo que se sometió a pruebas no paramétricas para establecer diferencias. La prueba seleccionada fue la U de Mann – Whitney. Los resultados de la comparación se presentan como rangos de Mann-Whitney (Tabla 4).

Tabla 4

Rango de Mann-Whitney para comparar la concentración de aflatoxinas entre maní y maíz para palomitas

		Producto	N	Rango promedio	Suma de rangos
Concentración de aflatoxinas		Maní	15	14.10	211.50
		Maíz para palomitas	15	16.90	253.50
		Total	30		

La prueba U de Mann-Whitney estableció que no hubo diferencias significativas entre el grupo maní y el grupo maíz para palomitas ($P=0.380$). Lo que indica que existe igual posibilidad de encontrar las aflatoxinas en estas concentraciones en ambos productos.

Por último, los datos de aflatoxinas en maíz para palomitas al ser comparados con las palomitas preparadas de la misma muestra mostraron la persistencia de las aflatoxinas en las palomitas de maíz cocidas. (los datos de las palomitas cocidas también presentaron distribución no normal).

La media de la concentración de aflatoxinas en maíz para palomitas fue de 51.33 ppm, y en las palomitas de maíz (palomitas cocidas) fue de 12.67 ppm. Para comparar estos resultados, éstos fueron sometidas a la prueba de rangos con signo de Wilcoxon (Tabla 5).

Tabla 5

Rangos con signo de Wilcoxon que compara al maíz para palomitas y a las palomitas de maíz preparadas.

		N	Rango promedio	Suma de rangos
Palomitas de maíz - Maíz para palomitas	Rangos negativos	11 ^a	7.73	85.00
	Rangos positivos	2 ^b	3.00	6.00
	Empates	2 ^c		
	Total	15		

a. Palomitas de maíz < Maíz para palomitas

b. Palomitas de maíz > Maíz para palomitas

c. Palomitas de maíz = Maíz para palomitas

Los resultados de la comparación de las concentraciones de aflatoxinas fueron significativamente más bajos en las palomitas cocidas con respecto a los datos de las mismas muestras sin tratamiento térmico ($P = 0.005$). Esto significa que el tratamiento térmico al preparar las palomitas de maíz disminuye, pero no elimina, la concentración de aflatoxinas.

DISCUSIÓN

Los análisis estadísticos demostraron que todas las marcas de maní estudiadas tenían la misma posibilidad de encontrar concentraciones de aflatoxinas en el mismo rango. De igual forma ocurrió en las muestras de maíz para palomitas. Este hallazgo en maíz para palomitas concuerda con los detectados en Brasil, donde las muestras en su mayoría (más del 60 %) presentaron contaminación con aflatoxinas (Andrade et al., 2018).

Como se ha dicho, el efecto de las aflatoxinas es acumulativo, y la presencia de ellas en productos de consumo popular, como lo son el maní y el maíz, es un riesgo para la salud humana (Egal et al., 2005), principalmente el cáncer hepático (Kwiatkowski y de Faria Alves, 2007)

Al no encontrarse diferencias significativas entre los datos agrupados de maní y de maíz para palomitas, se establece que la probabilidad de consumo de aflatoxinas es igual en estos dos productos. Cabe recalcar que todos los productos seleccionados fueron aquellos que tenían empaques de plástico sellado, pero no al vacío. Este tipo de empaque es más económico y estos productos son muy consumidos por la población como meriendas entre las comidas o en reuniones. Para Kachapulula et al (2017), la presencia de aflatoxinas en estas meriendas son un riesgo para los consumidores. Para todos estos productos debe existir un sistema de monitoreo para minimizar este riesgo (Saleemullah et al, 2006).

La comparación de los datos de maíz para palomitas y de las palomitas preparadas concluyeron que existe una disminución significativa de aflatoxinas, una vez que se han tratado térmicamente. Pero el resultado más importante es que siguen estando presentes después del tratamiento.

CONCLUSIÓN

Aunque en algunas muestras no se detectaron aflatoxinas, se pudo observar que, en al menos una ocasión se presentaron resultados positivos en todas las marcas de los productos estudiados. Lo que demuestra que todos estos productos tienen este riesgo potencial.

Todas las marcas de maní y maíz para palomitas estudiadas mostraron similar nivel de contaminación por micotoxinas.

La prueba U de Mann-Whitney estableció que no hubo diferencias significativas entre el grupo maní y el grupo maíz para palomitas ($P=0.380$). Lo que indica que existe igual posibilidad de encontrar las aflatoxinas en estas concentraciones en ambos productos.

Los resultados de la comparación de las concentraciones de aflatoxinas fueron significativamente más bajos en las palomitas cocidas con respecto a los datos de las mismas muestras sin tratamiento térmico ($P = 0.005$). Esto significa que el tratamiento térmico al preparar las palomitas de maíz disminuye, pero no elimina, la concentración de aflatoxinas.

Estos resultados muestran el riesgo de la presencia de aflatoxinas en estos productos en Panamá. Tanto el maní y el maíz para palomitas sin un empaque seguro son potencialmente peligrosos para los consumidores.

REFERENCIAS

- Andrade, G. C. R. M., Pimpinato, R. F., Francisco, J. G., Monteiro, S. H., Calori-Domingues, M. A. y Tornisielo, V. L. (2018). Evaluation of mycotoxins and their estimated daily intake in popcorn and cornflakes using LC-MS techniques. *LWT*, 95, 240–246. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2018.04.073>
- Daniel, J. H., Lewis, L. W., Redwood, Y. A., Kieszak, S., Breiman, R. F., Dana flanders, W., ... McGeehin, M. A. (2011). Comprehensive assessment of maize aflatoxin levels in eastern Kenya, 2005-2007. *Environmental Health Perspectives*. <https://doi.org/10.1289/ehp.1003044>
- Dorner, J. W. (2004). Biological control of aflatoxin contamination of crops. *Journal of Toxicology - Toxin Reviews*. <https://doi.org/10.1081/TXR-200027877>
- Egal, S., Hounsa, A., Gong, Y. Y., Turner, P. C., Wild, C. P., Hall, A. J., ... Cardwell, K. F. (2005). Dietary exposure to aflatoxin from maize and groundnut in young children from Benin and Togo, West Africa. *International Journal of Food Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.004>
- Franco, H., Vega, A., Reyes, S., De León, J. y Bonilla, A. (2014). Niveles de Ocratoxina A y Aflatoxinas totales en cafés de exportación de Panamá por un método de ELISA. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*.
- Hell, K. y Mutegi, C. (2011). Aflatoxin control and prevention strategies in key crops of Sub-Saharan Africa. *African Journal of Microbiology Research*. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.009>
- Kachapulula, P. W., Akello, J., Bandyopadhyay, R. y Cotty, P. J. (2017). Aflatoxin contamination of groundnut and maize in Zambia: observed and potential concentrations. *Journal of Applied Microbiology*, 122(6). <https://doi.org/10.1111/jam.13448>
- Kang'Ethe, E. K. y Lang'A, K. A. (2009). Aflatoxin B1 and M1 contamination of animal feeds and milk from urban centers in Kenya. *African Health Sciences*. <https://doi.org/10.4314/ahs.v9i4.52140>
- Kensler, T. W., Roebuck, B. D., Wogan, G. N. y Groopman, J. D. (2011). Aflatoxin: A 50-year Odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicological Sciences*. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq283>
- Khlangwiset, P., Shephard, G. S. y Wu, F. (2011). Aflatoxins and growth impairment: A review. *Critical Reviews in Toxicology*. <https://doi.org/10.3109/10408444.2011.575766>

- Klich, M. A. (2007). *Aspergillus flavus*: The major producer of aflatoxin. *Molecular Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00436.x>
- Kwiatkowski, A. y Alves, A. P. de F. (2007). Importância da detecção e do controle de Aflatoxinas em alimentos. *Sabios, Revista de Saúde e Biologia*.
- Kwiatkowski, A. y de Faria Alves, A. P. (2007). IMPORTÂNCIA DA DETECÇÃO E DO CONTROLE DE AFLATOXINAS EM ALIMENTOS . *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*; v. 2, n. 2 (2007): .
- Lewis, L., Onsongo, M., Njapau, H., Schurz-Rogers, H., Lubber, G., Kieszak, S., ... Gupta, N. (2005). Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. *Environmental Health Perspectives*. <https://doi.org/10.1289/ehp.7998>
- Liu, W. C. y Huang, W. C. (2012). Modeling the transport and distribution of fecal coliform in a tidal estuary. *Science of the Total Environment*, 431, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.016>
- Liu, Y. y Wu, F. (2010). Global burden of Aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment. *Environmental Health Perspectives*. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901388>
- Medina, A., Rodriguez, A. y Magan, N. (2014). Effect of climate change on *Aspergillus flavus* and aflatoxin B1 production. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00348>
- Rojas, V., Martin, M. C. y Quinzada, M. (2000). Aflatoxins in newly harvested corn in Panama. *Revista Médica de Panamá*.
- Roze, L. V., Hong, S.-Y. y Linz, J. E. (2013). Aflatoxin Biosynthesis: Current Frontiers. *Annual Review of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-083012-123702>
- Saleemullah, Iqbal, A., Khalil, I. A. y Shah, H. (2006). Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. *Food Chemistry*, 98(4), 699–703. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.06.034>
- Shigematsu-Embrey, M. L. y de Martín, M. C. (1988). Detección de aflatoxinas y aislamiento de *Aspergillus flavus* toxigénico en maíz y arroz. *Revista Médica de Panamá*.
- Wu, F., Groopman, J. D. y Pestka, J. J. (2014). Public Health Impacts of Foodborne Mycotoxins. *Annual Review of Food Science and Technology*, 5(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092431>
- Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V. y Kuca, K. (2009). Biological degradation of aflatoxins. *Drug Metabolism Reviews*. <https://doi.org/10.1080/03602530802563850>
- Yu, J. (2012). Current Understanding on Aflatoxin Biosynthesis and Future Perspective in Reducing Aflatoxin Contamination. *Toxins*, 4(11), 1024–1057. <https://doi.org/10.3390/toxins4111024>