

CANCERIGENI ÎN ALIMENTAȚIE - AFLATOXINELE

CARCINOGENS IN FOOD - AFLATOXINS

Conf.univ.dr. SIMION Violeta-Elena

Facultatea de Medicină Veterinară, Universitatea Spiru Haret, București, România

OPEN ACCESS JOURNAL

Received: 22 November 2016

Accepted: 26 November 2016

Corresponding author:

Conf.univ.dr. SIMION Violeta-Elena, Facultatea de Medicină Veterinară,
Universitatea Spiru Haret, București, Bdul Basarabia nr.256,
E-mail: simion.violeta.elena@gmail.com; Tel.: +040744656239

REZUMAT

În acest studiu, un total de 41 de probe de alimente consumate frecvent de populație - mălai, făină, cereale procesate și fulgi de porumb, pufuleți, condimente, arahide, semințe de floarea-soarelui, cafea și ceai prelevate randomizat din supermarket, magazine de proximitate, și gospodării din București, au fost analizate privind contaminarea cu AF totale prin metoda imunoenzimatică ELISA. AF totale au fost determinate în proporție de 56.09% din probele analizate, cu valori cuprinse între 0.001 - 7.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Prezența larg răspândită a AF în alimente poate fi considerată a fi un potențial pericol pentru sănătatea umană.

CUVINTE-CHEIE: alimente, aflatoxina totală, metoda ELISA

ABSTRACT

In this study, a total of 41 food samples commonly consumed by the population - milled corn, flour, cereals and cornflakes, corn snacks, spices, peanuts, sunflower seeds, coffee and tea taken randomly from supermarkets, neighborhood stores and households from Bucharest, were analyzed for AF total by using linked immunosorbent assay (ELISA) technique. AF total was detected in 56.09% samples with a levels ranged from 0.001 to 7.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The widespread presences of AF in food may be considered to be a potential hazards for human health

KEYWORDS: food, AF total, ELISA technique

Cite this article:
Simion
Violeta-Elena.
Carcinogens in
food - aflatoxins.
Rom J Vet Med
Pharm. 2016;
1(1):6-10.

INTRODUCERE

Cu puțin peste 50 de ani în urmă au fost descoperite aflatoxinele și începeau să fie făcute primele observații privind implicarea acestor metaboliți secundari ai fungilor filamentoși în sănătatea omului și a animalelor (1). Într-un interval extrem de scurt de timp, dezvoltarea în domeniul științelor analitice și îmbunătățirea metodelor de analiză concomitent cu reglementările în siguranța alimentară au condus către constituirea unei baze de date în creștere cu privire la riscurile expunerii la o contaminare multiplă cu aceste toxine (2). Aflatoxinele (AF) sunt micotoxine produse în natură de specii de fungi din genurile *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*) și mai rar de unele specii din genul *Penicillium* (*P. Puberulum*, *P. Citrinum*, *P. Variable*) și *Rhizopus*. Din punct de vedere chimic sunt substanțe solide, cristaline, solubile în solvenți organici însă slab solubile în apă (10-20 mg AF/litru) și insolubile în substanțele uleioase. În stare uscată, AF sunt foarte rezistente la temperaturi ridicate ceea ce le conferă o mare stabilitate în substraturile alimentare. Totodată, aceste micotoxine sunt instabile când sunt expuse la lumină, în special la lumina UV. În contrast cu micozele, micotoxicozele pot fi încadrate mai degrabă în categoria toxicozelor. Condiții climatice - temperatură, umiditate, precipitații sau de microclimat, acțiuni de mecanizare, fertilizare, chimizare a culturilor sunt tot atâția factori de stres pentru plante și favorizanți pentru producerea fungilor și elaborarea micotoxinelor de către aceștia. În general, micotoxinele nu se acumulează în mușchi însă producții de metabolism ai acestora se regăsesc în organe-țintă (ficat, rinichi), în lichide biologice (sânge, urină) și sunt eliminate la exterior (fecale, urină și lapte). AFB1 este cea mai carcinogenă substanță naturală și este recunoscut faptul că AFB1 este cea mai agresivă micotoxină, pentru toate speciile de animale, inclusiv pentru om.

Micotoxicozele se produc în urma ingestiei de hrană contaminată; contactul dermic cu un substrat infestat cu fungi micotoxigeni și inhalarea sporilor sunt de asemenea surse importante de contaminare. Copii și tinerii sunt categoriile cele mai vulnerabile la consumul alimentelor contaminate cu micotoxine (3,4).

Deși incidența AF în alimente este frecvent întâlnită în țări precum Iran, Pakistan, Turcia, Nigeria, Africa de Sud, Brazilia unde condițiile climatice favorizează creșterea fungilor *Aspergillus* spp și producerea de aflatoxine (5,6,7), studiul BIOMIN efectuat pentru anul 2015 a raportat incidența AF în 18 % din probele de furaje destinate animalelor, în întreaga lume (8721 de probe din 75 de țări). În Asia de Sud și

Asia de Sud-Est AF au fost determinate în 97% și respectiv 47% din probe, multe dintre valori fiind peste pragul de 20 ppb ceea ce constituie un risc pentru sănătatea animalelor, implicit a omului. Aflatoxinele sunt, de asemenea determinate în mod frecvent în probele de furaje analizate în țări din Africa, America de Sud, Europa de Sud, Orientul Mijlociu și Oceania (8). Trebuie remarcat că se pot întâlni situații în care în furajele sau alimentele analizate se găsesc fie doar fungii, fungii și micotoxina sau micotoxinele produse de către aceștia, sau adesea se găsesc doar micotoxinele. Simptomele și gravitatea unei astfel de patologii depind de tipul de micotoxină ingerată, durata expunerii la toxicul respectiv precum și o serie de factori care țin de individ - vârstă, sex, starea de sănătate. Nu în ultimul rând, este extrem de important în cazul acestor toxice dacă au fost asociate sau nu cu alte micotoxine la momentul ingerării, acțiunea sinergică a acestora fiind binecunoscută.

Caracteristic pentru aflatoxine este incidența crescută a acestora în alimente precum: alune, nuci, semințe, fructe uscate, condimente, cereale, alimente consumate frecvent de populație. Ficatul este considerat organul țintă pentru aflatoxine. La acest nivel, metabolizarea micotoxinelor are loc sub acțiunea enzimelor microzomale. AF sunt oxidate în ficat cu formare de molecule foarte reactive, capabile să lege acizii nucleici sau proteinele funcționale. Această bioactivare hepatică are o importanță considerabilă pentru sănătate din cauza metaboliților activi care se formează in situ, la nivelul țesuturilor. Producții de reacție sunt eliminați din organism prin producții de excreție (fecale și urină) și prin lapte, sub formă nemodificată și ca metaboliți (9).

MATERIALE ȘI METODE

Au fost prelevate în aceeași zi, 41 de probe de alimente provenite din magazine, supermarket-uri și gospodării: 4 probe de făină, 4 probe de mălai, 4 probe de pufuleți, 8 probe de cereale, 8 probe de condimente, 6 probe de arahide și semințe de floarea-soarelui, 5 probe de cafea măcinată și cafea boabe și 2 probe de ceai. Prelevarea probelor s-a făcut în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 401/2006 de stabilire a metodelor de prelevare de probe și a metodelor de analiză pentru controlul oficial al conținutului de micotoxine din produsele alimentare și Regulamentul (UE) nr. 178/2010 de modificare a Regulamentului (CE) nr. 401/2006 în ceea ce privește arahidele, alte semințe și fructe oleaginoase, fructele cu coajă tare, sâmburii de caise, lemnul dulce și uleiul vegetal.

Tabelul 1. Incidența AF în probele de alimente analizate

Categorie	Nr. Total de probe	Nr. Probe %	AF totale depistate	AF % depistat
Cafea	5	22%	5	100%
Ceai la plic	2	10%	2	100%
Condimente	8	23%	7	88%
Arahide și semințe de floarea-soarelui	6	22%	5	83%
Faina	4	1%	2	50%
Fulgi de porumb și cereale	8	14%	2	29%
Malai	4	3%	0	0%
Pufuleți	4	5%	0	0%
Total	41	100%	23	

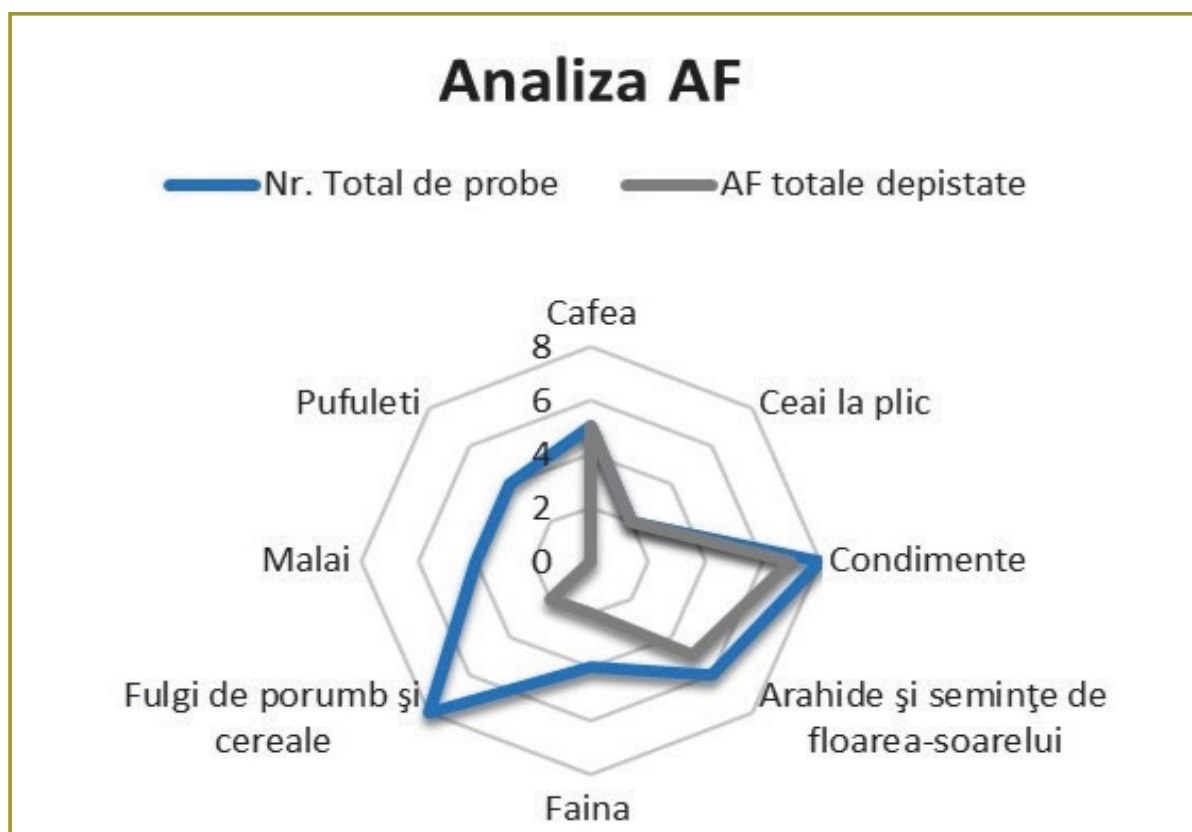
Analiza micotoxinelor AF din alimente s-a efectuat folosind Kit ELISA pentru determinarea aflatoxinei, RIDASCREEN AFLATOXIN TOTAL și soft prelucrare date RIDAWIN/FOOD/211010.MET furnizate de DIAMEDIX SA România.

Limitele privind contaminarea alimentelor au fost stabilite în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare și Regulamentul (UE) nr. 165/2010 de modificare a Regulamentului (CE) nr. 1881/2006 de stabilire a

nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare în ceea ce privește aflatoxinele. Astfel, pentru arahide și semințe de oleaginoase cât și pentru toate cerealele și produsele derivate din cereale, incluzând produsele din cereale prelucrate, nivelul maxim admis este de 4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$; pentru mirodenii, nivelul maxim admis este de 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

REZULTATE

Analiza micotoxicologică a celor 41 de probe analizate a relevat prezența micotoxinei AF

**Figura 1.** AF totale ($\mu\text{g}/\text{kg}$) în probele de alimente analizate

totale în cantități care au variat între 0.001 - 7.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Tabelul 1; Figura 1).

Din analiza datelor obținute rezultă pentru:

- Subproduse din grâu (făină): AF totale au fost determinate în proporție de 25% din cazuri (2 probe) și nedeterminate în 75% din cazuri (6 probe), cu limite de variație între 0.016 - 0.124 $\mu\text{g}/\text{kg}$;

- Fulgi de porumb și cereale: AF totale au fost determinate în proporție de 29% (2 probe) și nedeterminate în 71% (5 probe), având valoarea de 0.001 $\mu\text{g}/\text{kg}$;

- Condimente: AF totale au fost determinate în proporție de 87.5% (7 probe) și nedeterminate în 12.5% (1 probă), cu limite de variație între 0.015 - 7.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$;

- Arahide și semințe de floarea-soarelui: AF totale au fost determinate în proporție de 83.33% (5 probe) și nedeterminate în 16.66% (1 probă), cu limite de variație între 0.010 - 2.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$;

- Cafea și ceai la plic: AF totale au fost determinate în proporție de 100% (7 probe), cu limite de variație între 0.015 - 4.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$;

- AF totală nu a fost determinată la nici una din cele 4 probe de pufuleți și în cele 4 probe de mălai analizate.

DISCUȚIE

Cercetarea a urmărit efectuarea unui screening privind conținutul în AF, în 41 de probe de alimente consumate frecvent de populație. Din analiza datelor prezentate în Tabelul 1 și Graficul 1 privind incidența micotoxinelor în probele de alimente, rezultă că în probele de cafea și ceai la plic, AF totale au fost determinate în proporție de 100%. Trebuie precizat însă că nu există o legislație UE, privind limitele maxime admise pentru AF totale, în cafea și ceai. O serie de studii încadrează aceste două produse în categoria celor cu risc potențial de contaminare cu AF. Garcia și col. (2015) au arătat într-un studiu recent posibilitatea contaminării în mod natural a cafelei cu AF, valoarea acesteia în probele analizate fiind între 0.25 până 13.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (10). De asemenea, într-un alt studiu, aceeași autori au prezentat rezultate privind incidența unor micotoxine, inclusiv a AF în probele de cafea (tip măcinată, solubilă și turcească) cu valori cuprinse între 0.69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ și 282.89 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (11). Sunt de asemenea numeroase cercetări privind incidența AF în probele de ceai analizate. Astfel, Viswanath și col. (2012) prin analiza unor probe de ceai negru prelevate din supermarket arată prezența fungilor aflatoxigeni în proporție de 25.9% și o valoare de 19.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 într-o singură probă (13).

Condimentele și semințele de oleaginoase sunt o categorie recunoscută de alimente cu risc potențial de contaminare cu aflatoxine. Rezultatele obținute au relevat prezența AF totale în proporție de 83-88% în cele 14 probe analizate. Fazekas și col. (2005) atrag atenția în urma analizei a 70 de probe de boia de ardei și piper, asupra contaminării acestora cu AF și ochratoxină (OTA); astfel, în 18 probe de piper roșu a fost determinată AFB1, la 7 dintre acestea fiind depășit nivelul maxim admis. Totodată, studiul atrage atenția asupra importanței screening-ului efectuat în mod constant și a calității produselor importate care sunt ulterior folosite la prepararea altor amestecuri de condimente (10).

Din analiza datelor prezentate, rezultă că în probele de mălai și făină analizate, incidența AF totale a fost de 50 %, cu valori mult sub limita maximă admisă. Pentru fulgii de porumb și cerealele procesate, incidența AF totale a fost și mai redusă, de 29% iar valoarea AF totale determinate a fost la limita de detecție a metodei folosite. Aceste rezultate sugerează atât absența fungilor micotoxigeni și a AF în materia primă (cereale) cât și pe parcursul prelucrării, transportului și a depozitării produselor obținute din acestea.

În probele de mălai și pufuleți analizate nu au fost determinate AF totale. În general, aceste produse pot fi susceptibile de contaminarea cu alte micotoxine cum sunt de exemplu fumonizina și zearalenona, în comparație cu aflatoxinele însă aceste determinări nu au făcut obiectul acestui studiu.

CONCLUZII

Screening-ul efectuat privind contaminarea cu AF totale a alimentelor consumate frecvent de populație a arătat un procent de 100% contaminare pentru probele de cafea și ceai la plic, urmat de 88% pentru condimente, 83% pentru arahide și semințe de floarea-soarelui, 50% pentru probele de făină analizate și 29% pentru probele de fulgi de porumb și cereale.

În privința cantității de AF totale determinate, 12.19% (5 probe) au avut valori peste limita admisă, cuprinse între 4.71 - 7.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AF totale.

Fiind cunoscute incidența crescută a AF în alimente consumate frecvent de populație precum și efectele hepatotoxice, genotoxice, oncogenice și imunomodulatoare ale acestor micotoxine, se impune o abordare din diferite perspective, începând cu conștientizarea populației cu privire la aceste toxine și efectele lor, metodele de determinare până la modalitățile de prevenire și combatere.

Bibliografie

1. Shephard, G.S. Impact of micotoxins on human health in developing countries. *Food Addit. Contam.* 2008. 25, 146-151.
2. Shephard, G.S. Current Status of Mycotoxin Analysis: A Critical Review *Journal of AOAC International* 2016. Vol. 99, no. 4, p.842-848.
3. Bennett, J.W., & Klich, M. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003, 16, 497-516. doi:10.1128/CMR.16.3.497-516.2003
4. Khlangwiset, P., Shephard, G.S., & Wu, F. Aflatoxins and growth impairment: a review. *Crit. Rev. Toxicol.* 2011, 41, 740-755. doi:10.3109/10408444.2011.575766
5. Asghar, M.A., Ahmed, A., Iqbal, J., Zahir, E., Nauman, H. Fungal flora and aflatoxin contamination in Pakistani wheat kernels (*Triticum aestivum* L.) and their attribution in seed germination, *Journal of Food & Drug Analysis*, 2016, Vol.24, Issue 3, p.635-643.
6. Hedayati, M.T., Omran, S.M., Soleymani, A., Armaki, M.T. Aflatoxins in food products in Iran: a review of the literature, *Jundishapur Journal of Microbiology*, 2016, Vol.9, Issue 7, p.1-8.
7. Hacibekiroglu, I., Kolak, U. Aflatoxins in various food from Istanbul, Turkey, *Food Additives&Contaminants: Part B: Surveillance Communications*, 2013, Vol.6, Issue 4, p.260-264.
2016. Available from: <https://www.biomin.net/de-an/blog-posts/2015-biomin-mycotoxin-survey-out-now/>
8. Diaz, D.E. The mycotoxin blue book. Nottingham University Press, 2005, p.280.
9. Garcia-Moraleja, A., Font, G., Manes, J. Analysis of mycotoxins in coffee and risk assessment in Spanish adolescents and adults, *Food&Chemical Toxicology*, 2015, Vol.86, p.225-233.
10. Garcia-Moraleja, A., Font, G., Manes, J., Ferrer, E. Simultaneous determination of mycotoxin in commercial coffee, *Food Control*, 2015, Vol.57, p.282-292.
11. Viswanath, P., Nanjegowda, D.K., Govindgowda, H., dattatreya, A.M., Siddappa, V. Aflatoxin determination in bleach tea (*Camellia sinensis*) - status and development of a protocol, *Journal of Food Safety*, 2012, Vol. 32, Issue 1, p.13-21.
12. Fazekas, B., Tar, A., Kovacs, M. Aflatoxin and ochratoxin A content in Hungary, *Food Additives&Contaminants*, 2005, Vol.22, Issue 9, p.856-863.

CV



Conf. dr. SIMION Violeta-Elena

FACULTATEA DE MEDICINA VETERINARA, UNIVERSITATEA SPIRU HARET BUCURESTI

1998 - prezent - Conferentiar, Sef lucrari, Asistent universitar, Preparator universitar

Facultatea de Medicina Veterinara, Universitatea Spiru Haret Bucuresti, <http://mvvet.spiruharet.ro/>

- Sustinerea lucrarilor practice si a cursului la disciplinele: Nutriție animală și agronomie; Micotoxicologie; Biologia plantelor

1996 - 2003 Director adjunct, Medic veterinar

Bonsai Impex SRL, Innovet Impex SRL, Rosim's Impex SRL

- Deschiderea, conducerea si organizarea unor firme cu profil veterinar, firma proprie

EDUCAȚIE ȘI FORMARE

2010 - 2011 Cercetator postdoctoral

Academia Romana, INCE Costin Kiritescu, Bucuresti

- Scoala postdoctorala pentru biodiversitate zootehnica si biotehnologii alimentare pe baza economiei si bioeconomiei necesare ecosanogenezei (Atestat Seria A Nr. 030 /27.02.2013)

2000 - 2008 Cercetator doctoral

Universitatea de Stiinte Agronomice si Medicina Veterinara, Bucuresti

- Doctorat, Ordin MECT Nr.4887/25.07.2008, Domeniul fundamental Stiinte medicale, domeniul Medicina Veterinara

1990 - 1996 DVM (doctor medic veterinar)

Facultatea de Medicina Veterinara, Universitatea Spiru Haret Bucuresti

- Diploma de licenta Nr. 12/04.04.1997 Ministerul Educatiei, Seria P, Nr. 0009912, USAMV Bucuresti

Brevete

Nr. 2 - Brevet de invenție Nr. 122174 din 27.02.2009: Compoziție de hrană pentru urolitiază cu struviți la pisică, unic autor, publicat în Buletin Oficial de Proprietate Industrială, Secțiunea Invenții, Nr. 2/2009, pg.99. Brevet de invenție Nr. 128592 /2014: Procedeu de preparare a unui supliment bioactiv de hrană pentru animale, autor unic : Simion Violeta-Elena, publicat în Buletin Oficial de Proprietate Industrială, Secțiunea Invenții, Nr. 7/2013, pg.14

Carti

Nr. 6 - Biodiversity of the farm animals and eco-bioeconomics significances in the food security context, - Coordonator Alexandru T. Bogdan-Second edition, Editura Academiei Române, 2012, Vol.2, ISBN 978-973-27-2261-9 (autor); Nutriția și alimentația animalelor de companie, Violeta-Elena Simion, unic autor, Editura ELISAVAROS (Cod CNCIS 242), București, 2009, 344 p, ISBN 978-973-8400-84-9; Nutriția și alimentația animalelor de fermă, Simion Violeta-Elena, unic autor, Editura Fundației România de Măine, București (Cod CNCIS 171), 2009, 216 p., ISBN 978-973-163-461-6. Cercetări privind contaminarea cu fungi a furajelor și efectele acestora asupra producției și stării de sănătate a vacilor de lapte din exploatațiile familiale (Teză de doctorat), Editura ELISAVAROS (Cod CNCIS 242), București, 2008, 194 p., ISBN 978-973-8400-81-8. Nutriția și alimentația animalelor de fermă - lucrări aplicative, (Violeta-Elena Simion, Veronica Tănăsescu, Tănăsescu B.), prim-autor, Editura Fundației România de Măine (Cod CNCIS 171), București, 2004, 220 p, ISBN 973-582-876-6. Nutriția și controlul sanitar-veterinar al furajelor, (Vișan I., Violeta-Elena Simion, Liliana Stoica), coautor, Editura Fundației România de Măine (Cod CNCIS 171), București, 2002, 224 p, ISBN 973-582-587-2. Broșură „Mâncând sănătos, trăim frumos. Biostrategii pentru ecosanogenază”, 2011.