

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE FRONTERA – SULLANA**



**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL  
GRADO ACADEMICO DE BACHILLER EN  
INGENIERIA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**“NIVELES MÁXIMOS PERMISIBLES DE *BACILLUS  
CEREUS* Y AFLATOXINAS EN ARROZ (*ORYZA SATIVA*)  
PARA CONSUMO HUMANO, PRODUCIDO EN EL VALLE  
DEL CHIRA – SULLANA”**

**Autora:**

**Egresada Yanina Paola Herrera Hidalgo**

**Asesor:**

**M. Sc. Luis Alberto Núñez Alejos**

**Sullana – Perú**

**2021**

## **DEDICATORIA**

**A Dios por protegerme a lo largo de mi vida y encaminarme por el camino del bien**

**A mis padres por ser el pilar más importante demostrando su cariño y apoyo emocional.**

**Sé que este momento es muy emocionante y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir sé que desde el cielo siempre estás dispuesto a escucharme y ayudarme en cualquier momento papá Juan.**

**A mis amigas Treysi, Cris, Romy, Carolay por ser un buen equipo en mi formación académica pese a nuestras diferencias y opiniones me demostraron su apoyo incondicional.**

## **AUTORIDADES DE LA UNF**

**Dr. Raúl Edgardo Natividad Ferrer**

**Presidente de la Comisión organizadora de la UNF**

**Dra. Maritza Revilla Bueloth**

**Vicepresidente Académico de la Comisión Organizadora de la UNF**

**Dr. Freddy Rogger Mejía Coico**

**Vicepresidente de Investigación de la Comisión Organizadora de UNF**

**Dr. Wilson Manuel Castro Silupu**

**Coordinador (e) de la Facultad de Ingeniería de Industrias alimentarias**

**VISTO BUENO DEL ASESOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'A. Pérez', is centered on the page. The signature is written in a cursive style with a long, sweeping underline.

## DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Yo, Yanina Paola Herrera Hidalgo, identificada con DNI 75703878 egresada de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Frontera (UNF).

### Declaro bajo juramento

Que:

1. Soy autor del trabajo de investigación titulado: “NIVELES MÁXIMOS PERMISIBLES DE *BACILLUS CEREUS* Y AFLATOXINAS EN ARROZ (*ORYZA SATIVA*) PARA CONSUMO HUMANO, PRODUCIDO EN EL VALLE DEL CHIRA – SULLANA”
2. El trabajo de investigación no ha sido plagiado ni total ni parcialmente y para su realización se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. El trabajo de investigación presentado no atenta contra los derechos de terceros.
4. El trabajo de investigación presentado no ha sido publicado ni presentado anteriormente para obtener algún grado académico previo o el título profesional.
5. La información presentada es real y no ha sido falsificada, ni duplicada, ni copiada.

Por lo expuesto mediante la presente asumo toda la responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría y originalidad y veracidad del contenido del Trabajo de Investigación, así como los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir todas las cargas pecuniarias que podrían derivarse para la UNF en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontrarán causa el contenido del Trabajo de Investigación.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación que el Trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Sullana, febrero de 2021



## ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. CUERPO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b> .....	2
<b>2.1. LAS BACTERIAS</b> .....	2
<b>2.2. LOS BACILLUS</b> .....	3
<b>2.2.1. Bacillus cereus</b> .....	3
<b>2.2.2. Bacillus cereus en “<i>Oryza sativa</i>”</b> .....	7
<b>2.3. LOS HONGOS</b> .....	10
<b>2.3.1. Los mohos</b> .....	11
<b>2.3.2. Las aflatoxinas</b> .....	12
<b>2.3.3. Aflatoxinas en <i>Oryza sativa</i></b> .....	15
<b>CONCLUSIONES</b> .....	18
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	19

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 2.1. CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS PARA LA DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES DEL GRUPO BACILLUS .....	6
TABLA 2.2. MICOTOXINAS SIGNIFICATIVAS PRODUCIDAS POR ESPECIES DE ASPERGILLUS Y SUS EFECTOS TÓXICOS .....	13
TABLA 2.3. CARACTERÍSTICAS DISTINTIVAS DE A. FLAVUS, A. PARASITICUS Y A. NOMUIS ...	14

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1. TIPOS DE BACTERIAS POR SU FORMA. (A) COCOS; (B) BACILOS; (C) VIBRIOS; (D) ESPIRILLOS; (E) ESPIROQUETAS.....	2
FIGURA 2.2. ASPECTO FÍSICO DE BACILLUS CEREUS .....	4
FIGURA 2.3. BACILLUS CEREUS CULTIVADO EN AGAR MANITOL YEMA DE HUEVO POLIMIXINA (MYP) .....	6
FIGURA 2. 4. PRUEBA POSITIVA A LA PRESENCIA DE BACILLUS CEREUS EN ARROZ MEDIANTE EL TEST DE HEMOLISIS. ....	6
FIGURA 2.5. (A) LEVADURA; (B) MOHO.....	10
FIGURA 2.6. COLONIA CARACTERÍSTICA DE MOHOS.....	12
FIGURA 2.7. ESTRUCTURAS DE AFLATOXINAS B1, B2, G1 Y G2 .....	15



## RESUMEN

*Oryza sativa* es el cereal de mayor consumo en el mercado nacional, produciéndose en valles de la costa y selva peruana; sin embargo, no hay estudios nacionales sobre la presencia de microorganismos patógenos en este producto. Considerando estos aspectos se realizó la presente revisión bibliográfica no experimental y descriptiva de *Bacillus cereus* y aflatoxinas en *Oryza sativa* producido en el valle del Chira – Sullana. Las indagaciones señalan que *Bacillus cereus* causa dos tipos de intoxicaciones, síndrome diarreico y síndrome emético; mientras que, las aflatoxinas son consideradas carcinogénicas que causan daño al hígado; ambas por consumo de este cereal. Los resultados de investigaciones realizadas por investigadores en diferentes lugares del mundo confirman en mayor o menor cantidad la presencia de estos en comparación con las normas internacionales vigentes. Los niveles de *Bacillus cereus* según la normatividad nacional en cereales y derivados son mínimo de  $10^2$  UFC/g y máximo de  $10^3$  UFC/g; mientras que para aflatoxinas según la norma CODEX STAN 193-1995 es un máximo de 10 µg/kg y la Comisión de la UE considera un valor máximo de 2 µg/kg para aflatoxina B1 y 4 µg/kg para aflatoxinas totales. Por lo tanto, es de necesidad pública realizar investigaciones de campo para conocer los niveles de toxinas en *Oryza sativa* por *Bacillus cereus* y aflatoxinas para evitar las consecuencias negativas a la salud debido a su consumo.

**Palabras clave:** *Oryza sativa*, *Bacillus cereus*, Aflatoxinas, *Aspergillus flavor*.

## ABSTRACT

*Oryza sativa* is the most consumed cereal in the national market, produced in valleys of the coast and Peruvian forest; however, there are no national studies on the presence of pathogenic microorganisms in this product. Considering these aspects, the present non-experimental and descriptive bibliographic review of *Bacillus cereus* and aflatoxins in *Oryza sativa* produced in the Chira - Sullana valley. Research indicates that *Bacillus cereus* causes two types of poisoning, diarrhoeal syndrome and emetic syndrome; while aflatoxins are considered carcinogenic that cause liver damage; both by consumption of this cereal. The results of research carried out by many researchers in different parts of the world confirm in varying numbers the presence of these researchers in comparison with existing international standards. The levels of *Bacillus cereus* according to national regulations in cereals and derivatives are a minimum of  $10^2$  UFC/g and a maximum of  $10^3$  UFC/g; while for aflatoxins according to the CODEX STAN 193-1995 standard it is a maximum of 10 µg/kg and the EU Commission considers a maximum value of 2 µg/kg for aflatoxin B1 and 4 µg / kg for total aflatoxins. Therefore, it is of public necessity to carry out field research to know the levels of toxins in *Oryza sativa* by *Bacillus cereus* and aflatoxins to avoid negative consequences to health due to its consumption.

**Keywords:** *Oryza sativa*, *Bacillus cereus*, Aflatoxins, *Aspergillus flavor*.



## I. INTRODUCCIÓN

La presente investigación se desarrolló bajo el enfoque no experimental; el alcance fue descriptivo porque solo se recogió información a partir de trabajos realizadas por otros investigadores sobre su presencia de *Bacillus Cereus* y aflatoxinas en *Oryza sativa*.

El objetivo de la presente investigación fue investigar sobre los niveles máximos de *bacillus cereus*, así como de aflatoxinas en el arroz (*Oryza sativa*) producido en el valle del Chira, Sullana; para poder determinar la calidad en inocuidad del arroz para el consumo humano.

*Oryza sativa* es el cereal de mayor consumo en el país, llegando a un promedio de 54 kg/persona/año, estando por encima del consumo de papa y siendo el más alto de Latinoamérica (Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI, 2018). Es el producto agrícola que más aporta al valor bruto de producción (VBP) de la actividad agrícola, representando el 13,1% del VBP en el año 2018; para el mismo año en el departamento de Piura el arroz en cáscara aportó el 33,3% del VBP agrícola a precios del 2007, concentrando el 14,4% de la producción nacional; la producción fue de 513 515 toneladas métricas, representando un crecimiento del 14,4% con respecto al año anterior y creció en promedio 2,2% desde el año 2007 (MINAGRI, 2019).

Siendo *Oryza sativa* el cereal de mayor consumo en el mercado nacional y no habiendo estudios nacionales sobre la presencia de microorganismos como *Bacillus cereus*, un patógeno de riesgo moderado directo a la salud humana que causa dos tipos de intoxicaciones, síndrome diarreico y síndrome emético; y las Aflatoxinas producidas por mohos toxígenos como *Aspegillus flavus* consideradas carcinogénicas que causan daño al hígado. Estos factores hacen imprescindible la presente investigación, ya que la salud de la población es factor gravitante de la economía familiar y nacional. Por otro lado, el saber de la presencia de estos microorganismos permitiría tomar las medidas de salubridad correspondientes para disminuir o evitar que los cultivos de este cereal se vean infectados y las consecuencias posteriores que se tengan como producto de su consumo.

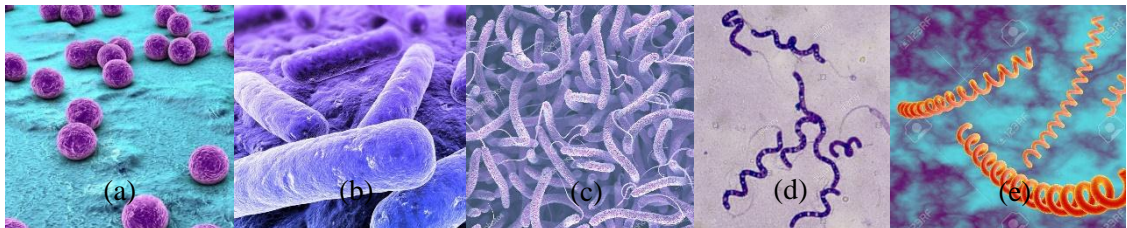
## II. CUERPO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

### 2.1. LAS BACTERIAS

Las bacterias son una de las formas de vida más antiguas sobre el planeta, se estima que aparecieron aproximadamente hace 3500 millones de años y son los seres más diversos y abundantes. Se las considera microorganismos procariontes con un tamaño que varía de 0,5 a 5  $\mu\text{m}$ . y que habitan en cualquier ambiente (terrestre, acuático y aéreo) del planeta (Bertran, 2020). Siendo unicelulares, se reproducen por fisión binaria, siendo una célula única presentan ADN como material genético que no está rodeado de membrana celular, siendo esta la gran diferencia con la célula eucariota; además contienen citoplasma, ribosomas y membrana celular (Pirez, 2002).

Hay distintas formas de clasificar las bacterias, sin embargo, los microbiólogos recomiendan hacerlo de acuerdo a tres aspectos: forma, tipo de pared celular y su metabolismo – necesidad de oxígeno – (Madigan *et al.*, 2015).

Por la forma pueden ser: a) cocos, bacterias que tienen forma esférica u oval como *Streptococcus* y *Staphylococcus*; b) bacilos, tienen forma de cilindro o bastón como *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum*, etc.; c) vibrios, tienen forma ligeramente curvada parecido a una coma como el *Vibrio cholerae*; d) espirilos, presentan forma de tirabuzón como *Spirillum volutans* y e) espiroquetas, de forma helicoidal como la *Treponema* (Bertran, 2020). En la Figura 2.1 se muestra la clasificación por su forma.



Fuente: Madigan *et al.*, (2015)

Figura 2.1. Tipos de bacterias por su forma. (a) cocos; (b) bacilos; (c) vibrios; (d) espirilos; (e) espiroquetas

Según su pared celular las bacterias se clasifican en: 1) Gram positivas, aquellas que al aplicarles una tinción toman un color morado o azul oscuro, como *Bacillus cereus* y *Bacillus anthracis*; 2) Gram negativas, aquellas que al aplicarles una tinción toman un color rosa a rojo, tenemos: *Campylobacter*, *Carnobacterium*, etc. (Jay *et al.*, 2009).

Por su metabolismo las bacterias se clasifican en: 1) aerobias, cuando necesitan oxígeno para vivir, caso de *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, etc.; 2) anaerobias, no necesitan oxígeno para vivir, caso de *Clostridium*, *Micrococcus*, etc. y 3) facultativas, aquellas que pueden vivir con o sin oxígeno, como *Escherichia coli*, *Salmonella*, etc. (Jay *et al.*, 2009)

## **2.2. LOS BACILLUS**

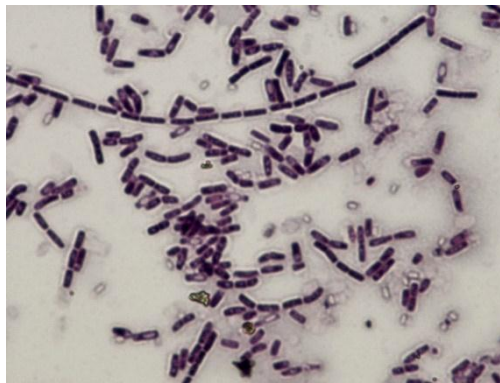
Este género presenta aproximadamente unas 40 especies que tienen un gran número de flagelos en torno al cuerpo, son refringentes y pueden soportan altas temperaturas debido a la gruesa cubierta que los recubre, sobreviviendo a la ebullición hasta 20 minutos. Se encuentran en el agua, suelo y materia orgánica en descomposición; siendo sus condiciones de sobrevivencia a temperaturas entre -5 °C (psicrófilos) hasta 120 °C (hipertermófilos) y valores de pH entre 3 y >9, siendo el óptimo entre 6 y 8,5 (Mossel *et al.*, 2003)

Según Monteville y Mathews (2009), las bacterias del genero *bacillus* son esporas gram positivos, aerobios estrictos y en forma de cilindro o bastón alargado. El género contiene solo dos especies patogénicas: *Bacillus anthracis* que es el causante del ántrax y *Bacillus cereus* que produce dos toxinas que podrían contaminar los alimentos, una emética que produce vómitos y otra que produce diarrea.

### **2.2.1. Bacillus cereus**

Es un bacilo anaerobio facultativo formador de esporas, se encuentra habitualmente en el agua, suelo y polvo ambiental. Crece a temperaturas que oscilan entre 4 a 5°C como mínimo y de 48 a 50°C como máximo; desarrollándose en un rango de pH de

4,9 a 9,3, siendo el óptimo entre 6 y 7 (Jayet *al*, 2009). Según la administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica – ANMAT (2013), la temperatura optima de desarrollo está entre 30 a 40 °C y el pH óptimo de desarrollo entre 6,0 y 7,0. Este microorganismo gram positivo y móvil por la presencia de flagelos soporta concentraciones salinas de cloruro de sodio (NaCl) hasta del 7% (Sánchez, Correa y Castañeda, 2016). Se evita su germinación y crecimiento a  $a_w$  menores a 0,93; mientras que sus exigencias nutricionales son simples, por lo que se encuentra asociado a alimentos ricos en almidón como el arroz, papas, pastas, etc. (Monteville y Mathews, 2009). En la figura 2.2 se observa el aspecto físico de este microorganismo, presenta forma de bastón alargado con flagelos; mide de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de largo por 1 a 1,2  $\mu\text{m}$  de diámetro.



Fuente: Baggini (2014)

Figura 2.2. Aspecto físico de *bacillus cereus*

Según I.C.M.S.F. (1998), es considerado un patógeno de riesgo moderado directo, no se trasmite de persona a persona, pero si por alimentos donde es muy frecuente, aunque en cantidades menores, siendo no seguro el consumo de alimentos con más de  $10^4$  UFC/g.

Segun la fuente anterior, es un bacilo que por la toxina que produce causa dos tipos de intoxicaciones, síndrome diarreico y síndrome emético. El síndrome emético es producido por la toxina cereulida, resistente a valores de pH entre 2 y 11 y al calor (no se destruye a 121 °C por 90 minutos). Los síntomas se presentan entre 1 y 5

horas después de ingeridos los alimentos, durando el malestar entre 6 a 24 horas. Los síntomas son náuseas y vómitos. El síndrome diarreico se debe a la multiplicación de las esporas de la bacteria en el intestino que producen enterotoxinas; aparecen los síntomas de 6 a 8 horas después de ingeridos los alimentos y duran los malestares entre 12 a 24 horas; normalmente se produce por alimentos mal refrigerados y los síntomas son dolor abdominal y diarrea.

*Bacillus cereus* se puede presentar con diferentes grados de toxicidad según la cepa; siendo los alimentos más propensos harinas, arroz y derivados, leche, quesos, carnes, pescados, y verduras. Son los alimentos con alto contenido de almidón donde más se encuentra debido a que este microorganismo produce enzimas del tipo amilasas que le permiten hidrolizar el almidón y utilizarlo como fuente de carbono para su desarrollo (Sánchez *et al.*, 2016).

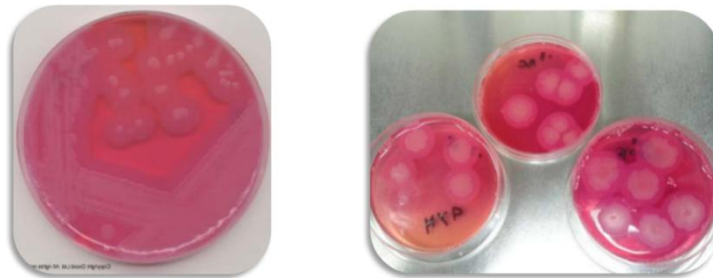
Según la Norma Técnica Sanitaria – NTS – 071 – MINSA/DIGESA-V1. (2007), que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, en cereales y derivados señala un mínimo de  $10^2$  UFC/g y máximo de  $10^3$  UFC/g; siendo muchos los alimentos en los que se exige su búsqueda estando entre ellos las harinas y sémolas de arroz y maíz, productos deshidratados, productos de panadería, féculas y almidones, pastas, productos instantáneos extruidos o expandidos, hojuelas a base de granos, etc.

Según Sánchez *et al.*(2016), *Bacillus cereus* junto con *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pseudomycooides*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus weihenstephanensis* y *Bacillus mycooides*, pertenecen al grupo *Bacillus*; cuando alguno de ellos es aislado, pero no totalmente identificado se le denomina *Bacillus cereus* “sensu lato”; sin embargo, se pueden identificar por pruebas fenotípicas como la actividad hemolítica, movilidad, reducción de nitratos, etc. como se indica en tabla 2.1; en que se observa los casos en que *Bacillus cereus* es positiva.



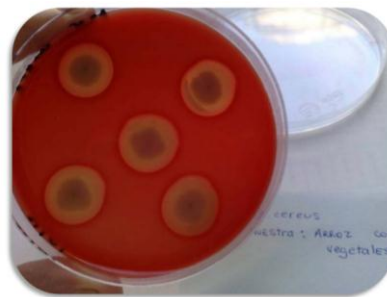
Para su cuantificación en alimentos de consumo humano se puede aplicar la norma ISO 7932:2004 (Recuento de *Bacillus cereus* en muestras de alimentos – Técnica de recuento en placa), mediante la cual se hace un recuento en placa a 30°C. Inicialmente se preparan las muestras, se preparan las soluciones y se realizan la inoculación a concentraciones cada vez más diluidas. La incubación se lleva a cabo a  $30 \pm 0,5$  °C por un tiempo de 18 a 48 horas. Luego se seleccionan las placas con menos de 150 colonias características y presuntas *Bacillus cereus*. Luego se toman al menos 5 placas para confirmación, se siembran e incuban en agar sangre de oveja (test de hemolisis) a 30 °C por  $18 \pm 2$  hr. Finalmente se hace el conteo correspondiente.

En la figura 2.3 se observa colonias típicas de *Bacillus cereus* color rosa rodeadas de precipitado; mientras que en la figura 2.4 se muestran reacción positiva para *Bacillus cereus* en *Oryza sativa* según el test de hemolisis.



Fuente: ANMAT (2013)

Figura 2.3. *Bacillus cereus* cultivado en agar manitol yema de huevo polimixina (MYP)



Fuente: ANMAT (2013)

Figura 2.4. Prueba positiva a la presencia de *Bacillus cereus* en arroz mediante el test de hemolisis

Tabla 2.1. Características fenotípicas para la diferenciación de especies del grupo *Bacillus*.

Característica	<i>Bacillus</i>							
	<i>anthracis</i>	<i>cereus</i>	<i>megaterium</i>	<i>mycoides</i>	<i>pseudodomycoides</i>	<i>subtilus</i>	<i>thuringiensis</i>	<i>weihenstephanensis</i>
Actividad lecitinasa	+	+	-	+	+	-	+	+
Catalasa	+	+	+	+	ND	+	+	+
Crecimiento rizoide	-	-	ND	+	ND	+/-	-	ND
Cristal parasporal	-	-	-	-	-	-	+	-
Hemólisis	-	+	-	+	ND	-	+	ND
Hidrólisis de urea	-	+/-	+/-	+/-	+	-	+	-
Manitol	-	-	+	-	-	+	-	-
Movilidad	-	+	+/-	-	-	+/-	+	+
Presencia de genes enteróxicos	+	+	-	+	+	-	+	+
Presencia de plásmido emético	-	+	-	-	-	-	-	+/-
Reducción de nitratos	+	+	-	+	ND	+	+	+
Sensibilidad a penicilina	+	-	-	-	ND	+	-	ND

Fuente: Adaptado de Sánchez, et al (2016)

(+) Presencia; (-) Ausencia; (±) Variable; (ND) No Definido.

También se puede hacer uso de la norma ISO 21871:2006, que utiliza la técnica del número más probable (NMP) que es un método horizontal para la determinación de números bajos de presuntos *Bacillus cereus* viable en alimentos. Se preparan las muestras y se inoculan 10 ml. en tres tubos con la solución inicial con medio caldo triptona soja polimixina (TSPB) doble concentración e inocular 1 ml. de la misma solución inicial y diluciones sucesivas en tres tubos con medio TSPB simple concentración por  $48 \pm 4$  h a temperatura de 30 °C; pasado ese tiempo se aíslan en Agar PEMBA a 37 °C por 18 h a 24 h más 24 h adicionales si es necesario o en Agar MYP a 30 °C. 18 h por 24 h más 24 h adicionales si es necesario si las colonias no se observarse bien. Se hace la selección típica de *Bacillus cereus* considerando que en agar PEMBA tienen un borde irregular entre rugoso y radicular, con aspecto brillante en la superficie, de color turquesa a azul y miden aproximadamente de 2 mm a 5 mm. Luego, se hace la confirmación por el test de hemólisis en agar sangre de oveja a 30 °C por 24 h, cada colonia rodeada de una zona clara se considera positiva a *Bacillus cereus*. Finalmente se hace el conteo siguiendo la técnica del NMP.

### **2.2.2. *Bacillus cereus* en *Oryza sativa***

Son muchos los alimentos en los que se ha detectado y reportado en el mundo oriental y occidental intoxicaciones por *Bacillus cereus* y son múltiples los alimentos en los que se ha encontrado, desde cereales cocidos como arroz hasta productos lácteos, cárnicos, pescados, etc. en el caso particular de arroz que es uno de los productos de mayor consumo en el mundo y particularmente en el Perú algunas de estas investigaciones son:

Pérez *et al.* (2011), en una investigación no experimental buscaron determinar la presencia de *bacillus cereus* en arroz cascara y arroz cocido a las 3 y 8 horas después de cocinado. Para ello inicialmente tomaron muestras de arroz cáscara, las pusieron en caldo nutriente y las incubaron a 35°C por 18 horas; asimismo tomaron muestras de arroz cocido a 3 y 8 horas después de cocinado, las colocaron en caldo

nutriente, las agitaron, reposaron y tomaron como soluciones madre que después incubaron a diferentes concentraciones. La identificación de *Bacillus cereus* la realizaron mediante protocolo de Kramer y col. La confirmación de bacterias la realizaron con varios métodos, entre ellos la tinción Gram. Utilizaron la bacteria *Bacillus cereus* ATCC 11778 como cepa control. Encontraron que el arroz cáscara está contaminado, coincidiendo con lo propuesto por otros investigadores; además, que esto sucede por las condiciones particulares en que se cultiva. Mencionan que se pueden encontrar hasta  $2,5 \times 10^3$  unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de esta bacteria; disminuyendo estas hasta  $2,5 \times 10^1$  UFC/g cuando es descascarado, siendo este uno de los medios para que se encuentre en el arroz cocido. En el arroz cocido y después de 24 horas de incubación observaron promedios entre  $2,6$  y  $2,3 \times 10^6$  UFC/g a las 3 y 8 horas de cocinado y sin afección a sus características organolépticas, coincidiendo con otros investigadores. Concluyeron que se evidencio el riesgo potencial que existe de consumir arroz cocido después de las 3 o más horas de preparado en condiciones climáticas tropicales (temperatura entre 28 y 33°C).

Yibby *et al.* (2018), realizaron un estudio descriptivo y transversal, con el objetivo de estudiar la presencia de *Bacillus cereus* en arroz y alimentos a base de cereales, harinas o féculas listos para consumo en restaurantes escolares de departamentos de Colombia. Reseñan que la gran morbilidad y mortalidad son producto de enfermedades transmitidas por alimentos contaminados que al ser ingeridos se pueden multiplicar y producir toxinas que causan los problemas de salud. Son los alimentos crudos de origen vegetal como cereales, especialmente arroz, la mayor fuente de *Bacillus cereus*. Para seleccionar la muestra aplicaron un diseño probabilístico de dos etapas y los profesionales que recogieron las muestras fueron previamente capacitados en una metodología estándar. Antes de la toma de muestras realizaron una encuesta a los restaurantes seleccionados para conocer como manejaban la logística de ingreso y buenas prácticas de salubridad de las materias primas que compran, encontrando que 89,2% las realizaban antes de su almacenamiento, sin embargo 78,2% los almacenaban fuera del mismo. Las 479

muestras (301 de arroz y 178 alimentos a base de cereal) se recolectaron a la hora del almuerzo en envase estéril que se codificó y llevó a la brevedad a temperatura de 4 °C a 8 °C para su envío al laboratorio en un tiempo de hasta 36 horas como máximo. La identificación se realizó por el método de recuento en placa. Encontraron que el 9% del total de muestras contenían la bacteria y que en el 91% de estas estaba la toxina diarreaica. Concluyeron que la adecuada relación tiempo/temperatura y manipulación de los alimentos son esenciales para garantizar la eliminación de la bacteria; que factores como el enfriamiento prolongado, recalentamiento posterior, manipulación inadecuada y materias primas contaminadas serían la fuente de contaminación.

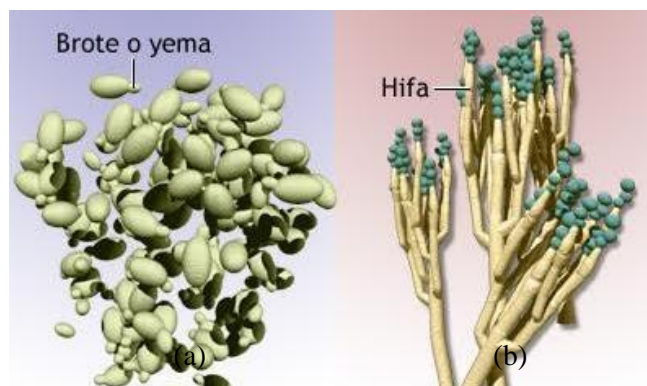
Coto *et al.* (2012), en una investigación descriptiva y transversal para evaluar la calidad bacteriológica y detección de *Bacillus cereus* en arroz blanco cocido tomaron 50 muestras en el área metropolitana de San José de Costa Rica que rápidamente fueron enfriadas y en tiempo menor a 24 horas sometidas a análisis mediante el uso de la técnica del NMP. Asimismo, realizaron la detección de sus genes toxígenos (*nheA*, *nheB* y *nheC*). Reportan que 10% de las muestras, es decir 5 fueron positivas para la bacteria y de estas 8% (4 muestras) positivas para sus toxígenos. Consideran que entre  $10^5 - 10^8$  UFC/g de alimento consumido es la dosis infectiva. Los valores encontrados estuvieron en el rango de  $>3$  NMP/g a 240 NMP/g, siendo estos valores bajos con respecto a las dosis consideradas infectivas y que por tanto no representan un riesgo relativo para la salud. Considerando las condiciones inadecuadas de almacenamiento del arroz cocido en los lugares muestreados y el hecho de que 80% de estas muestras dieron positivo a toxígenos, consideran que el consumo de arroz blanco cocido en lugares públicos representa un riesgo para la salud pública de los consumidores.

Tejada-Trujillo *et al.* (2013), en una investigación descriptiva y transversal para determinar la calidad sanitaria de arroz cocido en establecimientos de la ciudad de Puebla, México; tomaron 50 muestras en diferentes establecimientos como hogares, restaurantes, supermercados para evaluar la presencia de *Bacillus cereus*. Las

muestras de aproximadamente 80 g recolectadas en frascos estériles por personal de la subdirección de regulación sanitaria de la secretaria de salud fueron rápidamente refrigeradas a 4 °C – 8 °C y analizadas en un tiempo < 2 horas después de su recolección. El recuento se realizó sobre agar MYP por la técnica de extensión en superficie y las placas incubadas a 30 °C. Encontraron la presencia de *Bacillus cereus* en el 10% de muestras con cantidades menores a los valores de riesgo para la salud.

### 2.3. LOS HONGOS

Son microorganismos vegetales desprovistos de clorofila que se agrupan en el reino fungí, además son eucariotas. Viven en lugares húmedos, en ausencia de luz y donde hay abundante materia orgánica en descomposición. Generalmente se reproducen asexualmente, aunque hay algunos que lo hacen sexualmente. Pueden ser unicelulares o pluricelulares, además ser heterotróficos y osmotróficos. Cuando el hongo es filamentoso se llama moho y cuando es una célula aislada se llama levadura (ver figuras 2.5 a y b). Por su modo de vida se subdividen en: a) **saprofitos** (se alimentan de sustancias en descomposición), b) **parásitos** (se alimentan de líquidos internos de otros seres vivos) y c) **simbióticos** (se asocian con otros microorganismos para beneficiarse mutuamente).



Fuente: Medline plus (2019)

Figura 2.5. (a) Levadura; (b) moho

Teniendo en cuenta la temperatura a la cual pueden crecer se clasifican en: a) **psicrófilos**, cuando pueden vivir a temperatura de 0 °C; b) **mesófilos**, crecen a temperaturas entre 25 °C a 40 °C y c) **termófilos**, aquellos que se desarrollan por encima de los 45 °C y 50 °C Estrada y Ramírez, 2019).

### 2.3.1. Los mohos

Los mohos son microorganismos eucariotas que carecen de clorofila por lo que necesitan de un sustrato que contenga la materia orgánica para desarrollarse. La mayoría de mohos se desarrollan a valores de  $a_w > 0,70$ , siendo raros los que lo hagan a valores menores. Ha humedad  $< 13\%$  su crecimiento es mínimo, pero por encima de 13% su desarrollo se acelera cuando aumenta la humedad. La temperatura adecuada para desarrollarse esta entre 25 °C y 30 °C; sin embargo, el rango de temperatura puede ir desde 0 °C (*Penicillium cyclopium* y el *Penicillium expansum*) hasta los 55 °C (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus* y *Aspergillus fumigatus*). Toleran valores de pH desde 2,5 hasta 7,5, tolerando mejor el medio ácido (Gimeno, 2002).

Dentro de los mohos de mayor interés en los alimentos se tiene: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Byssochlamys*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Monilia*, *Geotrichum*, *Gleosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Sporotrichum*, *Trichotecium*, *Wallemia*, *Xeromyces* (Jay, et al – 2009). En la figura 2.6 se tiene una colonia característica de mohos.



Fuente: Salud180 (s/f)

Figura 2.6. Colonia característica de mohos

*Aspergillus* es un género importante en alimentos, donde se halla como mohos deteriorantes. En este género hay más de 100 especies reconocidas de las cuales cerca de 50 pueden producir metabolitos tóxicos (Tabla 2.2). Son muy comunes en materias primas almacenadas, como los granos, especias y frutos secos. Muy frecuentes en climas tropicales (Montville y Matthews, 2009). Según la misma fuente, los mohos aflotoxigenos (*A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*) están muy relacionados y presentan muchas similitudes, en la tabla 2.3 se presentan las características distintivas de estos.

### 2.3.2. Las aflatoxinas

Son las micotoxinas más estudiadas. Se consideran sustancias tóxicas producidas por algunas clases de mohos (hongos), principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. que pueden contaminar los cultivos de alimentos (Jay, et al – 2009)

Según Castro y Ahumada de fundación Chile. (s/f), existen más de 14 tipos de aflatoxinas naturales, siendo la B1, B2, G1 y G2 las más peligrosas para los humanos dado que se han reportado en casi todos los alimentos. Químicamente estas responden a los siguientes arreglos:



- a) Aflatoxina B1: 2, 3, 6a  $\alpha$ , 9a  $\alpha$ -TETRAHIDRO-4-METOXICICLOPENTA [C] FURO [3', 2': 4,5] FURO [2,3-h] [1] BENZO-PIRANO-1,11-DIONA; de fórmula molecular =  $C_{17}H_{12}O_6$ ; masa molecular = 312,0633 g/mol-g y punto de fusión = 268 °C a 269 °C.
- b) Aflatoxina B2: 2, 3, 6a, 8, 9, 9a  $\alpha$ -HEXADIHIDRO-4-METOXICICLOPENTA [C] FURO [3',2': 4,5] FURO [2,3-h] [1] BENZO-PIRANO-1,11-DIONA; donde el compuesto 8,9-DIHIDRO es un derivado de las Aflatoxina B1; con fórmula molecular =  $C_{17}H_{14}O_6$ ; masa molecular = 314,0790 g/mol-g y punto de fusión = 286 °C a 289 °C.

Tabla 2.2. Micotoxinas significativas producidas por especies de *Aspergillus* y sus efectos tóxicos.

<b>Micotoxina(s)</b>	<b>Toxicidad</b>	<b>Especies</b>
Aflatoxinas B1 y B2	Daño agudo al hígado, cirrosis, carcinogénicas (hígado), teratogénicas, inmunodepresoras.	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
Aflatoxinas G1 y G2	Efectos similares a las aflatoxinas B; la toxicidad de G1 es inferior a la de B1, pero superior a la de B2	<i>a. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>
Ácido ciclopiazónico	Degeneración y necrosis de varios órganos, tremógeno, baja toxicidad oral	<i>A. flavus</i> , <i>A. tamarii</i>
Ocratoxina A	Necrosis renal (especialmente en cerdos), teratogénica, inmunodepresora, probablemente carcinogénica	<i>A. ochraceus</i> y especies relacionadas, <i>A. carbonarius</i> , <i>A. niger</i> (ocasionalmente)
Esterigmatocistina	Daño agudo al hígado y riñón, carcinogénico (hígado)	<i>A. versicolor</i> , <i>Emericella spp.</i>
Fumitremorgina	Tremógeno (en ratas y ratones)	<i>A. fumigatus</i>
Teritrens	Tremógeno (en ratas y ratones)	<i>A. terreus</i>
Triptoquivalinas	Tremógeno	<i>A. clavatus</i>
Citocalasinas	citotóxica	<i>A. clavatus</i>
Equinulinas	Rechazo del alimento (cerdos)	<i>Eurotium chevalieri</i> , <i>Eurotium amstelodami</i>

Fuente: Montville y Matthews (2009)

- c) Aflatoxina G1: 3, 4, 7a, 10a-TETRAHIDRO-5-METOXI-1H, 12H-FURO-[3',2': 4,5] FURO [2,3-h]-PIRANO [3,4c] [1]-BENZOPIRANO-1,12-DIONA. Con formula molecular global = C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>; masa molecular = 328,0582 g/mol-g y punto de fusión = 244 °C a 246 °C.
- d) Aflatoxina G2: 3, 4, 7a, 9, 10, 10a α-HEXAHIDRO-5-METOXI-1H, 12H-FURO [3',2': 4,5] FURO [2,3-h]-PIRANO-[3,4c] [1]-BENZOPIRANO-1,12-DIONA. donde el compuesto 9,10-DIHIDRO es un derivado de G1. De formula molecular = C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>; masa molecular = 330,0739 g/mol-g y punto de fusión = 237 °C a 240 °C.

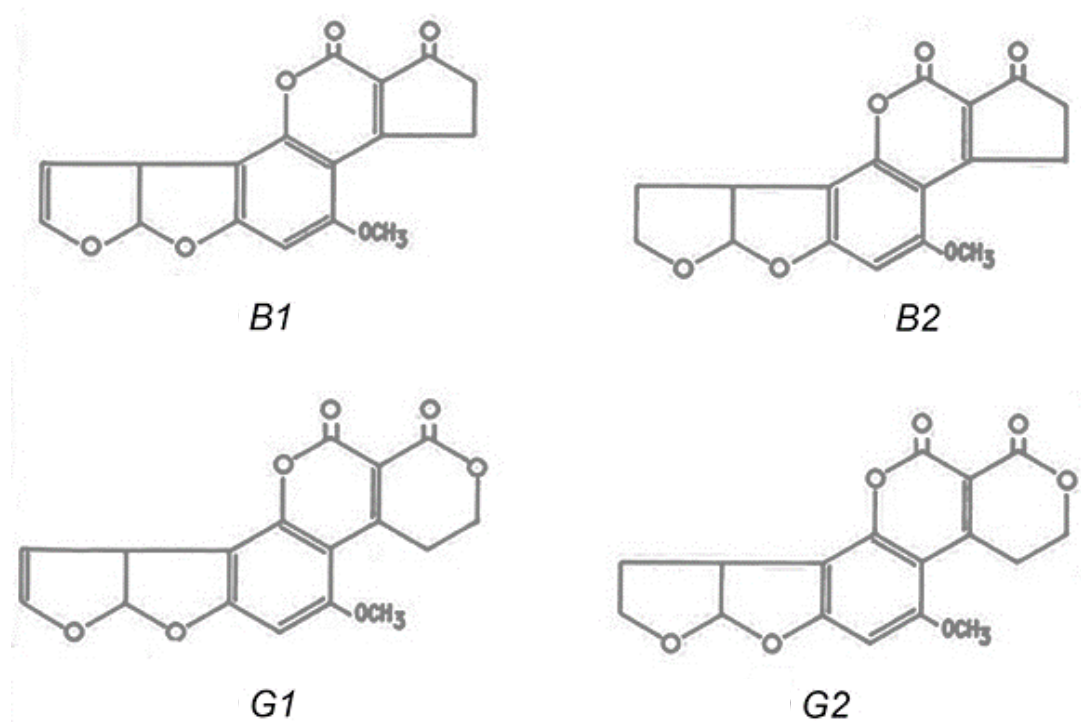
Tabla 2.3. Características distintivas de *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*.

Especie	Conidios	Esclerocio	Toxinas
<i>A. flavus</i>	De lisos a moderadamente rugosos, variación en el tamaño.	Grandes globosos	Aflatoxinas B1 y B2, ácido ciclopiazonico
<i>A. parasiticus</i>	Notablemente rugosos, escasa variación en el tamaño.	Grandes globosos	Aflatoxinas B y G
<i>A. nomius</i>	Similares a los conidios de <i>A. flavus</i> (en forma de bala).	Pequeños alargados	Aflatoxinas B y G

Fuente: Montville y Matthews (2009)

Todas tienen aspecto cristalino; presentan baja solubilidad en agua, entre 10 a 30 µg/mL; solubles en solventes orgánicos; termo resistentes; estables a pH entre 3 y 10; puras son inestables a la luz y al aire; y dispuestas a la hidrolisis alcalina. En la figura 2.7 se presenta la estructura de estas aflatoxinas.

Por su toxicidad se considera a AFB1 la más toxica de todas, en la salud humana se ha relacionado con el carcinoma hepato-celular; le sigue la AFG1 > AFB2 > AFG2. Son inmunodepresoras lo que podría incrementar el riesgo a contraer enfermedades (Montville y Matthews, 2009)



Fuente: Jay *et al.* (2009)

Figura 2.7. Estructuras de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2

### 2.3.3. Aflatoxinas en *Oryza sativa*

La infestación de alimentos con aflatoxinas tiene lugar en muchos casos durante la cosecha y no durante el almacenamiento; siendo los cultivos en países tropicales los más propensos a tenerlas por las condiciones climáticas de temperatura y humedad de estos ambientes. *Aspergellius flavus* crece en cereales como el arroz, siendo esta el desencadenante para la producción de aflatoxinas.

El arroz es el cereal más consumido en nuestro país y según Londoño-Cifuentes y Martínez-Miranda (2017), este producto es el cereal más cultivado y consumido en el mundo en una investigación descriptiva a partir de una búsqueda bibliográfica donde muestran la ocurrencia de estas toxinas en algunos alimentos y su relación con el carcinoma hepatocelular. Reportan que en diferentes estudios realizados en distintos países del mundo se observa la presencia de aflatoxinas en arroz; estudios realizados en Vietnam hallaron la presencia de la AFB1 en 51% de las muestras analizadas con un promedio de 3,3 µg/kg, siendo la época de lluvia donde más se afectaba el producto. En estudios realizados en Pakistán reportan valores promedio de 8,23 µg/kg para AFB1 y 19,54 µg/kg para AFB2; mientras que estudios realizados en Colombia reportan un valor promedio de 7,1 µg/kg de aflatoxinas totales en el 10% de las muestras analizadas entre otros estudios mencionados en otros países. Consideran que los distintos valores dependen del manejo durante la cosecha y poscosecha, así como de la zona climática. Finalmente señalan que el arroz a pesar de ser consumido cocido puede mantener los niveles de Aflatoxina debido a que estas poseen alta resistencia al calor; que las operaciones de descascarillado y tratamientos térmicos, la extrusión, etc. podrían reducir la concentración en porcentajes superiores al 70%.

Mejía *et al.* (2014), en una investigación descriptiva y transversal en mercados de la ciudad de Trujillo, determinaron la presencia de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano. Tomaron 47 muestras de avena (16 muestras), harina de trigo (15 muestras) y harina de maíz (16 muestras) en diferentes mercados. Recogidas las muestras se trataron mediante el método inmunoenzimático de RIDASCREEN®FAST Aflatoxin Total. Encontraron ausencia de aflatoxinas en las muestras de harina de trigo y avena; mientras que dos muestras (12,5%) de las de harina de maíz resultaron positivas con valores de 1,0 µg/kg y 1,2 µg/kg. Los valores encontrados están dentro del rango que sugieren las normas de la Unión europea (20 µg/kg) y Codex Alimentarius (10 ppb).

Aparecida *et al.* (2010), estudiaron la incidencia de hongos toxígenos y aflatoxinas en el arroz comercializado en el estado de Belo Horizonte y algunas ciudades al sur del mismo. La investigación fue descriptiva y transversal. Recogieron 60 muestras divididas en cuatro grupos: pulido (48 muestras), sancochado (3 muestras), integral (7 muestras) y orgánico (2 muestras). Las muestras fueron analizadas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados mostraron que solo una muestra presentaba la aflatoxina AFB1 por lo que se estima que las especies aflotoxigénicas no tuvieron condiciones adecuadas para su desarrollo. Concluyen que siendo un resultado bajo, pero no por eso había que dejar de monitorear su presencia.

Con respecto a los niveles de aflatoxinas en *oryza sativa* la NORMA TÉCNICA SANITARIA – NTS (2007), no presenta datos; sin embargo, recomienda tomar como referencia el Codex alimentarius u otra legislación internacional confiable; según la norma CODEX STAN 193 (1995), señala un máximo de 10 µg/kg; mientras que según la Comisión de la UE considera un valor máximo de 2 µg/kg para aflatoxina B1 y 4 µg/kg para aflatoxinas totales (Reglamento CE 1881, 2006).

## CONCLUSIONES

- Las toxinas producidas por *Bacillus cereus* y aflatoxinas producidas por hongos del genero *Aspergillus* son causa de enfermedades en la salud humana por consumo de *Oryza sativa* contaminado.
- Estudios realizados en países encontraron la presencia de *Bacillus cereus* y aflatoxinas en *Oryza sativa* para consumo humano por lo que se hace necesario evaluar su presencia en el cereal de producción nacional.
- Los niveles máximos de *Bacillus cereus* son en cereales y derivados como máximo desde  $10^2$  UFC/g hasta  $10^3$  UFC/g (NTS, 2007)
- Los niveles máximos de aflatoxinas son como máximo 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para aflatoxina B1 y 4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para aflatoxinas totales (Comisión de la UE) y hasta un valor máximo de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (CODEX STAN 193, 1995).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica – ANMAT (2013) *Análisis microbiológico de los alimentos – microorganismos patógenos*. Argentina
- Aparecida, R., Batista, L., Prado, G., Resende, B. & Maria, D. (2010) *Incidência de fungos toxigênicos e aflatoxinas em arroz*. Ciencia Agrotec., Lavras, vol.34 no.4 p. 946-952, julio / agosto.
- Baggini, S. (2014). *Seguridad alimentaria, bromatología y microbiología de los alimentos - Bacillus cereus*. Recuperado de <https://bagginis.blogspot.com/2014/05/bacillus-cereus.html>
- Bertran, P. (2020) *Los diferentes tipos de bacterias y sus características*. Recuperado de <https://medicoplus.com/autores/pol-bertran-prieto>
- CODEX STAN 193 (1995) *Norma general del Codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos*. Recuperado de [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/livestockgov/documents/CXS\\_193s.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/livestockgov/documents/CXS_193s.pdf)
- Castro, E. & Ahumada, F. (s/f) *Micotoxinas – rol e importancia en nutrición acuícola*. Recuperado de <http://www.fao.org/3/ab482s/AB482S13.htm>
- Cortez, A., Díaz, M. & Salgado, M. (2017) *Bacillus cereus: alimentos, salud y biotecnología*. Revista Agroproductividad, vol. 10, N° 10, pp 3-9.
- Coto, R., Chaves, C., Gamboa M. & Arias M. (2012) *Calidad bacteriológica y detección de Bacillus cereus toxigênicos en arroz blanco cocido expendido en el para metropolitana de la provincia de San José, Costa Rica*. Archivos latinoamericanos de nutrición, vol 62, N° 3:283-289.
- Estrada, G. & Ramírez, M. (2019) *Micología general*. Centro Editorial Universidad Católica de Manizales.
- Gimeno, A. (2002) *Los Hongos y las Micotoxinas en la Alimentación Animal; Conceptos, Problemas, Control y Recomendaciones*. Recuperado de [www.mycotoxin.com](http://www.mycotoxin.com)



- I.C.M.S.F. (1998) *Microorganismos de los alimentos 5. Características de los microorganismos patógenos*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- International Standard ISO 7932. (2004) *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of presumptive Bacillus cereus. Colony - count technique at 30°C*. Third edition.
- International Standard ISO 21871. (2006) *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the determination of low numbers of presumptive Bacillus cereus. Most probable number technique and detection method*.
- Jay, J. Loessner, M. & Golden, D. (2009) *Microbiología moderna de los alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Londoño-Cifuentes, E. & Martínez-Miranda, M. (2017) *Aflatoxinas en alimentos y exposición dietaria como factor de riesgo para el carcinoma hepatocelular*. Revista Biosalud. Volumen 16 (1), pp 53-66.
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. & Stahl, D. (2015) *Biología de los microorganismos*. Editorial Pearson. Madrid, España
- MEDLINE PLUS. (2019) *Levaduras y mohos*. Recuperado de [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/19348.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19348.htm)
- Mejía, N., Alvarado, P. & Vásquez, N. (2014) *Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en mercados de Trujillo (Perú)*. REVIOLEST 2014; 2(2): e30.
- Ministerio de Agricultura y Riego – MINAGRI. (2019). *Plan Nacional de Cultivos: Campaña agrícola 2019-2020*. Aprobado por R.M. N°0414-2019-MINAGRI.
- Montville, T. & Matthews, K. (2009) *Microbiología de los alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Mossel, D., Moreno, B. & Struij, C. (2003) *Microbiología de los alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza, España
- Norma Técnica Sanitaria – NTS. (2007) *Norma que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano en el país*. MINSA/DIGESA. Perú.

- Pérez, I., Orberá, T. & Tamayo, J. (2011) *Aislamiento e identificación de Bacillus cereus a partir de dos variantes de arroz comercial (Oryza sativa)*. Revista CENIT Ciencias Biológicas, vol 42, N° 3, pp 139-144.
- Pirez, M. (2002) *Morfología y estructura bacteriana*. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%209.pdf>
- Reglamento CE 1831 (2003) *Reglamento de 18 de diciembre de 2003 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios*. Diario Oficial de la Unión Europea. Recuperado de <https://www.boe.es/doue/2003/364/L00005-00024.pdf>
- SALUD 180. (s/f) *¿Qué pasa si como algo con moho?* Recuperado de <https://www.salud180.com/salud-a-z/que-pasa-si-como-algo-con-moho>.
- Sánchez, J., Correa, M. & Castañeda-Sandoval, L. (2016) *Bacillus cereus un patógeno importante en el control microbiológico de los alimentos*. Rev. Fac. Nac. Salud Pública 34(2), pp 230-242.
- Tejeda-Trujillo, F., Villagrán-Padilla, C., León-Tello, G. & Tejeda-Hernández, M. (2013) *Investigación de Bacillus cereus y calidad sanitaria de muestras de arroz cocido recolectadas en diferentes establecimientos de la ciudad de Puebla, México*. Ciencia UAT, 8(1), pp 48-51.
- Yibby, A., Galindo, M. & Morales, G. (2018) *Aislamiento de Bacillus cereus en restaurantes escolares de Colombia*. Biomédica 38:338-44.