

Recepción: 15 de mayo de 2014

Aceptación: 21 de julio de 2014

Publicación: 02 de septiembre de 2014

NUEVAS TECNOLOGÍAS EN EL CONTROL DE LA SEGURIDAD ALIMENTARIA

NEW TECHNOLOGIES IN THE CONTROL OF FOOD SECURITY

Francisco Javier Peña Ojeda¹

1. Licenciado en Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos - Experto en Biotecnología Alimentaria – Centro de Instrumentación Científico Técnica Universidad de Jaén. España. E-mail: fjpena@ujaen.es

RESUMEN

La ciencia y la tecnología están contribuyendo en la seguridad alimentaria mundial, proporcionando soluciones prácticas y útiles. Asegurar que esta contribución siga igual en las siguientes décadas, requiere que se compatibilicen la investigación con las aplicaciones actuales para poder desplegarlo en el mundo real. En este artículo describiremos las nuevas técnicas genéticas y moleculares en el control de la seguridad alimentaria y cómo se posicionan ante nuevos retos futuros como son los seres vivos transgénicos y clonados en la alimentación. El desarrollo e implantación de métodos y tecnologías necesitará que se compatibilicen distintas ramas de la ciencia como la biotecnología, la ingeniería y la nanotecnología para abarcar estos problemas.

ABSTRACT

Science and technology are contributing to global food security, providing practical and useful solutions. Securing this contribution follow in the decades just requires research to be combined with existing applications to deploy in the real world. In this paper we describe the new genetic and molecular techniques in the control of food safety and how their attitude towards new future challenges such as living transgenic and cloned into food. The development and implementation of methods and technologies that need different branches of science such as biotechnology, engineering and nanotechnology to cover these problems to be combined.

PALABRAS CLAVE

Control y seguridad alimentaria, cadena alimentaria, técnicas genéticas y moleculares

KEY WORDS

Control and food safety, food chain, and molecular genetic techniques

INTRODUCCIÓN

La cadena alimentaria, recoge el conjunto de operaciones que se desarrollan a lo largo del circuito comercial, del productor al consumidor. Sus características varían ampliamente en función del desarrollo socioeconómico del entorno, el tipo de producto, si es perecedero o duradero y de otros factores diversos.

En el horizonte próximo aparece un nuevo reto, la seguridad sanitaria alimentaria. Es lógico pensar que todos los productos alimentarios deben salir al mercado con las debidas garantías higiénicas sanitarias y, por consiguiente, esto debe ser el denominador común que no puede ser objeto de estrategias específicas empresariales.

Es por ello, que la gestión de la cadena alimentaria debe incorporar nuevos elementos de controles sanitarios más eficientes. Así pues, incluimos en este trabajo una descripción de la problemática de la seguridad alimentaria y cómo se podría solucionar con nuevas tecnologías de control sanitario.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

DETECCIÓN DE AGENTES NOCIVOS EN LOS ALIMENTOS

Las técnicas biotecnológicas para la detección de agentes nocivos como microorganismos patógenos y/o sus toxinas, alérgenos, residuos de tratamientos veterinarios, contaminantes abióticos de origen ambiental en los alimentos, etc., pueden emplearse individualmente o en combinación con técnicas analíticas tradicionales como HPLC y cromatografía de gases acopladas a espectrometría de masas.

Los sistemas biotecnológicos de detección están basados en técnicas inmunoquímicas (ELISA, dispositivos de flujo lateral, ensayos de aglutinación con partículas de látex), genéticas (hibridación de ADN, PCR y sus variantes, como PCR cuantitativa en tiempo real, etc.), u otras (por ejemplo, detección de la bioluminiscencia del ATP).

Las nuevas técnicas de control de la seguridad alimentaria se basan en la biología molecular y a continuación describiremos las más importantes.

Técnicas de biología molecular para la detección de agentes nocivos

- *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

ELISA es un método de detección basado en la especificidad antígeno-anticuerpo. Permite la detección de diversas sustancias antigénicas mediante la unión de anticuerpos específicos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto es visible y puede ser medido.

- *Inmunoblotting*

Western blot es una técnica inmuno-enzimática que se utiliza para la detección de proteínas. Se basa en la separación de las proteínas de una muestra en función del tamaño, mediante una electroforesis y una detección posterior mediante anticuerpos específicos contra la proteína que se desea detectar. Permite detectar el contenido relativo de proteínas en diferentes muestras.

- *Southern blot*

Es una técnica de hibridación que se utiliza para detectar una determinada secuencia de ADN dentro de una mezcla compleja. Para ello se debe contar con una sonda (fragmento conocido de ADN de simple cadena) que sea complementaria a la secuencia que se desea encontrar.

- *Reacción en cadena de la polimerasa*

PCR es un método de análisis rápido y sencillo que permite la detección y amplificación de determinados segmentos del ADN.

- *Secuenciación de ADN*

Se utiliza como técnica de confirmación positiva en la presencia de una determinada secuencia de ADN, tras su detección por PCR. Generalmente se utiliza para la

autenticación genética de alimentos (autenticación de especies o detección de componentes de origen animal o vegetal no deseados en el alimento).

- **Biosensores**

Son dispositivos de análisis compactos que incorporan un elemento de tipo biológico asociado a un sistema de transducción que permite amplificar, almacenar y registrar la señal producida por la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito buscado. Permiten detectar muchas sustancias como fertilizantes, aditivos, plaguicidas, metales pesados, antinutrientes, toxinas, fármacos, contaminantes orgánicos, alérgenos, etc.

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES

Las técnicas analíticas utilizadas en la determinación del origen de un producto, en concreto la especie animal o vegetal a partir de la que ha sido elaborado, son de gran importancia en el ámbito de la seguridad y calidad alimentarias.

Fundamentalmente, permiten la detección de casos de fraude económico. En ocasiones se encuentran a la venta ciertos alimentos de calidad inferior bajo denominaciones y con un coste propios de productos de alta gama.

Uno de los objetivos de la seguridad alimentaria es conocer la procedencia de un producto. Es para ello que se utilizan técnicas analíticas, que permitan determinar el origen de los animales o plantas que se utilizan para la elaboración de un alimento (trazabilidad).

Las técnicas utilizadas en la identificación de especies animales cuando no se dispone de base anatómica se pueden dividir en dos grandes grupos: aquellas basadas en el análisis de proteínas y las que se centran en el análisis del ADN o técnicas genéticas. Si bien los métodos basados en el análisis de proteínas han sido los más utilizados, los grandes avances que han tenido lugar en los últimos años en las técnicas de biología molecular han permitido el rápido desarrollo de numerosas técnicas genéticas que se han aplicado con éxito a la identificación de especies.

Los métodos que se utilizan para la identificación de especies animales, basados en el análisis de proteínas, incluyen distintas técnicas electroforéticas, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, High Performance Liquid Chromatography) y las técnicas inmunológicas.

Entre las técnicas biotecnológicas de reciente aplicación al análisis de los alimentos se encuentran las genéticas, que se basan en el reconocimiento específico de fragmentos de ácidos nucleídos presentes en los seres vivos. De estas técnicas, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la más utilizada y permite obtener millones de copias de una secuencia específica de ADN mediante una simple reacción enzimática.

Vamos a describir las técnicas genéticas utilizadas, que actualmente las podemos englobar en nuevas tecnologías.

Técnicas genéticas

- ***Restriction Fragment Length Polymorphism***

La técnica de RFLP permite diferenciar distintos organismos mediante el análisis de patrones de bandas, derivados de la ruptura de sus respectivos ADNs. Estos patrones, conocidos como perfiles de restricción del ADN, se originan gracias a la actividad de unas enzimas, las endonucleasas de restricción.

La escasa utilización de la técnica de RFLP en la identificación de especies de animales de abasto se debe fundamentalmente a dos razones: la complejidad de los perfiles obtenidos debido al gran número de bandas de ADN que es preciso examinar y la dificultad que presenta, sobre todo en cuanto a tiempo y cantidad de muestra, la extracción de ADN suficiente para llevar a cabo este tipo de análisis.

Por otro lado, la aplicación de esta técnica se vería limitada a la identificación de especies en productos frescos o congelados, ya que en caso contrario, la fragmentación del ADN durante el tratamiento térmico impediría la obtención de resultados reproducibles.

- ***Reacción en cadena de la polimerasa***

El gran éxito científico de la PCR reside en que permite obtener in vitro un gran número de copias de fragmentos específicos de ADN, basándose en un principio muy sencillo: la utilización de mecanismos similares a los empleados por la propia célula en la replicación del ADN durante la división celular.

La técnica de PCR presenta sin embargo una limitación: es necesario conocer parte de la secuencia que se quiere amplificar, al menos aquellas zonas en las que se van a unir los cebadores. Esto, que en principio podría suponer un importante obstáculo a la hora de amplificar ADN desconocido, se ha conseguido resolver siguiendo distintas estrategias. Por un lado, se pueden utilizar las secuencias génicas de diversas especies conocidas para buscar regiones conservadas sobre las que diseñar cebadores denominados universales, que permitan la amplificación del mismo gen en una gran variedad de especies.

- ***Secuenciación de fragmentos de ADN amplificados por PCR***

Este método de identificación de especies consiste en la amplificación de un determinado fragmento génico por PCR y su posterior secuenciación. Mediante el análisis de las secuencias obtenidas se pueden identificar diferencias interespecíficas que permitan distinguir las especies estudiadas.

- ***Análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción de regiones amplificadas por PCR***

La técnica de PCR-RFLP consiste en el uso combinado de la técnica de RFLP y del PCR. De este modo, se amplifican fragmentos de ADN específicos mediante PCR y posteriormente se tratan con enzimas de restricción, que los cortan en trozos más pequeños. Diferencias en la secuencia nucleotídica entre las distintas especies estudiadas, darán lugar a fragmentos de diferentes tamaños que se examinan mediante electroforesis.

El estudio de los polimorfismos en fragmentos amplificados por PCR (PCR-RFLP) en lugar de en el ADN mitocondrial total (RFLP), presenta importantes ventajas en la identificación de especies.

TRAZABILIDAD E IDENTIFICACIÓN DE LOS ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE

Es muy importante que el etiquetado de los alimentos aparezca la información lo más veraz y completa posible acerca de su composición y forma de obtención. En lo que se refiere a los alimentos y piensos modificados genéticamente, las normas relativas a las exigencias de etiquetado y trazabilidad aparecen recogidas en los Reglamentos (CE) 1829/03 y 1830/03 del Parlamento Europeo y del Consejo.

Los operadores que comercialicen un producto preenvasado consistente en OMG o que contenga OMG deberán asegurarse de que, en todas las fases de la cadena de producción y distribución, dicho producto esté etiquetado con la indicación «Este producto contiene organismos modificados genéticamente» o «Este producto contiene (nombre del organismo modificado genéticamente)». Si se trata de productos que no estén envasados, incluso si se presentan en grandes cantidades, y la utilización de una etiqueta fuera imposible, el operador deberá asegurarse de que la información sea transmitida con el producto. La citada información podrá presentarse, por ejemplo, en forma de documentos de acompañamiento.

Se requieren por tanto elementos de análisis que permitan perseguir y evitar el fraude y que además permitan un control en cada uno de los puntos de la cadena.

Todos los productos destinados a la alimentación humana o animal, incluidos los destinados directamente a la transformación, están sujetos a una obligación de etiquetado cuando son, contienen o están elaborados a partir de OMG. Solo los restos de OMG podrán estar exentos de dicha obligación si no superan el límite de 0,9 % y si su presencia es involuntaria y técnicamente inevitable.

Los métodos de análisis de la presencia de organismos modificados genéticamente en los alimentos se basan en la detección de proteínas (ELISA, dispositivos de flujo lateral) o de ADN (métodos basados en la técnica de PCR, y, con menor frecuencia, microarrays).

El Centro Común de Investigación de la Comisión Europea fue el primero en validar métodos por ELISA y PCR para materias primas constituidas por soja Roundup Ready y un método por PCR para maíz Maximizer (Bt-176) en alimentos transformados.

- ***Microarrays y biochips de ADN***

Es una técnica muy prometedora que permite la detección de un gran número de marcadores de transgénesis dentro de un mismo ensayo. Los biosensores serían a largo plazo la herramienta más completa ya que serían capaces de englobar la recogida y el análisis de la muestra en un mismo dispositivo y acelerando el proceso de detección de OMG.

- GMOChips de GeneScan®. Kits que permiten la integración en los procesos de cribado e identificación en un mismo dispositivo llegando a permitir un total de 14 análisis adicionales utilizados en alimentos transgénicos frescos, procesados y piensos.
- E-sensor de ClinicalMicro®. Se trata de un pequeño circuito electrónico que contiene un conjunto ordenado de electrodos de oro unidos a moléculas de ADN de cadena sencilla, que a su vez se encuentran acopladas a un tipo de compuesto orgánico conductor de electricidad llamado ferroceno. Disponible para aplicación por ahora solo en laboratorios ya que las muestras necesitan un tratamiento químico laborioso.

- ***Detección de animales de granja clónicos***

La estrategia de análisis de ADN no parece por el momento la más adecuada, y se está sugiriendo el análisis de metabolitos específicos o de perfiles proteicos similares a los de la huella genética. Esta última técnica utiliza una clase de anticuerpos únicos para cada individuo, no asociado a procesos patógenos que se mantienen estables durante la vida del animal.

- ***Método en tubo cerrado***

Se están utilizando para mejorar la sensibilidad de los ensayos de ADN. Permiten el seguimiento a tiempo real del ensayo de PCR. Esto favorece la obtención rápida de resultados, minimización de potenciales riesgo de contaminación y facilidad en la recopilación de datos cuantitativos.

- ***Método de marcaje por fluorescencia***

Permite eliminar el análisis electroforético de los productos de PCR. Consiste en añadir un agente intercalante que se une a cualquier fragmento de ADN doble producido durante el curso de la reacción de amplificación. Actualmente no se emplea para identificación de especies en los alimentos

- ***Método de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia***

Alternativa al método anterior utiliza un atenuador que al encontrarse próximo a un fluoróforo previene la emisión de fluorescencia. Esta tecnología se encuentra en varios productos comerciales aunque todavía no ha sido empleada para la autenticación de especies en los alimentos.

DISCUSIÓN

Las Ventajas de estas técnicas biotecnológicas nuevas respecto a las convencionales son las siguientes:

- Portabilidad de algunos de los sistemas de detección biotecnológicos, concretamente aquellos que se presentan en forma de kits de detección de fácil uso. Estos sistemas son de extrema utilidad en ensayos de campo (ganadería y agricultura) en los que, al menos un primer screening, permite la discriminación entre presencia o ausencia del agente nocivo. En la mayoría de los casos la utilización de estos kits de detección no requiere de una mano de obra altamente especializada, lo que lógicamente abarata el coste del análisis y aumenta su oportunidad de aplicación.
- Posibilidad de ser incluidos en los procesos productivos sin afectar al normal desarrollo de la producción y permitiendo una monitorización en tiempo real.
- Elevada sensibilidad del sistema de detección, como el caso de determinados biosensores con sofisticados sistemas de amplificación y transducción de señal.
- Abaratamiento sobre las técnicas disponibles como es el caso de la detección de acrilamida que habitualmente se realiza mediante HPLC-MS o GCMS. En la actualidad se han desarrollado métodos ELISA para la detección y cuantificación de acrilamida en alimentos, con un coste realmente inferior al de las técnicas convencionales.
- Se necesita muy poca cantidad de muestra (unos 100 mg de tejido).
- Se pueden analizar muestras conservadas en malas condiciones durante mucho tiempo.
- Es posible analizar muestras sometidas a intensos procesados, e incluso esterilizadas.
- Se pueden detectar mutaciones silentes (imposibles de detectar mediante análisis de proteínas).
- El ADN es el mismo en todos los tipos celulares de un organismo.

CONCLUSIONES

Las nuevas tecnologías se presentan como potentes herramientas que pueden ayudar a mejorar los sistemas de trazabilidad y de seguridad alimentaria. Aún siendo tan beneficiosas estas técnicas todavía queda mucho camino por hacer, se necesita algunos décadas de investigación. Las principales dificultades que deberán superar tienen su raíz en la propia complejidad de los alimentos y prácticas alimentarias, y en la propia complejidad de nuestros sistemas metabólicos, así como los problemas de percepción social, cuestiones éticas e implicaciones económicas y sociales

REFERENCIAS

1. Buchanan RL, Whiting RC. Risk Assessment: A Means for Linking HACCP Plans and Public Health. *J Food Prot* 1998; 61 (11): 1531-4.
2. *Estrategia de la FAO relativa al enfoque de calidad e inocuidad de los alimentos basada en la cadena alimentaria: Documento marco para la formulación de la futura orientación estratégica*. Tema 5 del programa. 17º período de sesiones. Comité de Agricultura de la FAO. Roma, 31 Marzo al 4 Abril 2003.
3. FAO/OMS. *Preparación y uso de directrices nutricionales basadas en alimentos*. Ginebra, 1998: 1-129.
4. Figueroa D. "Seguridad alimentaria familiar". *Revista de Salud Pública y Nutrición* 2003; 4.
5. González-Rumayor, V.; García-Iglesias, E.; Ruiz-Galán, O.; Gago-Cabezas, L. (2005). *Aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria*. CEIM/ Dirección General de Universidades e Investigación.
6. Gorrachategui, M. (2001). "Seguridad Alimentaria: dioxinas". XVII Curso de Especialización. *Avances en Nutrición y Alimentación Animal FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal)*, 189-215.
7. *Introduction to Allergen*. Artículo on line disponible en la base de datos Food and Pollen Allergens - Agmobiol (<http://ambl.lsc.pku.edu.cn>).
8. *Inocuidad de los alimentos*. Consejo Ejecutivo de la 108ª reunión. Ginebra: Organización Mundial de la Salud;2001
9. Krebs-Smith SM, Smiciklas-Wright H, Guthrie HA, Krebs-Smith J. "The effects of variety in food choices on dietary quality". *J Am Diet Assoc* 1987;87:897-903
10. *Libro blanco sobre seguridad alimentaria*. Bruselas: Unión Europea; 1999
11. Pérez de Ciriza, J. A.; Huarte, A.; Saiz, I.; Ozcáriz, M. T.; Purroy, M. T (1999). "Residuos de sustancias inhibidoras en carnes". *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 22, suplemento 3.
12. Valle Vega, P.; Lucas Florentino, B. (2000). *Toxicología de alimentos*. Documento publicado por el Instituto Nacional de Salud Pública y el Centro Nacional de Salud Ambiental, Méjico.
13. Velasco-García, M.; Mottram T. (2003). "Biosensor technology addressing agricultural problems". Review paper. *Biosystems Engineering*, 84, 1-12.

14. Wissiack, R.; de la Calle, B.; Bordin, G.; Rodríguez, A. R. (2003). "Screening test to detect meta adulteration through the determination of hemoglobin by cation exchange chromatography with diode array detection". *Meat Science*, 64, 427-432.