

## Los retos actuales de la gestión del riesgo por micotoxinas

Sònia Marín, Antonio J. Ramos y Vicente Sanchis

Unidad de Micología Aplicada, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad de Lérida.

Las micotoxinas son peligros químicos que pueden estar presentes en algunos alimentos y materias primas determinados. Son contaminantes de origen natural producidos por hongos, cuya presencia en los alimentos es conocida, regulada por la legislación vigente y gestionada mediante los sistemas de gestión de seguridad alimenticia de las empresas que trabajan con materiales susceptibles de contenerlas. No obstante, en los últimos tiempos la problemática ligada a la presencia de micotoxinas ha ido en aumento, y además se han evidenciado nuevos problemas añadidos. Este documento focaliza la atención en los retos actuales en el ámbito de las micotoxinas en los alimentos:

- a) El efecto del cambio climático en la incidencia de micotoxinas en los cultivos;
- b) La mejora de las técnicas analíticas para monitorizar la presencia de micotoxinas en las diferentes matrices;
- c) La presencia de micotoxinas modificadas en los alimentos;
- d) La coexposición a micotoxinas y otros contaminantes.

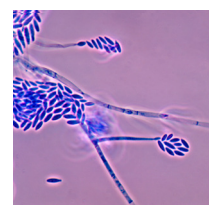
### (a) El cambio climático

El clima afecta al crecimiento, distribución y producción de micotoxinas en los cultivos por parte de los mohos. Por eso, el cambio climático puede, potencialmente, hacer cambiar el riesgo que los mohos micotoxigénicos suponen para la seguridad alimenticia (Medina, [et al.], 2017). La aparición de nuevas combinaciones

micotoxina-cultivo es preocupante y señala la posibilidad de aparición de nuevos genotipos fúngicos, más agresivos y con diferente potencial micotoxigénico.

En los últimos años, hay unas cuantas evidencias que ponen de manifiesto estos cambios. Por ejemplo, hasta el 2004, la visión europea sobre la contaminación por las aflatoxinas (AF) se limitaba sólo a los alimentos importados. A pesar de eso, en el 2007, la Autoridad Europea de Seguridad Alimenticia (EFSA) estableció el problema emergente de la contaminación por AF de maíz, almendras y pistachos cultivados en el sur de Europa, a causa del clima subtropical que se había dado en los últimos años. En las zonas mediterráneas se prevén cambios de la temperatura, de los niveles de CO<sub>2</sub> y de los patrones de lluvias. Las AF son frecuentes en épocas de calor y sequía, condiciones que estresan las plantas y facilitan la infección por *Aspergillus flavus*. Durante los últimos 15 años ha habido temporadas cálidas y secas que han provocado graves infecciones por *A. flavus* en maíz de países de Europa, como Italia, Rumania, Serbia y España. Además del alto riesgo de AF en países del sur de Europa, se predice un riesgo bajo y medio en los cuatro principales países productores de maíz (Rumania, Francia, Hungría y el nordeste de Italia) (Battilani [et al.], 2016).

En cuanto a las toxinas de *Fusarium*, Europa, que se caracteriza por una amplia gama de condiciones climáticas, muestra diferencias importantes en la composición de especies asociadas con la fusariosis en cereales (*Fusarium head blight* - FHB). Mientras *F.graminearum* es la principal productora de desoxinivalenol (DON) en Europa central y meridional, *F.culmorum* lo es en Escandinavia. No obstante, en la última década, se ha observado una disminución en la presencia de *F.culmorum* y un aumento de *F.graminearum* en algunas áreas del centro y norte de Europa (Nielsen, [et al.], 2011). En general, en las regiones más septentrionales de Italia, España y Portugal, el sur de Francia y toda la península balcánica, se observa que *F.graminearum*, junto con el DON,



concurrir con frecuencia en la fase de maduración de los cereales. Por otra parte, Madgwick [*et al.*], (2011) estudiaron el impacto del cambio climático en la antesis del trigo y concluyeron que las epidemias de FHB serán más graves, especialmente en el sur de Inglaterra, por culpa del aumento de *F. graminearum* y el DON asociado.

## (b) Las técnicas analíticas

La creciente evidencia de la prevalencia de las micotoxinas por todo el mundo hace necesario tener técnicas analíticas adecuadas para hacer una monitorización y control, y minimizar su entrada en la cadena alimenticia. La obligación de cumplir con los límites reglamentarios establecidos ha impulsado el desarrollo de técnicas analíticas para la detección, identificación y cuantificación de las micotoxinas en alimentos y piensos.

Un factor crítico para el control de las micotoxinas es la gran heterogeneidad que presentan en su distribución dentro de un mismo lote de alimentos o materias primas, hecho que supone que el muestreo sea uno de los elementos más importantes a la hora de llevar a cabo un análisis de micotoxinas fiable. Los métodos de muestreo de micotoxinas son complejos y requieren de un considerable esfuerzo de personal y de tiempo.

Una vez hecho el muestreo, la metodología de análisis para la detección de micotoxinas en los alimentos implica una secuencia de pasos: preparación de la muestra, extracción, purificación, detección, cuantificación y confirmación. Se han desarrollado una gran diversidad de métodos analíticos para el análisis de micotoxinas, los cuales pueden ser clasificados, principalmente, en dos grupos:

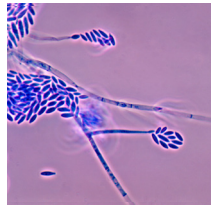
- métodos rápidos (inmunoensayos);
- métodos cromatográficos.

El primer grupo incluye métodos que permiten un análisis rápido y con un bajo componente instrumental. Se basan mayorita-

riamente en técnicas de inmunodetección y resultan útiles para hacer el cribado de un gran número de muestras. Los tests basados en inmunoensayos son métodos fáciles y baratos, que obtienen resultados cuantitativos (ELISA) o semicuantitativos (inmunoensayos de flujo lateral) en un corto espacio de tiempo. No obstante, se ha comprobado que la matriz del alimento puede interferir en los inmunoensayos, que puede conducir a una estimación incorrecta de la concentración de micotoxina en algunas situaciones.

El segundo grupo de métodos incluye, generalmente, métodos fisicoquímicos (de referencia) como la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-MS). Los métodos cromatográficos pueden mostrar perfiles de contaminación completos y fiables, pero son análisis relativamente caros. La cromatografía de líquidos de alta resolución con detección por fluorescencia (HPLC-FD) es la técnica más utilizada cuando las micotoxinas presentan fluorescencia natural, tanto para un primer análisis de muestras como para la confirmación de resultados que han salido positivos por técnicas de inmunodetección, ya que es una técnica sensible, reproducible, específica, exacta y que presenta un alto grado de automatización. En caso de que no presenten fluorescencia natural las micotoxinas también se pueden determinar utilizando HPLC-FD con una derivatización previa a la detección, como es el caso de las fumonisinas.

Es un hecho probado que lo más habitual en los alimentos es que haya una contaminación múltiple por diferentes micotoxinas, de tipos muy diferentes, en bajas concentraciones (Vila-Donat, [*et al.*], 2018). Mediante el uso del HPLC acoplado a un detector MS en tándem (MS/MS), es posible la identificación y cuantificación simultánea de múltiples micotoxinas en mezclas complejas, siendo esta técnica capaz de detectar concentraciones muy bajas de toxina (Berthiller, [*et al.*], 2016). Esto mismo, junto con el hecho de que el análisis permite confirmar la presencia de micoto-



xinas de manera inequívoca, está haciendo que esta técnica se esté considerando cada vez más como la mejor opción para el análisis de micotoxinas en matrices complejas.

### (c) Las micotoxinas modificadas

Se denominan *micotoxinas modificadas* a los derivados de las micotoxinas principales, en las que la estructura ha cambiado por su unión a componentes de las matrices alimenticias o por la modificación de su estructura básica por causas químicas o biológicas, de manera que no se suelen detectar por los métodos analíticos rutinarios. Entre éstas, hay que distinguir entre:

- las micotoxinas biológicamente o químicamente modificadas (entre las que se encuentran los conjugados producidos por las plantas), que son conjugados solubles, extraíbles y fácilmente detectables cuando se conocen y se tienen patrones.
- las micotoxinas asociadas a matriz, que se trata de conjugados insolubles, no extraíbles, y más difíciles de analizar, ya que previamente hay que liberarlos de la matriz por métodos químicos o enzimáticos (Rychlik, [et al.], 2014).

Hasta la fecha ha podido haber una subestimación del contenido total real de micotoxinas en un alimento, dado que las micotoxinas modificadas no se han ido analizando en las materias primas o alimentos, ya que o se desconocía su existencia o no eran detectadas por los métodos de análisis rutinarios. Esto se debe principalmente al hecho de que el cambio de su estructura molecular altera sus características cromatográficas, o modifica el epítipo reconocido por los anticuerpos para su detección por técnicas inmunológicas, o incluso porque la eficacia del disolvente de extracción se ve reducida porque la molécula ha sufrido un cambio en su polaridad a causa de la modificación.

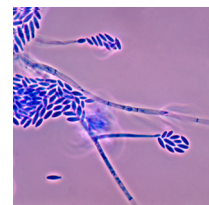
El hecho de que las plantas produzcan la metabolización de las micotoxinas a sus formas modificadas responde a un mecanismo de destoxicación por el que las

plantas convierten micotoxinas relativamente apolares en derivados más polares, que son entonces más fácilmente almacenados en vacuolas, o son conjugados a biopolímeros, como los componentes de la pared celular. En otros casos, las micotoxinas conjugadas son excretadas ya directamente en su forma modificada por el moho productor. Por otra parte, el procesado de los alimentos también puede causar la generación de micotoxinas modificadas, a consecuencia, por ejemplo, de la aplicación de calor. También se ha descrito la liberación enzimática de las micotoxinas unidas a la matriz alimenticia, provocando un incremento en el nivel total de micotoxinas detectadas en el producto final con respecto a la contaminación encontrada en la materia prima (Vidal, [et al.], 2014), lo que suele ser un resultado bastante inesperado. Por ejemplo, a causa de la acción de las amilasas utilizadas en la industria de la panificación.

El número y tipo de micotoxinas modificadas que van siendo identificadas es cada día mayor, lo que evidencia que estamos ante un problema cuyo alcance todavía está por determinar. Con respecto a las consideraciones toxicológicas de este tipo de micotoxinas, todavía hay mucho por establecer, no se puede descartar que puntualmente puedan ser incluso más tóxicas que las moléculas parentales. En algunos casos, se ha comprobado que la molécula modificada puede regenerar la toxina original en el sistema digestivo por acción de enzimas metabólicas (en el ámbito digestivo o en otros órganos) o de los microorganismos de la microbiota intestinal (Gratz, [et al.], 2017). Por eso, hay que considerar modificar la legislación para incluir la suma del total de micotoxinas (parental + modificadas) a la hora de establecer los límites legales y evaluar el riesgo por micotoxinas.

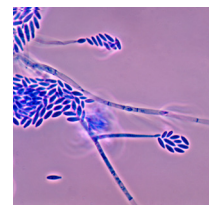
### (d) La coexposición a micotoxinas y otros contaminantes

Los métodos de análisis capaces de detectar simultáneamente un número amplio de micotoxinas diferentes han permitido, por otra parte, evaluar los niveles de coexposición a diferentes micotoxinas



de un mismo individuo a través de un simple análisis de orina. De esta manera se ha confirmado que la coexistencia de dos toxinas en una muestra de orina suele ser lo más común, mucho más que la contaminación por una única micotoxina. No obstante, los resultados dependen en gran medida de las toxinas analizadas. Así, si sólo se analizan las micotoxinas parentales, generalmente se detectan 1-2 toxinas en cada muestra de orina, mientras que, si se analizan las micotoxinas parentales y las modificadas, generalmente se encuentran de 2 a 4 toxinas en una muestra.

Una línea de investigación futura importante es la posible exposición concurrente de micotoxinas con otras sustancias químicas ambientales que pueden mostrar alguna actividad interactiva y/o ejercer alguna función biológica que converja en las mismas vías moleculares, lo que conocemos como exposoma. Por lo que se sabe, no hay estudios de biomonitorización en Cataluña que exploren la presencia simultánea de un panel de sustancias químicas ambientales, incluido algún tipo de micotoxina. El Segundo Estudio de Dieta Total en Francia reveló la exposición prolongada a las micotoxinas en mezclas complejas con otros químicos ambientales en la mayoría de los grupos de dietas francesas. Por ejemplo, se estimó que había un primer grupo, que contenía el 18% de la población total, con una exposición significativamente mayor a las toxinas de *Fusarium*, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y bisfenol A, que el resto de la población. La zearalenona, micotoxina estrogénica, también se identificó en otro grupo con muchos HAP, acrilamida, oligoelementos, pesticidas y la suma de ocho éteres de difenil polibromato, en un grupo que representaba el 21% de la población con hábitos alimenticios relacionados con la comida rápida (Traore, [et al.], 2016). La evaluación toxicológica de combinaciones de micotoxinas y otros contaminantes para la caracterización de interacciones potenciales es un campo de investigación emergente y muy activo.



## MÁS INFORMACIÓN

BATTILANI, P.; TOSCANO, P.; VAN DER FELS-KLERX, H.J.; MORETTI, A.; CAMARDO LEGGIERI, M.; BRERA, C.; RORTAIS, A.; GOUMPERIS, T. y ROBINSON, T. *Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change*. Scientific Reports, 6, 2016, p. 24328.

BERTHILLER, F.; BRERA, C.; CREWS, C.; IHA, M.H.; KRŠKA, R.; LATTANZIO, V.M.T.; MACDONALD, S.; MALONE, R.J.; MARAGOS, C.; SOLFRIZZO, M.; STROKA, J. y WHITAKER, T.B. *Developments in mycotoxin analysis: an Update for 2014-2015*. World Mycotoxin Journal, 9, 2016, p. 5-29.

GRATZ, S.W.; DINESH, R.; YOSHINARI, T.; HOLTROP, G.; RICHARDSON, A.J.; DUNCAN, G.; MACDONALD, S.; LLOYD, A. y TARBIN, J. *Masked trichothecene and zearalenone mycotoxins withstand digestion and absorption in the upper GI tract but are efficiently hydrolyzed by human gut microbiota in vitro*. Molecular Nutrition & Food Research, 61, 1600680, 2017.

MADGWICK, J.W., WEST, J.S., WHITE, R.P., SEMENOV, M.A., TOWNSEND, J.A., TURNER, J.A. y FITT, B.D.L. *Impacts of climate change wheat anthesis and fusarium ear blight in the UK*. European Journal of Plant Pathology, 129, 2011, p. 117-131.

MEDINA, A.; GONZALEZ-JARTIN, J.M. y SAINZ, M.J. *Impact of global warming donde mycotoxins*. Current Opinion in Food Science, 18, 2017, p. 76-81.

NIELSEN, L.K.; JENSEN, J.D.; NIELSEN, G.C.; JENSEN, J.E.; SPLIID, N.H.; THOMSEN, I.K.; JUSTESEN, A.F.; COLLINGE, D.B. y JØRGENSEN, L.N. *Fusarium head blight of cereales in Denmark: Species complex and related mycotoxins*. Phytopathology, 101, 2011, p. 960-969.

RYCHLIK, M.; HUMPF, H-U.; MARKO, D.; DÄNICKE, S.; MALLY, A.; BERTHILLER, F.; KLAFFKE, H. y LORENZ, N. *Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including "masked" mycotoxins*. Mycotoxin Research, 30, 2014, p. 197-205.

TRAORE, T., BECHAUX, C., SIROT, V. y CREPET, A. *To which chemical mixtures are the French population exposed? Mixture identification from the second French Total Diet Study*. Food Chemistry and Toxicology, 98, 2016, p. 179-188.

VIDAL, A., AMBROSIO, A., SANCHIS, V., RAMOS, A.J. y MARÍN, S. *Enzyme bread improvers affect the stability of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside during breadmaking*. Food Chemistry, 208, 2016, p. 288-296.

VILA-DONAT, P., MARÍN, S., SANCHIS, V. y RAMOS, A.J. *A review of the mycotoxin adsorbing agents, with an emphasis on their multi-binding capacity, for animal feed decontamination*. Food and Chemical Toxicology, 114, 2018, p. 246-259.