



Els reptes actuals de la gestió del risc per micotoxines

Sònia Marín, Antonio J. Ramos i Vicente Sanchis.

Unitat de Micologia Aplicada. Departament de Tecnologia d'Aliments. Universitat de Lleida.

Les micotoxines són perills químics que poden estar presents en alguns aliments i matèries primeres determinats. Són contaminants d'origen natural produïts per fongs, la presència dels quals als aliments és coneguda, regulada per la legislació vigent i gestionada mitjançant els sistemes de gestió de seguretat alimentària de les empreses que treballen amb materials susceptibles de contenir-les. No obstant això, en els darrers temps la problemàtica lligada a la presència de micotoxines ha anat en augment, i a més s'han evidenciat nous problemes afegits. Aquest document focalitza l'atenció en els reptes actuals en l'àmbit de les micotoxines en els aliments:

- a) L'efecte del canvi climàtic en la incidència de micotoxines en els conreus;
- b) La millora de les tècniques analítiques per monitoritzar la presència de micotoxines en les diferents matrius;
- c) La presència de micotoxines modificades en els aliments;
- d) La coexposició a micotoxines i altres contaminants.

(a) El canvi climàtic

El clima afecta al creixement, la distribució i la producció de micotoxines als conreus per part de les floridures. Per això, el canvi climàtic pot, potencialment, fer canviar el risc que les floridures micotoxigèniques suposen per a la seguretat alimentària (Medina [et al., 2017]). L'aparició de noves combinacions micotoxina-cultiu és preocupant i assenyalava la possibilitat d'aparició

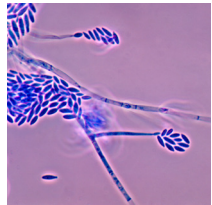
de nous genotips fúngics, més agressius i amb diferent potencial micotoxigènic.

Als darrers anys, hi ha unes quantes evidències que posen de manifest aquests canvis. Per exemple, fins al 2004, la visió europea sobre la contaminació per les aflatoxines (AF) es limitava només als aliments importats. Malgrat això, al 2007, l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA) va establir el problema emergent de la contaminació per AF de panís, ametlles i pistatxos cultivats al sud d'Europa, a causa del clima subtropical que s'havia donat els darrers anys. A les zones mediterrànies es preveuen canvis de la temperatura, dels nivells de CO₂ i dels patrons de pluges. Les AF són freqüents en èpoques de calor i sequera, condicions que estressen les plantes i faciliten la infecció per *Aspergillus flavus*. Durant els darrers 15 anys hi ha hagut temporades càlides i seques que han provocat greus infeccions per *A. flavus* en panís de països d'Europa, com Itàlia, Romania, Sèrbia i Espanya. A més de l'alt risc d'AF en països del sud d'Europa, es prediu un risc baix i mitjà als quatre principals països productors de panís (Romania, França, Hongria i el nord-est d'Itàlia) (Battilani [et al.], 2016).

Quant a les toxines de *Fusarium*, Europa, que es caracteritza per una àmplia gama de condicions climàtiques, mostra diferències importants en la composició d'espècies associades amb la fusariosi en cereals (*Fusarium head blight* - FHB). Mentre que *Fusarium graminearum* és el principal productor de desoxinivalenol (DON) a l'Europa central i meridional, *Fusarium culmorum* ho és als països escandinaus. No obstant això, a la darrera dècada, s'ha observat una disminució en la presència de *F. culmorum* i un augment en *F. graminearum* en algunes àrees del centre i nord d'Europa (Nielsen [et al.], 2011). En general, en les regions més septentrionals d'Itàlia, Espanya i Portugal, el sud de França i tota la península balcànica, s'observa que *F. graminearum*, juntament amb el DON, concorren amb freqüència a la fase de maduració dels cereals. D'altra banda, Madgwick [et al.] (2011) van estudiar l'impacte del canvi climàtic en l'antesi del blat i van concloure que les epidèmies

Gener - Febrer de 2019

Pàgina 1 de 5





mies d'FHB seran més greus, especialment al sud d'Anglaterra, per culpa de l'augment de *F. graminearum* i el DON associat.

(b) Les tècniques analítiques

La creixent evidència de la prevalença de les micotoxines arreu del món fa necessari tenir tècniques analítiques adients per a fer-ne una monitorització i control, i minimitzar la seva entrada a la cadena alimentària. L'obligació de complir amb els límits reglamentaris establerts ha impulsat el desenvolupament de tècniques analítiques per a la detecció, identificació i quantificació de les micotoxines en aliments i pinsos.

Un factor crític per al control de les micotoxines és la gran heterogeneïtat que presenten en la seva distribució dins d'un mateix lot d'aliments o matèries primeres, fet que suposa que el mostreig sigui un dels elements més importants a l'hora de dur a terme una anàlisi de micotoxines fiable. Els mètodes de mostreig de micotoxines són complexos i requereixen d'un considerable esforç de personal i de temps.

Un cop fet el mostreig, la metodologia d'anàlisi per a la detecció de micotoxines en els aliments implica una seqüència de passos: preparació de la mostra, extracció, purificació, detecció, quantificació i confirmació. S'han desenvolupat una gran diversitat de mètodes analítics per a l'anàlisi de micotoxines, els quals poden ser classificats, principalment, en dos grups:

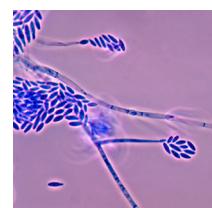
- mètodes ràpids (immunoassaigs);
- mètodes cromatogràfics.

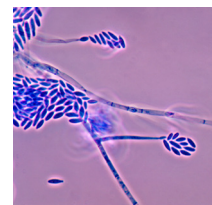
El primer grup inclou mètodes que permeten una anàlisi ràpida i amb un baix component instrumental. Es basen majoritàriament en tècniques d'immunodetecció. Els tests basats en immunoassaigs són mètodes fàcils i barats, que lliuren resultats quantitatius (ELISA) o semiquantitatius (immunoassaigs de flux lateral) en un curt espai de temps. No obstant això,

s'ha comprovat que la matriu de l'aliment pot interferir en els immunoassaigs, fet que pot conduir a una estimació incorrecta de la concentració de micotoxina en algunes situacions.

El segon grup de mètodes inclou, generalment, mètodes fisicoquímics (de referència) com ara la cromatografia de líquids d'alta resolució (HPLC) i la cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses (HPLC-MS). Els mètodes cromatogràfics poden mostrar perfils de contaminació complets i fiables però són anàlisis relativament cares. La cromatografia de líquids d'alta resolució amb detecció per fluorescència (HPLC-FD) és la tècnica més utilitzada quan les micotoxines presenten fluorescència natural, tant per una primera anàlisi de mostres com per a la confirmació de resultats que han sortit positius per tècniques d'immunodetecció, ja que és una tècnica sensible, reproducible, específica, exacta i que presenta un alt grau d'automatització. En el cas que no presentin fluorescència natural les micotoxines també es poden determinar utilitzant HPLC-FD amb una derivatització prèvia a la detecció, com és el cas de les fumonisines.

És un fet provat que el més habitual en els aliments és que hi hagi una contaminació múltiple per diferents micotoxines, de tipus molt diferents, en baixes concentracions (Vila-Donat [et al.], 2018). Mitjançant l'ús de l'HPLC acoblat a un detector MS en tàndem (MS/MS), és possible la identificació i quantificació simultània de múltiples micotoxines en mescleres complexes, essent aquesta tècnica capaç de detectar concentracions molt baixes de toxina (Berthiller [et al.], 2016). Això, juntament amb el fet que l'anàlisi permet confirmar la presència de micotoxines de manera inequívoca, està fent que aquesta tècnica s'estigui considerant cada vegada més com la millor opció per a l'anàlisi de micotoxines en matrius complexes.





(c) Les micotoxines modificades

Es denominen *micotoxines modificades* als derivats de les micotoxines principals, en les quals l'estructura ha canviat per la seva unió a components de les matrius alimentàries o per la modificació de la seva estructura bàsica per causes químiques o biològiques, de manera que no se solen detectar pels mètodes analítics rutinaris. Entre aquestes, cal distingir entre:

- les micotoxines biològicament o químicament modificades (entre les quals es troben els conjugats produïts per les plantes), que són conjugats solubles, extraïbles i fàcilment detectables quan es coneixen i es tenen patrons.

- Les micotoxines associades a matriu, que es tracta de conjugats insolubles, no extraïbles, i més difícils d'analitzar, ja que prèviament cal alliberar-los de la matriu per mètodes químics o enzimàtics (Rychlik [et al.], 2014).

Fins avui dia hi ha pogut haver una subestimació del contingut total real de micotoxines en un aliment, atès que les micotoxines modificades no s'han anat analitzant en les matèries primeres o aliments, ja que o es desconeixia la seva existència o no eren detectades pels mètodes d'anàlisi rutinaris. Això és deu principalment al fet que el canvi de la seva estructura molecular altera les seves característiques cromatogràfiques, o modifica l'epítip reconegut pels anticossos per a la seva detecció per tècniques immunològiques, o fins i tot perquè l'eficàcia del dissolvent d'extracció es veu reduïda perquè la molècula ha patit un canvi en la seva polaritat a causa de la modificació.

El fet que les plantes produeixin la metabolització de les micotoxines a les seves formes modificades respon a un mecanisme de destoxicació pel qual les plantes converteixen micotoxines relativament apolars en derivats més polars, que són llavors més fàcilment emmagatzemats en vacúols, o són conjugats a biopolímers, com els components de la paret cel·lular. En altres casos, les micotoxines conjugades són excretades ja directament en la

seva forma modificada per la floridura productora. D'altra banda, el processat dels aliments també pot causar la generació de micotoxines modificades, a conseqüència, per exemple, de l'aplicació de calor. També s'ha descrit l'alliberament enzimàtic de les micotoxines unides a la matriu alimentària, provocant un increment en el nivell total de micotoxines detectades en el producte final respecte a la contaminació trobada en la matèria primera (Vidal [et al.], 2014), el que sol ser un resultat força inesperat. Per exemple, a causa de l'acció de les amilases emprades en la indústria de la panificació.

El nombre i tipus de micotoxines modificades que van essent identificades és cada dia més gran, el que evidencia que estem davant d'un problema l'abast del qual encara està per determinar. Pel que fa a les consideracions toxicològiques d'aquest tipus de micotoxines, encara hi ha molt per establir, no es pot descartar que puntualment puguin ser fins i tot més tòxiques que les molècules parentals. En alguns casos, s'ha comprovat que la molècula modificada pot regenerar la toxina original en el sistema digestiu per acció d'enzims metabòlics (en l'àmbit digestiu o en altres òrgans) o dels microorganismes de la microbiota intestinal (Gratz [et al.], 2017). Per això, cal considerar de modificar la legislació per incloure la suma del total de micotoxines (parental + modificades) a l'hora d'establir els límits legals i avaluar el risc per micotoxines.

(d) La coexposició a micotoxines i altres contaminants

Els mètodes d'anàlisi capaços de detectar simultàniament un nombre ampli de micotoxines diferents han permès, d'altra banda, avaluar els nivells de coexposició a diferents micotoxines d'un mateix individu a través d'una simple anàlisi d'orina. D'aquesta manera s'ha confirmat que la coexistència de dues toxines en una mostra d'orina sol ser el més comú, molt més que la contaminació per una única micotoxina. No obstant això, els resultats depenen en gran mesura de les toxines analitzades. Així, si només s'analitzen les micotoxines parentals, generalment es de-

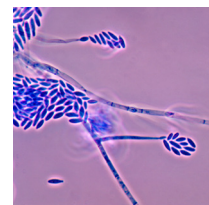


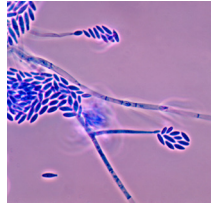
tecten 1-2 toxines en cada mostra d'orina, mentre que si s'analitzen les micotoxines parentals i les modificades, generalment es troben de 2 a 4 toxines en una mostra.

Una línia d'investigació futura important és la possible exposició concurrent de micotoxines amb altres substàncies químiques ambientals que poden mostrar alguna activitat interactiva i/o exercir alguna funció biològica que convergeixi en les mateixes vies moleculars, el que coneixem com exposoma. Pel que se sap, no hi ha estudis de biomonitorització a Catalunya que explorin la presència simultània d'un panell de substàncies químiques ambientals, inclòs algun tipus de micotoxina. El Segon Estudi de Dieta Total a França va revelar l'exposició perllongada a les micotoxines en mescles complexes amb altres químics ambientals en la majoria dels grups de dietes franceses. Per exemple, es va estimar que hi havia un primer grup, que contenia el 18% de la població total, amb una exposició significativament major a les toxines de *Fusarium*, hidrocarburs aromàtics policíclics (HAP) i bisfenol A, que la resta de la població. La zearalenona, micotoxina estrogènica, també es va identificar en un altre grup amb molts HAP, acrilàmida, oligoelements, pesticides i la suma de vuit èters de difenil polibromat, en un grup que representava el 21% de la població amb hàbits alimentaris relacionats amb el menjar ràpid (Traore [et al.], 2016). L'avaluació toxicològica de combinacions de micotoxines i altres contaminants per a la caracterització d'interaccions potencials és un camp de recerca emergent i molt actiu.

Gener - Febrer
de 2019

Pàgina 4 de 5





MÉS INFORMACIÓ

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 on 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 improves 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.