



FUNDACIÓN IBÉRICA PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA
Ronda de Poniente, 9 – Tel. 91 807 54 10 Fax: 91 803 38 87 – 28760 TRES CANTOS (Madrid)

HONGOS Y MICOTOXINAS Almudena Antón y Jesús Lizaso

INTRODUCCIÓN

El hombre conoce los hongos que crecen en los alimentos desde la antigüedad, y los ha utilizado en su propio beneficio como alimento directo, para mejorar alimentos y especialmente con fines terapéuticos (antibióticos). Sin embargo, el estudio de los hongos como tóxicos no se inició hasta los años 60, como consecuencia de una intoxicación masiva que provocó la muerte de 100.000 pavos, y que se encontró asociada a una contaminación por hongos.

Ciertas especies fúngicas son capaces de producir unos metabolitos secundarios con carácter tóxico llamadas micotoxinas. La segregación de estas sustancias se produce bajo ciertas condiciones ecológicas favorables.

El interés de los hongos y las micotoxinas es enorme, no sólo desde el punto de vista científico, sino desde la perspectiva económica. Son muchos los problemas que originan, desde el agricultor hasta el consumidor final. Por ejemplo, las bajadas de rendimientos de las cosechas, los empeoramientos en los índices técnicos de los animales de granja, enfermedades en los mismos, alteraciones en los alimentos, pérdidas de características organolépticas y nutricionales, costes derivados de la prevención o el tratamiento descontaminante por citar algunos de ellos.

La exposición del hombre a las micotoxinas se efectúa por vía alimentaria, si bien se han descrito algunos casos muy particulares de afecciones por vía respiratoria. Siendo por tanto la alimentación la principal fuente de riesgos para el hombre, se justifica que las micotoxinas sean uno de los grupos de moléculas contemplados en nuestro programa de Seguridad Alimentaria.

CONDICIONES DE CONTAMINACIÓN

El desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas requieren ciertos condicionantes ambientales, entre ellos los siguientes:

- **Factores físicos:** Humedad y agua disponible, temperatura, zonas de microflora (pequeñas zonas del alimento con alto contenido en humedad), e integridad física del grano o del alimento.
- ❖ **Agua disponible:** Merece especial mención el concepto de actividad de agua o agua disponible, normalmente designada como a_w . La a_w indica la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los microorganismos, una vez se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema alimento/medio ambiente. La a_w se expresa como la relación existente entre la tensión de vapor de agua en el sustrato (P) y la del agua pura (Po), a la misma temperatura, ($a_w = P/Po$). El agua pura tiene una $a_w = 1$. En los alimentos, la a_w será siempre inferior a 1. La mayor parte de los hongos que contaminan los cereales, por ejemplo, necesitan valores superiores a 0.7.
- **Factores químicos:** Composición del sustrato, pH, nutrientes minerales y disponibilidad de oxígeno.

- **Factores biológicos.** presencia de invertebrados y estirpes específicas (en una misma especie fúngica existen estirpes productoras de micotoxinas y otras que son incapaces de producirlas)

Los factores ambientales mencionados son los que condicionan la contaminación fúngica de los alimentos almacenados. La investigación aplicada a la calidad de los piensos y los granos se ha dirigido en las últimas décadas al control de los hongos, pues se han identificado como una de las principales causas del deterioro nutricional y organoléptico del grano y pienso almacenado.

PRINCIPALES HONGOS Y MICOTOXINAS

Dentro de la gran variedad de hongos existentes, son pocos los que juegan un papel importante en el campo zootécnico.

Las micotoxinas son producidas principalmente por 5 tipos de hongos: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* y *Alternaria*. En el cuadro siguiente se muestran las toxinas producidas por estos géneros.

| Hongo | Toxina |
|--------------------|--|
| <i>Aspergillus</i> | Aflatoxinas Sterigmatocistina Ocratoxina A |
| <i>Fusarium</i> | Tricotocenos (DON, NIV, Toxina T2, DAS) Zearalenonas Fumonisinias Fusarina Moniliformina |
| <i>Penicillium</i> | Patulina Citrinina Ocratoxina A |
| <i>Alternaria</i> | Alternariol Acido tennazónico |
| <i>Claviceps</i> | Alcaloides |

Los hongos que invaden los granos pueden clasificarse en dos grupos diferentes:

- **Hongos de campo:** invaden los granos antes de la cosecha o tras la siega (siempre previo a la trilladora). Incluye distintas especies que requieren altos niveles de humedad en el grano (20-22%). Son típicos los géneros *Alternaria* y *Fusarium*.
- **Hongos de almacenaje:** invaden el grano a contenidos inferiores de humedad. Géneros como *Aspergillus* y *Penicillium*.

Muchos hongos no son productores de micotoxinas incluso pudiendo invadir el grano, por lo que un grano enmohecido no tiene por qué ser necesariamente tóxico. Del mismo modo, puede detectarse una micotoxina sin la presencia del hongo productor, ya que éste puede haber sido inactivado por procesos químicos o por alteración de los factores ambientales mientras las micotoxinas permanecen en el sustrato.

Hasta el momento, se han identificado más de 200 tipos de **micotoxinas**. Sin embargo, las que pueden encontrarse con mayor frecuencia como contaminantes naturales en los alimentos para animales o humanos son las siguientes: aflatoxinas (B1, B2, G1, G2 M1), ocratoxinas, zearalenona, tricotecenas (vomitoxina, T-2, nivalenol, DON), citrinina, patulina y fumosinas (B1 y B2).

TOXICIDAD DE LAS MICOTOXINAS

Es difícil establecer la etiología y las enfermedades crónicas de una ingestión prolongada de alimentos con ciertos niveles de micotoxinas, ya que los riesgos para la salud humana están sujetos a varios factores:

- Tipo de micotoxina, biodisponibilidad, toxicidad y concentración de la misma en el alimento.
- Sinergismos entre las micotoxinas presentes
- Cantidad del alimento consumido, y continuidad o intermitencia en la ingestión.
- Peso del individuo, estado fisiológico y edad del mismo.

Las micotoxinas pueden tener diversos efectos biológicos y patológicos, entre ellos destacamos los siguientes:

1.- Riesgos cancerígenos

Se han realizado numerosos trabajos científicos con las micotoxinas que, a pesar de las dificultades que entraña la evaluación de este riesgo, demuestran la relación existente entre el consumo de algunas de las micotoxinas y determinados tipos de cáncer.

En el siguiente cuadro se resume la evaluación realizada por el CIRC (Centre International de Recherche contre le Cancer), 1993 y 1998.

| Producto | Grado de evidencia del riesgo cancerígeno | | Evaluación global | |
|--------------------------|---|--------|-------------------|----|
| | Hombre | Animal | | |
| Aflatoxinas | S | S | 1 | |
| Aflatoxina B1 | S | S | | |
| Aflatoxina B2 | | L | | |
| Aflatoxina G1 | | S | | |
| Aflatoxina G2 | | I | | |
| Aflatoxina M1 | I | S | | |
| Citrinina | ADS | L | | 3 |
| Ocratoxina A | I | S | | 2B |
| Patulina | ADS | I | | 3 |
| Esterigmatocistina | ADS | S | | 2B |
| Zearalenona | | L | | |
| Vomitoxina | | I | | |
| Nivalenol | | I | | |
| Toxina T2 | | L | | |
| Toxinas de F.Moliniforme | I | S | 2B | |
| Fumonisina B1 | | L | | |
| Fumonisina B2 | | I | | |
| Fusarina C | | L | | |

ADS = Ausencia de datos suficientes

S = Prueba suficiente

L = Prueba limitada

I = Prueba insuficiente

Grupo 1: El producto es cancerígeno para el hombre

Grupo 2A: El producto es probablemente cancerígeno para el hombre

Grupo 2B: El producto es un posible cancerígeno para el hombre

Grupo 3: No se puede pronunciarse en cuanto al riesgo cancerígeno para el hombre.

2.- Inmunotoxicidad

El impacto de las micotoxinas sobre el sistema inmunitario es importante por varias razones:

- Las micotoxinas pueden producir en los animales una bajada de defensas y aumentar la susceptibilidad a determinadas infecciones, como Cándida, Listeria, Salmonella y Mycobacterium.
- El aumento de infecciones en el animal puede conllevar la transmisión de patógenos al hombre, como es el caso de la Salmonella y la Listeria.
- En el hombre, la ingestión de micotoxinas contribuye igualmente a una disminución de las defensas inmunitarias.

El mecanismo de acción de las micotoxinas sobre el sistema inmunitario es diferente, dependiendo de la toxina en cuestión. Así, la aflatoxina B1 y la toxina T2, provocan una hipoplasia del timo y una depleción de los timocitos, mientras que la Ocratoxina A, provoca una necrosis del tejido linfático, que tiene una función inmunológica diferente a la del timo.

La inmunosupresión se manifiesta de diversas formas, como una disminución de los linfocitos T ó B, una supresión de los anticuerpos o un retraso en la actividad de los macrófagos/neutrófilos. También puede disminuir la actividad del complemento.

La dosis diaria mínima de aflatoxina B1 que induce inmunosupresión es de 0.25 mg/kg de peso vivo.

3.- Otros efectos patológicos

3.1.- Sobre el metabolismo

Las micotoxinas pueden actuar sobre el metabolismo de los glúcidos. Se han descrito diversos efectos de la Ocratoxina A sobre la neoglucogénesis y sobre la actividad de diversas enzimas participantes en el metabolismo del glucógeno y la glucosa. Otras micotoxinas que producen alteraciones en este metabolismo son la citrinina, la aflatoxina B1 y la rubratoxina.

El metabolismo lipídico está afectado por niveles variables de aflatoxinas, ocratoxinas, citrinina y toxinas tricotocénicas.

3.2.- Sobre determinados órganos diana

Estos suelen ser el SNC, sistema gastrointestinal, hígado, riñón y piel. La aflatoxina y la ocratoxina A son hepatotóxicas. La ocratoxina A y la citrinina son nefrotóxicas.

Algunos de los síntomas agudos de estas micotoxicosis se resumen en el cuadro siguiente.

| | Sustrato principal | Principales Efectos tóxicos |
|---------------------|---|--|
| Ocratoxinas | Cereales Verduras Legumbres Quesos Carnes ahumadas | Efecto nefrotóxico. Necrosis hepática Efecto inmunosupresor |
| Patulina | Cereales. Frutas. Quesos | Neurotóxico. Afecciones pulmonares Lesiones de hígado y riñón Carcinomas. Inmunosupresiva. |
| Zearelanona | Cereales y subproductos | Afecciones sistema reproductor. Estrogénica. |
| Citrinina | Cereales y frutas | Efecto nefrotóxico. Inmunosupresiva |
| Tricotecenas | Cereales | Afecciones sistema digestivo, circulatorio, nervioso y piel. |

3.3.- Mortalidad

Del elevado número de micotoxinas, las aflatoxinas son las más estudiadas. Producidas esencialmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, se conocen hasta el momento 18 variedades de aflatoxinas. Los datos relativos a la toxicidad de las más nocivas se reflejan en la siguiente tabla, en orden decreciente de toxicidad.

| AFLATOXINA | LD ₅₀ mg/kg peso vivo |
|--|----------------------------------|
| M1 (Derivado metabólico de la B1 en algunos animales, principalmente vacas) | 0.320 |
| B1 | 0.364 |
| G1 | 0.784 |
| M2 (Derivado metabólico de la B2 en algunos animales) | 1.228 |
| B2 | 1.696 |
| G2 | 3.450 |

Hay que tener en cuenta además las posibles interrelaciones que hay entre las micotoxinas y su efecto sobre la salud, ya que estas pueden ser sinérgicas, aditivas, antagónicas y potenciales.

ANÁLISIS DE MICOTOXINAS

Toma de muestras

Puesto que las micotoxinas no están distribuidas homogéneamente en el grano o en los piensos, la toma de muestra de pienso o grano que proporcione una idea correcta en un análisis de micotoxinas es difícil. Tomas individuales generalmente proporcionan bajas estimaciones del contenido en micotoxinas. De hecho, casi el 90% del error asociado a los análisis de micotoxinas puede ser atribuido a como se tomó la muestra original.

Esto se debe a que aproximadamente un 3% de las semillas en un lote contaminado contienen micotoxinas, y que estas semillas contaminadas no están generalmente igual distribuidas en el lote de granos.

Con motivo de ello, se adoptó la Directiva 98/53/CE de la Comisión de 16 de Julio de 1998, por la que se fijan métodos de toma de muestra y de análisis para el control oficial del contenido máximo de algunos contaminantes en los productos alimenticios. El anexo I de esta directiva establece las pertinentes disposiciones (nº muestras elementales, peso de la muestra elemental, acondicionamiento y conservación de las muestras, etc.) para el control oficial del contenido de aflatoxinas en determinados productos alimenticios, entre ellos cacahuetes, frutos de cáscara, frutos desecados y cereales.

Todos los conceptos recogidos en esta directiva se incorporan al ordenamiento jurídico español mediante el Real Decreto 90/2001 de 2 de febrero.

Técnicas analíticas

Las técnicas analíticas para la detección de micotoxinas están en continuo desarrollo. Existen kits comerciales de análisis basados en la técnica enzimo-inmuno análisis competitivo. El principio básico de estos kits es la afinidad de las aflatoxinas por anticuerpos específicos fijados a un soporte. La reacción de competición entre la aflatoxina y un producto enzimo/conjugado (coloreado) que contiene el kit indica la ausencia de aflatoxina cuando el resultado de la prueba es una señal coloreada, y presencia de las mismas en caso de ausencia de color. Estas técnicas permiten el control de las aflatoxinas in situ, de un modo rápido, fiable y sencillo.

La cromatografía de capa fina es un método de multidetección por el que pueden determinarse la mayoría de las micotoxinas de interés. La extracción de las micotoxinas se realiza en un único disolvente, utilizando posteriormente disolventes de desarrollo específicos y reacciones de identificación selectivas para cada una de las micotoxinas. Mediante este método de multidetección se pueden cuantificar, entre otras, las siguientes micotoxinas con sus correspondientes LD: Aflatoxinas, 2.5µg/kg; Ocratoxina A, 50 µg/kg; Citrinina, 6µg/kg; Zearalenona, 80µg/kg; T-2, 280µg/kg; Patulina 150µg/kg.

Otro método empleado en el análisis de aflatoxinas es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección por fluorescencia. En este caso se emplea una columna de fase inversa (C18), seguida la separación de una reacción de derivatización para proveer a la aflatoxina de la fluorescencia necesaria para poder cuantificarse. Previamente a la separación por HPLC se puede aislar selectivamente una micotoxina en concreto, mediante una columna de inmovilización conteniendo anticuerpos específicos de la micotoxina en cuestión.

PROCEDIMIENTOS PARA REDUCIR LA PRESENCIA DE MICOTOXINAS

El control de las micotoxinas debería ser enfocado dentro de un programa que se suele denominar "Control Integrado".

Esto supone aplicar unas medidas preventivas en todas las fases de producción del alimento en cuestión. Los controles y las medidas a aplicar deben hacerse extensivas a las siguientes etapas:

- Cultivo del alimento:
 - Selección de las variedades
 - Control de insectos y plagas
 - Fertilización
 - Rotación de cultivos
- Período de cosecha:
 - Procedimiento de recogida
 - Limpieza
 - Secado
- Almacenamiento, transporte y distribución:
 - Control de insectos
 - Control de humedad
 - Control de temperatura
 - Limpieza de las instalaciones

Las medidas a aplicar pueden variar dependiendo de la micotoxina que se quiera controlar.

En cuanto a los tratamientos industriales de los alimentos contaminados con micotoxinas, éstos pueden ser:

A) Métodos físicos de eliminación

A.1.- Limpieza y separación

Se trata de eliminar aquellos granos y fracciones más contaminadas. Se pueden aplicar métodos manuales de separación y métodos de flotación y de segregación por densidad, por ejemplo para el maíz o el cacahuete.

En efecto, en el caso del cacahuete, el 95% de las aflatoxinas se localizan en los granos que flotan. En el maíz, los granos rotos contienen más micotoxinas que los granos enteros.

El inconveniente de estos métodos es que no permiten la separación total de las fracciones contaminadas.

A.2.- Molienda húmeda

Se sabe que la aflatoxina B1 y la zearalenona, durante la molienda húmeda se concentran en las aguas de lavado y en la fibra. En menor medida en el germen y el gluten. Sin embargo, el almidón resultante está prácticamente desprovisto de aflatoxinas.

Por tanto, es un procedimiento interesante para el almidón obtenido, pero no así para los "subproductos" utilizados en alimentación animal, en los que por el contrario, las micotoxinas sufrirían un proceso de concentración.

A.3.- Molienda en seco

En el caso del arroz, el 95% de las aflatoxinas están en el salvado. En el trigo también la mayor parte se encuentra en las zonas periféricas. En el maíz, la aflatoxina se encuentra fundamentalmente en el germen y las envueltas, no así la zearalenona, que puede hallarse en todas las fracciones.

Se comprende por tanto, el interés de una separación en seco, en el caso de determinadas partidas contaminadas, en particular por aflatoxinas.

B) Métodos físicos de detoxificación

B.1.- Desactivación térmica

Las aflatoxinas son bastante resistentes a la temperatura y por lo tanto, no se destruyen completamente por procedimientos como el autoclave, la ebullición en agua, u otros procesos térmicos. Por ejemplo, la aflatoxina M1 es estable durante la pasteurización de la leche.

Sin embargo, las aflatoxinas pueden destruirse, por ejemplo, con una fritura en aceite o en seco, en el caso de los cacahuetes. También parece ser una buena opción el tostado en microondas.

La concentración de fumonisina desciende cuando los alimentos se tratan con calor, a temperaturas superiores a 150°, pero no se puede garantizar la detoxificación total.

También existen algunos datos de eliminación parcial de ocratoxinas.

B.2.- Irradiación

No existe mucha información sobre el efecto de irradiar alimentos contaminados con radiaciones gamma y UV. Son además procesos costosos y existe cierta reticencia a aplicarlos.

C) Adsorción

Las aflatoxinas se adsorben con gran eficacia a diversos materiales, cuando están en solución acuosa. Se han empleado carbones activos y ciertos aluminosilicatos. Estos últimos se utilizan en alimentación animal con eficacia, ya que diversos estudios demuestran que el grado de adsorción puede ser superior al 90%. No sucede lo mismo con otras micotoxinas, por ejemplo la zearalenona, para la cual este mecanismo se muestra muy ineficaz.

D) Degradación química

El tratamiento con NH₃ ha sido objeto de numerosos estudios. Se utiliza actualmente en alimentos como la semilla de algodón y el cacahuete, particularmente contra aflatoxinas y fumonisina.

Es particularmente eficaz si se realiza a altas temperaturas y presión elevada.

Hay otros tratamientos físico-químicos utilizados, según el caso, por ejemplo con bisulfito sódico en autoclave contra aflatoxinas, y utilizando glucosa o fructosa y calor para inactivar las fumonisinas.

Un tratamiento habitual es el realizado a base de álcalis y calor en el maíz, que reduce el nivel de aflatoxinas y fumonisina. Se denomina "nixtamalización". Su eficacia es controvertida y se ha sugerido modificar el mismo, usando peróxido de hidrógeno y bicarbonato sódico.

Como se puede afirmar que ningún tratamiento por sí mismo puede eliminar totalmente el agente contaminante, el control debe realizarse desde un punto de vista integrado.

REGLAMENTACION DE MICOTOXINAS

En alimentación animal:

Se rige por el [Real Decreto 747/2001, de 29 de junio](#), relativa a sustancias y productos indeseables en alimentación animal. Actualmente sólo se contemplan límites para la aflatoxina B1.

| SUSTRATO | Aflatoxina B1(µg/kg) |
|--|----------------------|
| Materias primas destinadas a elaboración de piensos | 50 |
| Excepto cacahuete copra, palmiste, semilla algodón, maíz y sus derivados | 20 |
| Alimentos completos: | |
| • Bovinos, ovinos y caprino, excepto: | 50 |
| Ganado lechero | 5 |
| Terneros y corderos | 10 |
| • Cerdos y aves corral | 20 |
| • Otros piensos completos | 10 |
| Alimentos Complementarios | |
| • Bovinos, ovinos, caprinos (excepto ganado lechero) | 50 |
| • Cerdos y aves de corral | 30 |
| • Otros | 5 |

En alimentación humana:

Respecto al consumo directo por parte del hombre, según el Reglamento 466/2001 de la Comisión, de 8 de marzo de 2001 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en productos alimenticios, los niveles máximos permitidos de aflatoxina son:

- Cacahuetes:

Destinados a consumo humano directo o como ingredientes de alimentos: 2 ppb de aflatoxina B1 y 4 ppb de aflatoxina total.

Destinados a tratamiento físicos previos al consumo humano: 8 ppb de aflatoxina B1 y 15 ppb de aflatoxina total.

- Nueces, frutos secos y productos procesados de estos:

Destinados a consumo humano directo o ingredientes de alimentos: 2 ppb de aflatoxina B1 y 4 ppb de aflatoxina total.

Destinados a tratamiento físicos previos al consumo humano: 5 ppb de aflatoxina B1 y 10 ppb de aflatoxina total.

- Cereales y productos procesados de estos Destinados a consumo humano directo o como ingredientes de alimentos: 2 ppb de aflatoxina B1 y 4 ppb de aflatoxina total.

- Leche: cruda, para la elaboración de productos alimentarios derivados y leche tratada con calor: 0.05 ppb de aflatoxina M1

El **Real Decreto 90/2001**, de 2 de febrero de 2001, establece los métodos de toma de muestra y de análisis para el control oficial del contenido máximo de aflatoxinas en cacahuetes, frutos de cáscara, frutos desecados, cereales, leche y los productos derivados de su transformación.

El anteproyecto de niveles máximos para OCRATOXINA A en los cereales y productos de cereales y productos de cereales, recoge la posición de la Comisión Europea, que respalda el nivel máximo de 5 µg/kg en los cereales sin transformar, pero debaten la fijación de un límite inferior para los productos cereales transformados, necesario para la protección de la salud humana.