



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

---

## FACULTAD DE QUÍMICA

*Las micotoxinas en los alimentos, su relación con  
la salud humana y con el calentamiento global.*

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

FERNANDO DAVID GONZÁLEZ GARCÍA.



CIUDAD DE MÉXICO,

2018.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**                   **Profesor: HERMILO LEAL LARA.**

**VOCAL:**                           **Profesor: ABEL GUTIÉRREZ RAMOS.**

**SECRETARIO:**               **Profesor: ALEJANDRO CAMACHO CRUZ.**

**1er. SUPLENTE:**               **Profesor: ALEIDA MINA CETINA.**

**2° SUPLENTE:**               **Profesor: GENARO JIMENEZ REYES.**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX.**

**ASESOR DEL TEMA:**

**SUSTENTANTE (S):**

---

**DR. HERMILO LEAL LARA.**

---

**FERNANDO DAVID GONZÁLEZ GARCÍA.**

# ÍNDICE

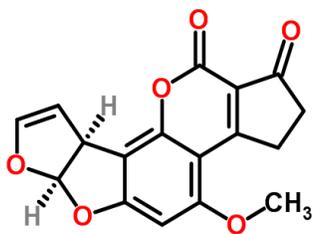
	Página
<b>ABREVIATURAS.</b>	<b>1</b>
<b>ESTRUCTURAS QUÍMICAS.</b>	<b>2</b>
<b>RESUMEN.</b>	<b>3</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN.</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Planteamiento del problema.</b>	<b>4</b>
<b>1.2 Objetivos.</b>	<b>6</b>
<b>1.3 Hipótesis.</b>	<b>6</b>
<b>2 INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA.</b>	<b>7</b>
2.1 Micotoxinas.	7
2.1.1 Generalidades.	7
2.1.2 Principales micotoxinas.	11
2.1.3 Múltiples micotoxinas.	15
2.1.4 Micotoxinas enmascaradas.	19
2.1.5 Micotoxinas emergentes.	22
2.2 Micotoxinas en Alimentos.	23
2.2.1 Principales alimentos contaminados.	23
2.2.2 Regulación.	26
2.2.3 Métodos de prevención, control y eliminación.	30
2.2.3.1 Métodos físicos y químicos.	32
2.2.3.2 Métodos biológicos.	33
2.2.4 Métodos de detección.	38
2.2.4.1 Cromatográficos.	39
2.2.4.2 Inmunoquímicos.	43
2.3 Micotoxinas y la Salud Humana.	47
2.3.1 Micotoxicosis.	47
2.3.2 Células y moléculas afectadas.	49
2.3.3 Tratamiento con probióticos.	52
2.4 Micotoxinas y el Calentamiento Global.	53

2.4.1 Cambio Climático (CC)	53
2.4.2 Seguridad alimentaria.	54
2.4.3 Predicción de impacto o riesgos.	57
<b>3. DISCUSIÓN.</b>	<b>62</b>
<b>4. CONCLUSIONES.</b>	<b>76</b>
<b>5. BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>80</b>

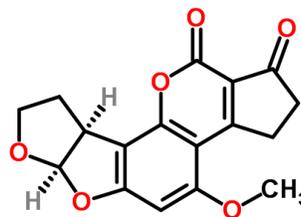
## ABREVIATURAS.

Abreviatura	Descripción
AFs	Aflatoxinas
AFB, AFG, AFM	Aflatoxina B, Aflatoxina G, Aflatoxina M
BACs	Agentes de Control Biológico
BEA	Bauvericina
CC	Cambio Climático
CG	Cromatografía de Gas
CODEX	Código de los Alimentos
DON	Deoxinivalenol
DON-3-Gluc	DON-3-Glucósido
ENNs	Enantinas
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
ER $\alpha$ Y ER $\beta$	Receptor de Estrógeno Alfa y Receptor de Estrógenos Beta
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	Food and Drug Administration (Administración de medicamentos y alimentos)
FLD	Detector de Flujo Lateral
FUMs, FB1, FB2	Fumonisinias, Fumonisina B1, Fumonisina B2
GAP	Buenas Prácticas de Agricultura
GCL	Glutamina Cisteína Ligasa
GHGEs	Emisiones de Gases Invernadero
GI	Gastro Intestinal
GMP	Buenas Prácticas de Manufacturación
GR	Glutación Reductasa
GS	Glutación Cintasa
GSH	Glutación Reducido
GSSG	Glutación Oxidado
HACCP	Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control
HCC	Carcinoma Hepato Celular
HPLC-FLD	Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento-Fluorescencia
IARC	Agencia Internacional de Investigación del Cáncer
LABs	Bacterias del Ácido Láctico
LC-MS/MS	Cromatografía Líquida-Espectrometría de Masas acoplado MS
m/z	Masa/carga
MON	Moniliformina
MS	Espectrometría de Masas
$\mu$ TAS	Sistema de Análisis Micro Total
NIV	Nivalenol
NrF2	Factor Nuclear Eritroide 2-Relacionado a Factor 2
ONU	Organización de las Naciones Unidas
OMS	Organización Mundial de la Salud
OTA	Ocratoxina A
OTs	Ocratoxinas
QuEChERS	Fácil, Rápido, Barato, Efectivo, Robusto y Seguro
STE	Esterigmatocistina
TCTs	Tricotecenos
TeA	Ácido Tenuazónico
TTF	Hongo Termófilo y Termotolerante
UE	Unión Europea
US	Estados Unidos
WHO	Organización Mundial de la Salud
ZEA	Zearalenona
2-PE	2-Feniletanol

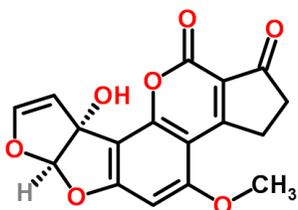
## ESTRUCTURAS QUÍMICAS.



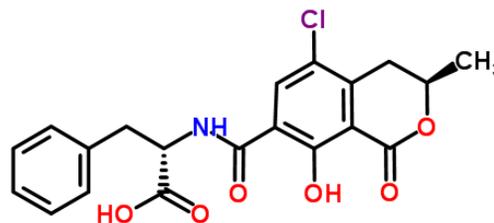
Aflatoxina B1 (AFB1)



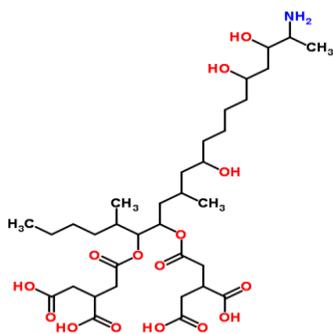
Aflatoxina B2 (AFB2)



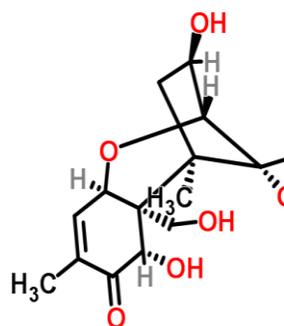
Aflatoxina M1 (AFM1)



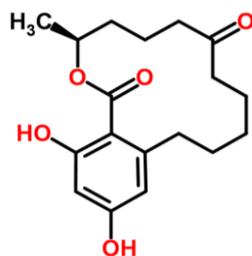
Ocratoxina A (OTA)



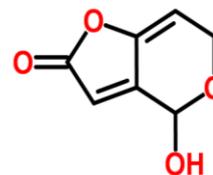
Fumonisin B1 (FB1)



Deoxinevalenol (DON)



Zearalenona (ZEA)



Patulina (PAT)

Nota: Imágenes obtenidas de [www.chemspider.com](http://www.chemspider.com)

## RESUMEN.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos que producen las micotoxinas más comunes que afectan los alimentos como son las Ocratoxinas (OTs), Zearalenona (ZEA), Aflatoxinas (AFs), Patulina (PAT), Fumonisin (FUMs) y Deoxinivalenol (DON). Estas toxinas se encuentran con mayor frecuencia en áreas con clima caluroso y húmedo, afectando plantas, cereales, piensos, vegetales, frutas u otros productos agrícolas y animales. Durante la pre-cosecha, post-cosecha, almacenamiento y manipulación, puede haber contaminación por una o múltiples micotoxinas.

Una vez ingerido el alimento con micotoxinas por los animales y el ser humano, puede provocar daños a la salud (micotoxicosis) por toxicidad en órganos como el hígado, riñones, sistema nervioso e inmunológico como los más notables. Existen nuevos estudios sobre el posible uso de probióticos para la desintoxicación en el ser humano causada por las micotoxinas.

No existe en nuestros días un método eficaz y seguro que elimine el riesgo de la presencia de las micotoxinas en los alimentos, ya que estas difieren en su estructura química, toxicidad y mecanismo de acción. Actualmente, para la descontaminación de micotoxinas se utilizan principalmente los métodos físico-químicos y recientemente biológicos, los cuales se encuentran en desarrollo y evaluación.

Los métodos de detección permiten evaluar y monitorear alimentos para seguridad del consumidor y cumplir con la regulación legal de las micotoxinas. En la actualidad, se han presentado avances en el uso de técnicas analíticas sensibles como los inmunoensayos y la cromatografía.

Finalmente, se han estado presentando desde hace unas décadas una serie de cambios en el clima de una manera no habitual en diferentes partes del planeta. Las alteraciones en el ambiente como la temperatura, humedad y CO<sub>2</sub> provocadas por el cambio climático, podrían afectar la seguridad alimentaria en un futuro a través de los hongos filamentosos productores de micotoxinas.

# 1. INTRODUCCIÓN.

## 1.1 Planteamiento del Problema.

Los hongos filamentosos productores de micotoxinas han tenido una relación con los alimentos desde que el hombre inventó la agricultura y desde entonces han ocasionado diversas enfermedades hasta nuestros días. Por tal motivo, aunque desde el siglo pasado comenzó su estudio, en la actualidad falta más investigación sobre la toxicidad, exposición y ocurrencia por parte de todas las personas involucradas en el conocimiento de las micotoxinas. Adicionalmente, reviste gran importancia la difusión de información elemental para agricultores, productores y consumidores de alimentos.

Las medidas de prevención deberían ser suficientes para eliminar o disminuir las micotoxinas a niveles inofensivos en los alimentos. Sin embargo, el consumo de alimentos contaminados principalmente en los países en desarrollo sigue siendo la más importante fuente de intoxicación por micotoxinas que puede ocasionar daños en órganos tanto del cuerpo humano como animal. Por esta razón, sería importante saber si los probióticos pueden tratar de una forma eficaz y segura los problemas de micotoxicosis.

Hasta nuestros días, no existen más alternativas para descontaminar las micotoxinas que los métodos físico-químicos que buscan prevenir, controlar y eliminar las micotoxinas de los alimentos a pesar de sus desventajas. No obstante, se están realizando investigaciones sobre varios métodos biológicos que prometen ayudar o desplazar a los métodos anteriores. También, una herramienta necesaria para la detección, monitoreo y legislación de las micotoxinas, lo representan las técnicas analíticas que siguen teniendo algunos inconvenientes por solucionar. Estas técnicas, aún continúan siendo usadas para la detección de una sola micotoxina en productos alimenticios, cuando la mayoría de las veces hay múltiples micotoxinas y otros conjugados de micotoxinas presentes en los alimentos.

Hay cambios en el medio ambiente que se están presentando en diferentes partes del planeta por la contaminación ocasionada principalmente por el hombre. El cambio climático está modificando factores como la temperatura y la humedad que se relacionan directamente con la producción y abundancia de hongos micotoxigénicos. En este caso, la relación cambio climático-hongo micotoxigénico podría generar un riesgo en la seguridad alimentaria al no estar preparados ante el surgimiento de nuevas micotoxinas con potencial toxigénico o una modificación de la geografía actual de las principales micotoxinas.

## **1.2 Objetivos.**

- Obtener información relevante y actual de los hongos filamentosos toxigénicos, micotoxinas principales, emergentes, múltiples y enmascaradas.
- Conocer los principales alimentos contaminados por micotoxinas y su regulación.
- Presentar los métodos principales para descontaminar las micotoxinas y las técnicas analíticas para su detección en la actualidad.
- Informar sobre los principales daños a órganos en el ser humano relacionados a la ingesta de micotoxinas y el uso de probióticos en el tratamiento contra la micotoxicosis.
- Concientizar sobre las modificaciones en el ambiente que están sucediendo o pueden presentarse por el cambio climático, así como la relación que tiene el cambio climático con las micotoxinas.

## **1.3 Hipótesis.**

- I. Los efectos negativos en los órganos del cuerpo humano relacionados a la ingesta de micotoxinas podrán ser reducidos por medio de métodos eficientes de prevención, control, detección y descontaminación de productos alimenticios, así como una legislación segura.**
- II. El cambio climático modificará en un futuro próximo la población de las micotoxinas actuales y la aparición de micotoxinas emergentes que pueden afectar la seguridad alimentaria.**

## 2. INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA.

### 2.1 Micotoxinas.

#### 2.1.1 Generalidades.

Las Micotoxinas han sido responsables de serias calamidades en humanos y animales a través de la historia. Una de las más importantes ha sido el ergotismo, debido al crecimiento del hongo *Claviceps purpurea* en granos de centeno, el cual mató a cientos de miles de personas en Europa en el pasado milenio. La Aleukia Tóxica Alimentaria, causada por la toxina T-2 producida por *Fusarium sporotrichioides* en grano, fue responsable de la muerte de al menos 100,000 rusos entre 1942-1948, y la stachybotryotoxicosis, causada por el crecimiento por *Stachybotrys chartarum* en heno causó la muerte a decenas de miles de caballos en la URSS en 1930 (Pitt, 2014).

El concepto de micotoxina se encontró por primera vez en artículos de investigación en 1955 y para 1960 se iniciaron estudios exhaustivos sobre el tema en muchos países. Este fue el año de la enfermedad de los pavos en Inglaterra, donde cien millones de pavos murieron por el consumo de maní brasileño contaminado con la toxina. Los estudios sobre micotoxinas en los años de 1960-1975 resultaron en la identificación y análisis de aproximadamente 400 micotoxinas, lo cual resultó en la publicación de 1000 artículos incluyendo libros (Waskiewicz, 2014). Una de las mejores definiciones de micotoxinas (Mikes=Hongo y Toxicum=venenoso) (Aswani Kumar *et al.*, 2016) es que son productos naturales producidos por hongos que evocan una respuesta tóxica cuando se introducen en bajas concentraciones en vertebrados superiores y otros animales por una ruta natural (Gruber-Dorninger *et al.*, 2016).

Un análisis detallado de registros del clima y datos concernientes a la producción de cereales en combinación con reportes históricos referentes a intoxicaciones, constituye evidencia confiable que muestra que las toxinas han jugado un papel importante en las

enfermedades de la Europa medieval, a través de la época de la colonia en América y hasta nuestros días. (Waskiewicz, 2014).

Una interesante característica de los hongos microscópicos es su capacidad de producir una amplia gama de metabolitos secundarios (Waskiewicz, 2014) de bajo peso molecular <1000 Da (Escrivá *et al.*, 2017). Estos hongos están adaptados a colonizar y desarrollarse sobre sustratos con un extenso rango de humedad y contenido de nutrientes. Actualmente, más de 400 micotoxinas junto con sus derivados han sido identificadas. Estas se componen de diversas estructuras químicas, frecuentemente siendo aromáticas, a veces alifáticas y en ocasiones son hidrocarburos típicamente caracterizados por un bajo peso molecular. Químicamente, estos compuestos están caracterizados por su excepcional estabilidad, la cual resulta del hecho que no son degradadas aún por la aplicación de procesamientos térmicos (Waskiewicz, 2014).

La presencia física de hongos formadores de toxinas es una precondition necesaria, pero esta no es siempre suficiente para la formación de micotoxinas y afortunadamente, sus metabolitos tóxicos no son detectados en cada muestra de hongos que formen toxinas. Los dos principales factores que afectan el crecimiento de los hongos y la formación de las micotoxinas, antes y después de la cosecha, son la temperatura y la actividad del agua. Un rol esencial también es jugado por un sustrato apropiado sobre el cual el hongo estará desarrollándose, la presencia de micro y macro elementos, así como de las interacciones sinérgicas y antagónicas de la microbiota que acompaña al hongo. El crecimiento de los hongos se ve favorecido por condiciones de alto contenido de humedad en el almacenamiento (por arriba del 15%) en combinación con una temperatura cercana al óptimo para el desarrollo de los hongos (aprox. 25°C). Una inadecuada eliminación de la cáscara y de polvos así como un deficiente cribado del grano facilitan también el desarrollo de los hongos (Waskiewicz, 2014).

La importancia biológica de muchos hongos no es conocida y en el caso de otros, sus funciones biológicas están parcialmente caracterizadas como en el caso de la producción de antibióticos y de los factores de patogenicidad en las interacciones

hongo-planta u hongo-animal, así como en la comunicación molecular. La clasificación de los metabolitos secundarios como micotoxinas está por lo tanto basada desde la perspectiva humana y no tiene una correlación real respecto a la función biológica de los metabolitos secundarios producidos. Ya se ha notado desde hace tiempo que la producción de metabolitos secundarios no es siempre un rasgo constante y la biosíntesis de los metabolitos secundarios no es esencial para el crecimiento de los hongos, al menos bajo condiciones de laboratorio. Existen diversas hipótesis acerca de la importancia de la biosíntesis de metabolitos secundarios por parte del hongo; puede contribuir o estar relacionado a la diferenciación o bien ser subproductos del metabolismo primario, también antibióticos para suprimir el crecimiento de microorganismos comensales o para la protección de predadores de estructuras de reproducción (Geisen *et al.*, 2017).

Los hongos filamentosos son miembros de un gran grupo de Eucariontes que incluyen algunas levaduras, mohos y algunos hongos, los cuales se encuentran clasificados como un reino separado de las plantas, animales y bacterias. A los hongos filamentosos también se les puede llamar mohos por que poseen hifas, las cuales forman ramificaciones que constituyen su micelio. Un gran número de hongos filamentosos conocidos caen bajo el Phylum “Ascomycota”, el cual también es parte del sub-reino Dikarya. Los hongos filamentosos comprenden muchos géneros de hongos incluyendo *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Emericella*, *Eurotium*, *Paecilomyces*, *Curvularia* (Egbuta *et al.*, 2016). Muchos hongos micotoxigénicos son de amplia incidencia y de hecho, en algunos casos, parecen tener un fuerte vínculo ecológico con muchos cultivos usados para suministrar alimento humano. La flora natural de hongos que se encuentra presente en conjunción con los alimentos está dominada por tres géneros: *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Ver Tabla 1). Los componentes micotoxigénicos pueden ser divididos dentro de tres categorías de riesgos (Ver Tabla 2) sobre las bases tanto de su toxicidad como de su ocurrencia en alimentos o piensos (Pitt, 2014).

**Tabla 1. Características de los géneros de hongos de mayor ocurrencia e importancia con relación a las micotoxinas (Egbuta et al., 2016).**

<i>Aspergillus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Más abundante y distribuido globalmente.</li> <li>➤ Hongo de tierra, ubicuo y cosmopolita.</li> <li>➤ Aislado de tierra, partes de plantas e interiores.</li> <li>➤ Crece con baja actividad de agua, en alimentos y piensos almacenados.</li> <li>➤ <i>A. fumigatus</i> es el más aislado, seguido de <i>A. flavus</i> y <i>A. niger</i>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Ampliamente distribuido en plantas y tierra.</li> <li>➤ Patógeno primario de plantas.</li> <li>➤ Requiere alta actividad de agua para crecer.</li> <li>➤ Ligado a varias enfermedades e infecciones en humanos y animales.</li> <li>➤ Especies más comunes son: <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>F. verticillioides</i></li> <li>➤ <i>F. graminearum</i></li> <li>➤ <i>F. proliferatum</i></li> <li>➤ <i>F. sporotrichioides</i></li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Descomponedor más común en la naturaleza.</li> <li>➤ Relacionado con <i>Aspergillus</i>, pero menos termo-tolerante y más prominente en área más frías.</li> <li>➤ Más diverso en especies y rango de hábitats. Las especies incluyen: <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>P. citreonigum</i></li> <li>➤ <i>P. polonicum</i></li> <li>➤ <i>P. digitatum</i></li> <li>➤ <i>P. chrysogenum</i></li> <li>➤ <i>P. roqueforti</i></li> </ul> </li> </ul>

**Tabla 2. Categorías por riesgo de las micotoxinas (Pitt, 2014).**

Micotoxinas principales.		Micotoxinas Menores.		Micotoxinas de menor importancia.	
<b>Toxicidad:</b>					
Causa enfermedad en humanos y animales.		En concentraciones tóxicas en ocasiones puede causar enfermedades.		Con demostrada toxicidad, no se conocen enfermedades debido a la poca ocurrencia en alimentos y/o piensos.	
<b>Micotoxinas y Género que la produce:</b>					
AFs	<i>Aspergillus</i>	TeA	<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> y otros hongos.	Rubratoxin A y B	<i>Penicillium</i>
OTA	<i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>	Penitrem A	<i>Penicillium</i>	STE	<i>Aspergillus</i>
FUM, DON y ZEA.	<i>Fusarium</i>	Alcaloides tóxicos	<i>Claviceps purpurea</i>	MON	<i>Fusarium</i>

### 2.1.2 Principales micotoxinas.

**Aflatoxinas (AFs):** Entre las micotoxinas que afectan los alimentos y piensos, las AFs son las principales micotoxinas en los alimentos que dañan la salud de humanos y animales. La magnitud de la toxicidad por parte de las AFs varía de acuerdo a los productos como son el maíz, cacahuete, pistaches, nuez de Brasil y cocos. Dichos productos son altamente propensos a la contaminación de AFs. A pesar de varias investigaciones y medidas de control, las AFs siguen siendo la mayor amenaza para los alimentos y productos agrícolas (Kumar *et al.*, 2017). Las cuatro principales AFs producidas naturalmente son AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2, las 2 primeras producidas por *A. flavus* y las 4 por *A. parasiticus* (Bennett y Klich, 2003). La interacción entre la actividad del agua y la temperatura tiene un notable efecto sobre *Aspergillus spp.* y la producción de AFs. De acuerdo a estudios, la biomasa del hongo y la producción de AFB1 fueron reportadas como las más altas a 28°C y una actividad de agua (*aw*) de 0.96. El incremento de la temperatura a 37°C y el estrés de agua reduce significativamente la producción de AFB1, a pesar del crecimiento de *A. flavus* bajo estas condiciones. La adición de CO<sub>2</sub> bajo estas mismas condiciones de temperatura y actividad de agua incrementa la producción de AFB1 (Kumar *et al.*, 2017).

**Mecanismo de acción (AFs):** Químicamente son derivados de difuranocumarinas, en los cuales, el grupo difurano está unido en un lado por el núcleo de la cumarina, mientras un anillo de pentanona está unido al lado contrario en el caso de las AFs y a la serie de AFs-B (Bennett y Klich, 2003). La AFB1 reduce la expresión de la citocina IL-4, pero incrementa la expresión de citocinas pro-inflamatorias INF- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  por células NK. Además, causa reducción en la eficiencia de inmunización en niños que guía a incrementar el riesgo de infecciones. AFB1 es activado en el hígado por la enzima citocromo p450, la cual es convertida en AFB1-8, 9-epóxido, la cual es responsable de efectos carcinogénicos en el riñón (Kumar *et al.*, 2017).

**Fumonisin (FUMs):** Micotoxinas producidas en clima de calor seco y seguido de una alta humedad principalmente por especies de *Fusarium verticillioides* (formalmente *Fusarium moniliforme*), *Fusarium proliferatum* y *Fusarium nygamai* (Bennett y Klich, 2003). Diferentes factores ambientales como la temperatura, daño por insectos, humedad y lluvia durante el periodo de la pre-cosecha y cosecha podrían incrementar la formación de FUMs (Yazar y Omurtag, 2008). Se han descubierto varias series de FUMs: A, B, C y P. La FB1 es la más común en la naturaleza al comprender aproximadamente el 75% del total de FUMs. Las FUMs son toxinas termoestables que se encuentran generalmente en maíz y otros granos como el arroz. El contenido de toxinas es significativamente reducido en procesos donde la temperatura exceda los 150°C. La cocción alcalina y el calentamiento (nixtamalización) del maíz inducen la hidrólisis de FUMs, pero no desintoxica completamente el maíz contaminado. Adicionalmente, estas pueden ser convertidas en productos de toxicidad desconocida (Karimia y Mehrib, 2014).

**Mecanismo de acción (FUMs):** Las FUMs o su forma hidrolizada no son metabolizadas por enzimas de fase I y II. Así, su mecanismo de acción no depende de su activación metabólica. Hay una similitud entre las FUMs y las bases esfingoides: esfinganina (Sa) y esfingosina (So) (Yazar y Omurtag, 2008). Por esta razón, estas micotoxinas pueden interferir con la síntesis de novo de glicosfingolípidos complejos, subsecuente a la interrupción del metabolismo de los esfingolípidos vía la inhibición de ceramida sintasa (Karimia y Mehrib, 2014).

**Ocratoxinas (OTs):** Estas pertenecen a la familia de micotoxinas producidas por metabolitos secundarios de *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.* Los diferentes tipos de OTs se producen naturalmente, dentro de las cuales se encuentra la principal toxina de este grupo, la Ocratoxina A (OTA). Algunos alimentos que se encuentran contaminados por esta micotoxina son cereales, maíz, trigo, cebada, avena y granos de café. Los cereales son la principal fuente de contaminación por OTA, donde el 50% del consumo humano diario de OTA es debido al consumo de cereales o sus derivados. Recientemente, el vino se considera la segunda fuente de consumo humano de OTA.

La OTA tiene resistencia a la acidez y alta temperatura, por lo que una vez que los alimentos están contaminados, es muy difícil remover esta molécula (Karimia y Mehrib, 2014).

**Mecanismo de Acción (OTs):** Se han demostrado varios mecanismos importantes relacionados con la toxicidad de la OTA. Dentro de estos se encuentran la inhibición de la síntesis proteica, la interferencia con sistemas metabólicos que involucran fenilalanina, la inducción de la peroxidación de lípidos, la interrupción de la homeostasis del calcio, la inhibición de la respiración mitocondrial y daño al ADN (Ahmed y Jutta, 2015).

**Tricotecenos (TCTs):** Son uno de los mayores grupos de micotoxinas producidas por muchas especies de hongos del género *Fusarium* (más frecuente), *Myrothecium*, *Spicellum*, *Stachybotrys*, *Cephalosporium*, *Trichoderma*, y *Trichothecium*. Basados en su estructura, han sido clasificados dentro de 4 grupos (Tipo A, B, C y D). Las más importantes toxinas del grupo A y B son la toxina T-2 y Deoxinivalenol (DON) respectivamente (Karimia y Mehrib, 2014). Los TCTs son de bajo peso molecular, no volátiles y moléculas anfipáticas que pueden cruzar pasivamente a través de la membrana celular. Son termoestables y no son degradadas durante el procesamiento normal de los alimentos y de autoclave (Yazar y Omurtag, 2008).

**Mecanismo de Acción (TCTs):** Los TCTs tienen una alta afinidad de unión por la subunidad ribosomal 60s y pueden inhibir la síntesis de proteína a través de la interrupción de las etapas de inicio, elongación y terminación en la cadena polipeptídica. Estas micotoxinas pueden interactuar con el grupo sulfhidrilo de las proteínas (Karimia y Mehrib, 2014), alterar la estructura de membrana y consecuentemente, inducir la peroxidación de lípidos (Yazar y Omurtag, 2008).

**Zearalenone (ZEA):** Es un metabolito secundario biosintetizado por una variedad de hongos de *Fusarium*, incluye: *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* y *F. semitectum* (Karimia y Mehrib, 2014). Las principales fuentes de

esta micotoxina son el trigo, maíz, sorgo y cebada. Los dos factores de importancia para la producción de ZEA son la presencia de oxígeno y humedad. Es de notar, que la ZEA y sus metabolitos son estables durante el almacenaje, molienda, procesamiento y cocción (Yazar y Omurtag, 2008). Una vez administrado oralmente, la ZEA se absorbe rápidamente y extensivamente desde el tracto gastrointestinal en animales y humanos (Karimia y Mehrib, 2014).

Mecanismo de acción (ZEA): La ZEA está clasificada como un estrógeno no esteroideo o micoestrógeno. Se ha demostrado que la ZEA y algunos de sus derivados se unen a receptores (ER $\alpha$  y ER $\beta$ ) presentes en diferentes órganos como es el útero, seno y glándula adrenal y pituitaria (Karimia y Mehrib, 2014).

**Patulina (PAT):** Es producida por diferentes mohos, incluyendo a *Penicillium* y *Aspergillus*. En un principio fue aislado como antibiótico y después mostró que adicionalmente tenía actividad antimicrobiana, antiviral y anti protozoo. Más adelante fue clasificada como micotoxina por tener efectos tóxicos en plantas y animales. El principal patógeno de la manzana que forma la PAT es *Penicillium expansum*, esta causa decaimiento en la manzana llamado 'raíz del moho azul'. La PAT se produce principalmente en manzanas y otras frutas como la pera, durazno y uva. La mayor exposición a la PAT ocurre a través del consumo del vino de manzana y jugo de manzana. La óptima temperatura para el crecimiento de *Penicillium expansum* y la formación de PAT en frutas es de 25°C. La formación de la PAT decrece mientras la temperatura se reduce, aunque a temperatura baja (0-4°C) se puede producir esta micotoxina (PAT) (Karimia y Mehrib, 2014).

Mecanismo de acción (PAT): Esta micotoxina tiene una estructura electrofílica y puede interactuar con grupos nucleofílicos y dañar estructuras de ADN. Tiene una alta afinidad por grupos sulfhidrilos, reaccionando con estos grupos en las proteínas. Esta micotoxina inhibe funciones de muchas enzimas como ATPasa, fosfatasa alcalina y aldolasa. La PAT induce citotoxicidad en células de mamíferos a través de la reducción

celular de GSH y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Karimia y Mehrib, 2014).

### **2.1.3 Múltiples micotoxinas.**

Estudios recientes destacan el hecho de que los humanos están más expuestos a múltiples micotoxinas que a una sola, dada la natural co-ocurrencia de las micotoxinas en los alimentos y la globalización de los mercados de alimentos. Como consecuencia, ha aumentado la preocupación acerca de los riesgos de salud por la exposición a mezclas de micotoxinas en humanos y animales. Además, las regulaciones de los gobiernos y las industrias usualmente se basan en toxicidades individuales y no toman en cuenta la compleja dinámica asociada a interacciones entre grupos co-ocurrentes de micotoxinas (Assunção *et al.*, 2016).

Como metabolitos secundarios de hongos, las micotoxinas se encuentran como contaminantes naturales de numerosos productos de origen vegetal, especialmente en granos de cereal, pero también en nueces, semillas oleaginosas, frutas, frutas secas, vegetales, granos de cocoa y café, vino, cerveza, hierbas y especias. También, pueden ser encontradas en alimentos derivados de animales como carne, huevo, leche y derivados lácteos si es que los animales consumen productos contaminados. Después de la ingestión hecha por el consumidor, el epitelio intestinal es la primera barrera de defensa del hospedador contra las micotoxinas. Sin embargo, aunque estas células son las primeras en estar expuestas a las micotoxinas y a las más altas dosis que otras células tisulares, el estudio sobre el efecto de la mezcla de micotoxinas es escaso (Smith *et al.*, 2016).

La natural co-ocurrencia de micotoxinas en granos de cereal puede ser explicada por las siguientes razones; la mayoría de los hongos son capaces de producir varias micotoxinas concurrentemente y los productos alimenticios pueden ser contaminados por varios hongos simultáneamente o en rápida sucesión. Esto está soportado por una

encuesta mundial donde indica que el 48% de 7049 muestras de alimentos analizados estaban contaminados por dos o más micotoxinas. La toxicidad de las micotoxinas combinadas no siempre puede ser predicha basándose sobre su toxicidad individual (Rodrigues y Naehrer, 2012).

Varios estudios reportan la co-ocurrencia natural de las micotoxinas por todo el mundo, la mayoría de ellas hacen referencia a las micotoxinas principales AFs, OTA, ZEA y TCTs (especialmente DON). Del total de datos que provienen principalmente de Europa, el 80% representa a estudios sobre cereales crudos y procesados, el resto de la información se refiere principalmente a frutas, especias y nueces. Una pequeña parte de los estudios se enfoca en leche y sus derivados. Adicionalmente, entre los 107 estudios incluidos, cerca del 35% de ellos fueron publicados entre el 2011-2015, destacando el creciente interés mundial por la co-ocurrencia de micotoxinas (Smith *et al.*, 2016).

En las muestras de cereales o productos de cereales, AFs+FUM, DON+ZEA, AFs+OTA y FUM+ZEA, fueron las combinaciones de micotoxinas más frecuentes, presentes en un porcentaje del 23%, 15%, 13% y 12% respectivamente, en un total de 91 artículos analizados. Los resultados de frutas, especias y nueces fueron citados en pocos artículos. Adicionalmente, el último estudio de 6844 muestras de productos agrícolas hecho por la compañía BIOMIN, mostró que DON, FUM y ZEA son las micotoxinas que más prevalecen en el mundo con una presencia de 66%, 56% y 53% respectivamente. Se puede resumir que las AFs se encuentran en varios productos alimenticios y piensos, a menudo en combinación con OTA o Fusariotoxinas (principalmente FUM y ZEA). Generalmente las mezclas binarias son las más comunes entre cerca de 25 micotoxinas estudiada en 107 artículos (Ver Tabla 3) (Smith *et al.*, 2016).

**Tabla 3. Micotoxinas combinadas por continente (Smith *et al.*, 2016).**

<b>Europa</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 67 publicaciones.</li> <li>➤ 105 micotoxinas combinadas.</li> <li>➤ 24% AFs+OTA, 15% DON+ZEA, 13% DON+NIV, 12% DON+T-2 y otras combinaciones fueron menor al 10% en los artículos.</li> </ul>
<b>América</b>	
Sur:	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 12 publicaciones.</li> <li>➤ 12 combinaciones.</li> <li>➤ 50% AFs+FUM.</li> <li>➤ 25% FUM+ZEA.</li> </ul>
Norte:	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 2 publicaciones.</li> <li>➤ 21 combinaciones de micotoxinas.</li> <li>➤ 29% DON+ZEA.</li> <li>➤ 29% DON+DAS+T-2.</li> </ul>
<b>Asia</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 9 publicaciones.</li> <li>➤ 18 micotoxinas combinadas.</li> <li>➤ 78% AFs+FUM y otras combinaciones en 2 artículos.</li> </ul> <p>Nota: AFs+FUM se presentó en casi todas las otras mezclas.</p>
<b>África</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 14 publicaciones.</li> <li>➤ 26 micotoxinas combinadas.</li> <li>➤ 35% AFs+OTA.</li> <li>➤ 29% AFs+FUM.</li> <li>➤ 21% AFs+ZEA.</li> <li>➤ 29% AFs+OTA+ZEA y otras combinaciones.</li> </ul>

**Nota: Oceanía no fue incluida.**

Las interacciones de micotoxinas están clasificadas por Smith *et al.* (2016) en tres principales categorías:

Adición. -Cuando el efecto de la combinación pueda ser calculada como la suma de los efectos individuales de dos toxinas estudiadas.

Sinergismo. -Se observa cuando el efecto de la combinación de las micotoxinas es más grande que el esperado en comparación a la suma de los efectos individuales de las dos micotoxinas estudiadas. En caso de que una o ambas micotoxinas no produzcan un efecto significativo por la combinación, se puede hablar de potenciación.

Antagonismo. -Cuando el efecto de la combinación de las micotoxinas es más bajo que el esperado de la suma de los efectos individuales de las dos micotoxinas estudiadas. Si el efecto de las micotoxinas combinadas refleja principalmente el efecto de la micotoxina más tóxica, sin el efecto adicional de la otra micotoxina, puede usarse el término “menos que adición”.

El conjunto de datos por contaminación de micotoxinas se caracteriza por la presencia de valores no detectados o ninguno cuantificado. Por lo tanto, un diseño de muestreo de un alimento representativo, con un método de análisis químico preciso con límites de detección bajo y un método adecuado para administrar los datos censurados a la izquierda, será decisivo para obtener estimaciones realistas de exposición con un bajo nivel de incertidumbre. Esto podría ser importante para la evaluación de la exposición del grupo más vulnerable como lo son los niños pequeños (Assunção *et al.*, 2016).

Finalmente, los datos sobre la ocurrencia de micotoxinas en alimentos y patrones de consumo de alimentos están asociados con algunas limitaciones para la evaluación a la exposición de micotoxinas, las cuales incluyen la distribución heterogénea de las micotoxinas en los alimentos, la posible exposición a través de otras rutas diferentes a la ingesta, la influencia del procesamiento de los alimentos y la variación inter-individual en la absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME). Estas limitaciones podrían llevar a una subestimación o sobreestimación a la exposición (Assunção *et al.*, 2016). Además, la diversidad observada de los posibles enfoques metodológicos utilizados (modelos celulares, parámetros estudiados, herramientas matemáticas, tiempo y dosis de exposición) plantea la necesidad de estandarizar los métodos a nivel internacional, permitiendo una comparación de datos de una manera más sencilla (Smith *et al.*, 2016).

#### 2.1.4 Micotoxinas enmascaradas.

El problema de las micotoxinas enmascaradas comenzó atrayendo el interés científico por varios casos misteriosos de micotoxicosis a mediados de la década de los 80's, en donde los síntomas de los animales afectados no se correlacionaban con el bajo contenido de micotoxinas detectados en sus alimentos. En ese periodo, la biotransformación metabólica de DON a derivados menos tóxicos en plantas, fue la primera información de que se producían estas transformaciones en campos de maíz inoculadas con *Fusarium graminearum*. Una década más tarde, se demostró también que después del tratamiento de plantas con DON, el trigo produce DON-3-Gluc para desintoxicarlo de *Fusarium graminearum*. La otra pieza del rompecabezas fue cuando se encontró que en cultivos de trigo y maíz, una micotoxina de *Fusarium* con una alta actividad estrogénica, podía ser transformada de ZEN a ZEN-14-Gluc y otros metabolitos (Berthiller *et al.*, 2015).

El término de micotoxina enmascarada se introdujo en los 90's para la ZEA glucósido que no es detectada durante los análisis de rutina, pero se hidroliza durante la digestión. En el año 2011, el Instituto Internacional de Ciencias de la Vida (ILSI) adoptó la definición de micotoxina enmascarada como "Los derivados de micotoxinas que son indetectables mediante técnicas analíticas convencionales porque su estructura ha sido cambiada por la planta" (Berthiller *et al.*, 2013). Las micotoxinas enmascaradas fueron diferenciadas adicionalmente como micotoxinas extraíbles y no extraíbles (unidas), y como en unidas covalentemente y no covalentemente a matrices poliméricas de carbohidratos o proteínas (Rychlik *et al.*, 2014).

Los hongos toxigénicos a menudo crecen en plantas comestibles que contaminan alimentos y piensos. Las plantas, como los organismos vivos, pueden alterar la estructura química de las micotoxinas como parte de su defensa contra xenobióticos y permanecer en el tejido de la planta. Las plantas tienen sistemas de desintoxicación que contrarrestan una amplia variedad de compuestos químicos no naturales y fitotóxicos naturales. Entre estos compuestos, las micotoxinas son el blanco de los

procesos metabólicos de desintoxicación de las plantas. Por otro lado, el procesamiento de los alimentos también puede alterar químicamente la estructura de las micotoxinas, así como los microorganismos usados en los procesos de fermentación que pueden transformar las micotoxinas en productos que no se detectan por métodos analíticos convencionales usados para su monitoreo (Berthiller *et al.*, 2013).

Las modificaciones químicas de las micotoxinas introducidas por el metabolismo de la planta pueden tener efectos tanto de toxicidad (podría aumentar o disminuir en comparación con la molécula de toxina predecesora) como de detección analítica. Adicionalmente, las toxinas enmascaradas pueden ser unidas a carbohidratos o proteínas y consecuentemente, no son extraíbles con los protocolos existentes o no son detectables usando rutinas de cromatografía establecida (Kovalsky *et al.*, 2016).

Las reacciones responsables de las modificaciones químicas de los xenobióticos son la fase I que usualmente involucra la reducción, hidrólisis u oxidación y la fase II que se caracteriza por la conjugación. Las enzimas de la fase II desactivan los metabolitos o xenobióticos activados en la fase I de manera directa por unión covalente de moléculas hidrofílicas. En la fase II, las reacciones de conjugación guían a la formación de compuestos más solubles (hidrofílicos) que facilitan la eliminación de la micotoxina y decrece la toxicidad. La fase III de las reacciones de desintoxicación en plantas involucra el secuestro de los compuestos conjugados de glucosa o GSH dentro de la vacuola o su unión irreversible a la pared celular. De esta manera, los productos de desintoxicación son almacenados permanentemente en los tejidos de las plantas en lugar de excretarse (Berthiller *et al.*, 2013).

Adicionalmente a las micotoxinas fúngicas bien caracterizadas, los metabolitos de hongos derivados de las plantas han emergido como importantes co-contaminantes de cereales (Ver Tabla 4). Las micotoxinas de *Fusarium* (especialmente DON, ZEN, T-2, HT2 y NIV) son el blanco más destacado para el metabolismo de las plantas que utilizan reacciones de conjugación de Fase II con pequeñas moléculas como son los monosacáridos, glutatión o sulfatos. Los conjugados de micotoxinas enmascaradas

más comúnmente detectadas son los conjugados unidos a  $\beta$ -glucosa de TCTs (DON-3-Gluc, NIV-3-Gluc y HT2-Gluc) y ZEA (ZEN-14-Gluc), mientras que  $\alpha$ -glucosa y  $\beta$ -glucosa han sido reportados para TH-2 (Gratz, 2017).

**Tabla 4. Micotoxinas enmascaradas que han sido reportadas en cereales y alimentos basados en cereales (Gratz, 2017).**

<b>Micotoxina Enmascarada</b>	<b>Cereal</b>
DON-3-Gluc	Trigo, maíz, avena y cebada.
NIV-3-Gluc	Trigo.
T2-Gluc y HT2-Gluc	Trigo y avena.
ZEN-14- $\alpha$ -Gluc y $\beta$ -Gluc	Pan y cereal de desayuno.

A pesar de una creciente lista de micotoxinas enmascaradas, la literatura que evalúa su destino en el intestino y predice su contribución a la toxicidad es bastante limitada. Principalmente esta obstaculizada por la disponibilidad limitada de compuestos puros, donde la mayoría de los trabajos han sido desarrollados en DON-3-Gluc y ZEN-14-Gluc. Además, otros estudios in vitro hasta ahora han confirmado que DON-3-Gluc es resistente a los jugos digestivos de la parte superior del tracto GI (Saliva, estómago, bilis y páncreas) sin ninguna liberación relevante de DON. De manera similar, otros importantes compuestos (TCTs-ZEA) enmascarados han mostrado in vitro que no son afectados por las condiciones que prevalecen en el tracto GI superior (Gratz, 2017).

La literatura indica que las micotoxinas enmascaradas son significativamente menos tóxicas que sus componentes predecesores libres, son estables en el tracto GI superior y su absorción intestinal parece significativamente menor que las micotoxinas libres. Las micotoxinas enmascaradas pueden no ser vistas como un grupo homogéneo de contaminantes, pero sí como una mezcla compleja de diferentes metabolitos de plantas de varias clases de micotoxinas (Gratz, 2017).

Aunque se ha demostrado en los últimos años que los glucósidos de ZEA (ZEN-14-Gluc) y DON (DON-3-Gluc) tienen potencial tóxico, la fijación de niveles máximos toxicológicos de referencia en alimentos y piensos está basada exclusivamente en los

compuestos parentales de ZEA y DON (Rychlik *et al.*, 2014). Por tal motivo, existe la necesidad de más estudios toxicológicos, preferentemente comparando las micotoxinas enmascaradas con sus predecesores y se recomienda además la investigación en particular de su exposición y ocurrencia (Berthiller *et al.*, 2013).

### **2.1.5 Micotoxinas emergentes.**

El término de “micotoxina emergente” se utiliza a menudo para ciertos metabolitos fúngicos. Uno de los primeros artículos en usar este término fue publicado en 2008 y trata de los metabolitos de *Fusarium* como Fusaproliferina (FP), Beauvericina (BEA), Eniantinas (ENNs) y Moniliformina (MON), desde entonces se ha utilizado este término principalmente para estos compuestos. Sin embargo, en un artículo reciente, las micotoxinas emergentes fueron definidas como “micotoxinas que no se determinan rutinariamente y no están reguladas legislativamente”. De acuerdo con esta definición, muchos más metabolitos fúngicos con toxicidad conocida o sospechosa, entrarían en la categoría de micotoxina emergente (Gruber-Dorninger, 2016). Recientes investigaciones han revelado hallazgos sobre la contaminación de micotoxinas emergentes en los ingredientes de alimentos, pero debido a la falta de más investigaciones, actualmente no se ha implementado regulaciones para limitar la presencia de estas micotoxinas en los aditivos alimentarios (Aswani Kumar *et al.*, 2016).

Otros metabolitos secundarios de importancia potencial no exclusivamente producidos por cepas de *Fusarium* son la Culmarina, Ciclonerodiol, Fusarocromanonas, Ácido Fusarico (FA), Fusarinas y Butenolina (BUT) entre otras. En cuanto a *Penicillium*, este hongo ha sido reportado por producir varias toxinas como la Citrinina (CIT), Ácido Cliclopeazónico, Ácido Penicílico, Penitrem A, Rubratoxina B y Ácido Micofenólico (MPA) entre otras. Sobre las especies de *Alternaria* son relevantes el Alternariol (AOH), Ácido Tenuazónico (TeA), Tentoxin (TEN) y Altenueno (ALT) (Escrivá *et al.*, 2017).

Se ha colocado a la Beauvericina (BEA) y después a las Enantinas (ENNs) como las de mayor prevalencia (Aswani Kumar *et al.*, 2016). Las BEAs son producidas por varias especies de *Fusarium* como son *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides* o *F. oxysporum*. Las ENNs son producidas por varias especies de *Fusarium* como son *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. poae* o *F. tricinctum*, las cuales crecen principalmente en cereales. Una pequeña molécula soluble en agua originalmente aislada de cepas de *Fusarium* es la Moniliformina (MON), es producida por varias especies de *Fusarium* como son *F. proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. avenaceum* entre otras. La Fusaproliferina (FP) es producida por especies de *Fusarium* como son *F. proliferatum*, *F. subglutinans* y *F. verticillioides*. Datos publicados muestran una ocurrencia ocasional de la FP en granos y alimentos a base de granos (Gruber-Dorninger, 2016).

La micotoxina emergente Esterigmatocistina (STE) está clasificada actualmente en el grupo 2B como posible carcinogénico para humanos. Esta micotoxina es producida por varias especies de hongos del género *Aspergillus*, *Bipolaris*, *Emericella*, *Chaetomium*, *Botryotrichum* y especies de *Penicillium luteum*, siendo *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nidulans* y especialmente *A. versicolor* los principales productores. La más alta frecuencia de contaminación por la STE fue vista en el arroz (21%) y en los granos de avena (22%) destinados para consumo humano (Gruber-Dorninger, 2016).

## **2.2 Micotoxinas en Alimentos.**

### **2.2.1 Principales alimentos contaminados.**

Los contaminantes químicos de los alimentos se originan principalmente de fuentes como la contaminación no intencionada, componentes adicionados intencionalmente que exceden los límites legales o productos que no han sido aprobados, metabolitos tóxicos de plantas, contaminantes generados en el procesamiento y por metabolitos microbianos tóxicos. Por otra parte, las toxinas naturales en los alimentos son metabolitos secundarios de plantas, toxinas bacterianas, ficotoxinas y micotoxinas. Los

hongos que producen micotoxinas relevantes para la agricultura son organismos fitopatógenos que infectan plantas vivas en el campo e invernaderos y hongos saprofitos que colonizan productos vegetales (Berthiller *et al.*, 2013).

Las micotoxinas son un grupo de metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos que pueden contaminar los alimentos, piensos o materias primas usadas para producirlos. Los hongos micotoxigénicos están representados principalmente por *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, pero también *Trichoderma*, *Trichothecium* y *Alternaria* son importantes como contaminantes alimentarios o patógenos de plantas entre otros (Adeyeye, 2016).

El grano de baja calidad que se utiliza para la alimentación animal como por ejemplo las semillas oleaginosas, cacahuates, semilla de algodón y sémola de maíz que a menudo contienen micotoxinas. Así, cuando los animales ingieren alimentos contaminados, aparte de provocar daños en su salud, algunas micotoxinas pueden ser metabolizadas y permanecer en leche, carne y huevos. Un ejemplo son los alimentos lácteos contaminados con la AFB<sub>1</sub>, que puede ser metabolizada en el animal en su derivado monohidroxilado AFM<sub>1</sub>, la cual es transferida hacia la leche (Tabla 5) (Karlovsy *et al.*, 2016). Los niveles de AFs y OTA particularmente en la leche están estrictamente regulados en los países desarrollados. Sin embargo, en los países en desarrollo donde los animales tienen más probabilidad de consumir piensos contaminados por micotoxinas, los niveles de micotoxinas pueden ser más altos (Adeyeye, 2016).

Los cereales y productos derivados son la base de la alimentación en todo el mundo y la fuente primaria de carbohidratos, aunque también son la principal fuente de exposición a las micotoxinas que se transmiten en los alimentos. Varios géneros de hongos filamentosos pueden contaminar y producir una gran cantidad de micotoxinas en los cereales y sus derivados.

**Tabla 5. Principales micotoxinas, especies que la producen y productos alimenticios afectados (Karlovsy et al., 2016).**

Micotoxina	Principal especie que la produce.	Productos alimenticios.
AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1 en leche	<i>Aspergillus parasiticus</i> , <i>A. flavus</i> .	Cacahuates, nueces, maíz, semilla de algodón, trigo, cebada, granos de cacao, arroz, frutas secas, especias, higos, aceites vegetales crudos.
OTA	<i>Aspergillus alutaceus</i> , <i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	Granos, legumbres, semillas oleaginosas, cacahuates, frutas secas, anacardos, café, vino, cocoa, especias y productos cárnicos.
FUMs (B1, B2 y B3) (AFB1, AFB2, AFB3)	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Maíz ( <i>Fusarium spp.</i> ), uvas ( <i>Aspergillus niger</i> )
DON y su derivado acetilado (3- y 15-acetil-DON)	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>	Trigo, maíz, cebada, avena, centeno; con menos frecuencia arroz y sorgo.
Otros TCTs, (Ej. toxina T-2, toxina HT-2 y NIV)	<i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. langsethiae</i> , <i>F. poae</i> y <i>F. cerealis</i> , <i>F. culmorum</i> y <i>F. graminearum</i>	Cereales.
ZEN	<i>Fusarium spp.</i>	Todo tipo de grano a nivel mundial: niveles más altos en maíz y salvado de trigo.
PAT	<i>Byssochlamys spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i>	Frutas (fresas), tomates, aceitunas y cereales.
Alcaloides de Ergot	<i>Claviceps spp.</i> en Europa principalmente <i>Claviceps purpurea</i> .	Cereales como el centeno, trigo, cebada, triticale, mijo y avena.

A partir de los datos aportados por Karlovsy et al. (2016) es posible destacar la presencia de micotoxinas en los distintos productos alimenticios de la siguiente manera:

- La cocoa es contaminada principalmente por AFs y OTA, proveniente de hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*.
- Los granos de café verde son contaminados por la micotoxina OTA, esta proviene del género *Aspergillus* y *Penicillium*.
- La principal micotoxina en los jugos de frutas es PAT, los géneros donde proviene principalmente esta micotoxina es *Byssochlamys*, *Penicillium* y *Aspergillus*.
- La mayoría de las micotoxinas pueden sobrevivir a la elaboración y terminación de la cerveza, donde DON o su forma DON-3-Gluc. El género que contamina principalmente al etanol y la cerveza es *Fusarium*.

### **2.2.2 Regulación.**

Los hongos toxigénicos son extremadamente comunes por poder crecer sobre un amplio rango de sustratos y un amplio rango de condiciones ambientales. Sin embargo, la severidad de cultivos contaminados tiende a variar año tras año en función del clima y otros factores ambientales. Generalmente, los problemas de las micotoxinas aumentan cuando las prácticas de transporte, manipulación y almacenamiento conducen al crecimiento de hongos toxigénicos y a la producción de micotoxinas en el producto final. Los niveles de contaminación que se registran a nivel mundial pueden diferir drásticamente de acuerdo a las diferentes áreas geográficas, desarrollo social y económico (Moretti *et al.*, 2017).

En nuestros días, es realmente importante adoptar medidas que logren garantizar que la comida insegura no sea colocada en el mercado y asegurar que existan sistemas que identifiquen y respondan a problemas de seguridad alimentaria, a fin de asegurar el correcto funcionamiento del mercado interno y la protección de la salud humana. Sin embargo, es obligatorio proteger al consumidor de los efectos de una micotoxina en particular en el suministro de alimentos, cuando la evaluación del riesgo de contaminación indica que los niveles van a ser inaceptables. Además, la legislación debe ser introducida junto con algunas medidas dirigidas a minimizar la exposición del consumidor con cada micotoxina en particular, cuando la evaluación del riesgo de la micotoxina se considera significativa (Oliveira y Becerra, 2016).

El establecimiento de límites máximos permisibles representa una herramienta poderosa para un control efectivo en la cadena de alimentación. Usualmente, los dos componentes principales tomados en cuenta en cada evaluación de riesgo son el efecto toxicológico de la micotoxina en particular y la estimación de la exposición del consumidor a la micotoxina. Por otro lado, es importante que todos los límites estén respaldados en confiabilidad y extensa investigación, a fin de evitar restricciones innecesarias y pérdidas económicas subsecuentes. Los límites máximos permisibles para algunas micotoxinas han sido establecidos por organizaciones nacionales e

internacionales como la World Health Organisation (WHO), la unión de la FAO/WHO (Stoev, 2015), la Comisión Internacional Codex (CAC) y la Unión Europea (UE) (Moretti *et al.*, 2017). La CAC fue fundada en 1963 por la FAO y la WHO para desarrollar normas CODEX, lineamientos y otros documentos relacionados a la alimentación. Como consecuencia, actualmente más de 100 países tienen regulación respecto a las micotoxinas o grupo de micotoxinas, las cuales son una preocupación en la alimentación y piensos. En Europa, particularmente en la Unión Europea (UE), el interés regulatorio y científico ha experimentado un desarrollo en los últimos 15 años (Moretti *et al.*, 2017). También varias naciones, organizaciones y agencias internacionales tienen comités y comisiones (Consejo de Ciencias y Tecnología Agrícola, la FAO de las Naciones Unidas, el Instituto de Salud Pública de Japón y la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos) que establecen recomendaciones, desarrollan protocolos estandarizados y mantienen información actualizada sobre estatus regulatorios (Moretti *et al.*, 2017). Hay una interesante tendencia de armonización de las leyes en los países que pertenecen a diferentes bloques económicos como la UE. Con respecto a otros países del mundo, Europa tiene la más completa y detallada legislación sobre micotoxinas en alimentos (Tabla 6a y 6b) (Stoev, 2015).

Finalmente, muchos países tienen sus propios límites y regulaciones legales para el control de algunas micotoxinas en alimentos y piensos, pero hay límites que aún no son reconocidos internacionalmente. Cada límite legal en un país para algunas micotoxinas en productos, es usualmente elegido dependiendo de la existencia de suficientes datos sobre el efecto toxicológico de la micotoxina, existencia de datos sobre la ocurrencia de micotoxinas en varios productos y la disponibilidad de métodos de muestra y análisis (Stoev, 2015). A pesar de los lineamientos establecidos en todo el mundo para la administración de una dosis segura de micotoxinas en alimentos y piensos, aún existe la necesidad de una armonización mundial para su regulación e incluso, las micotoxinas son un problema de salud mundial ignorado en gran parte (Moretti *et al.*, 2017). En la Tabla 7 se muestran los límites establecidos por la FDA para las micotoxinas más importantes.

**Tabla 6a. Contenido máximo permitido de micotoxinas en alimento humano (EC Regulation No.1881/2006 y EC Recommendation 2013/165/EU) (Stoev, 2015).**

<b>Alimento.</b>	<b>Cont. Máx. µg/Kg*</b>
<b>Micotoxina: AFB1</b>	
Cacahuates y semillas oleaginosas sometidas a tratamiento físico antes de consumo humano, con excepción de la producción de aceite vegetal refinado.	8
Cacahuates y semillas oleaginosas o su producto procesado para el consumo humano directo o como ingrediente.	2
Almendras, pistaches, semilla de albaricoque sometido a tratamiento físico, antes del consumo humano o como ingrediente en productos alimenticios.	12
Almendras, pistaches, semilla de albaricoque, destinado para consumo humano directo o como ingrediente.	8
Avellanas y nueces de Brasil sometido a tratamiento físico, antes del consumo humano o uso como ingrediente.	8
Avellanas y nueces de Brasil para consumo humano directo o como ingrediente.	5
Fruta seca sometida a tratamiento físico, antes de consumo humano o como ingrediente.	5
Fruta seca o su producto procesado para consumo humano directo o como ingrediente.	2
Todos los cereales, excluyendo los productos de cereales procesados.	2
Maíz/arroz sometido a tratamiento físico antes del consumo o como ingrediente, chiles, chile en polvo, pimientos, jengibre y nuez moscada.	5
Alimentos procesados a base de cereal y alimentos de bebe para infantes o niños.	0.1
<b>Micotoxina: AFM1</b>	
Leche cruda, tratada térmicamente y producto a base de leche.	0.05
Alimentos dietéticos para fines médicos y leche infantil.	0.025
<b>Micotoxina: OTA</b>	
Cereal sin procesar.	5
Productos de cereal procesado y cereales para consumo humano directo.	3
Fruta seca (grosellas, pasas) y café soluble.	10
Granos de café tostado, café tostado molido (no café soluble).	5
Vino (vino espumoso y no licor) productos de vino o cóctel, jugo de uva o néctar para consumo humano.	2
Alimentos procesados basados en cereal y alimentos para bebe, niño e infante.	0.5
Chiles, chile en polvo, pimienta blanca o negra, jengibre y nuez moscada.	15
Raíz de regaliz e ingredientes para infusión herbal.	20

\*Se hizo la conversión de mg/Kg-µg/Kg para uniformizar el contenido máximo con la Tabla 7.

**Tabla 6b. Contenido máximo permitido de micotoxinas en alimento humano (EC Regulation No.1881/2006 y EC Recommendation 2013/165/EU) (Stoev, 2015).**

<b>Alimento</b>	<b>Cont. Máx. <math>\mu\text{g}/\text{Kg}^*</math></b>
<b>Micotoxina: PAT</b>	
Jugo de frutas, néctar de frutas, sidra y otras bebidas derivadas de la manzana o jugos que contengan manzana.	50
Productos sólidos de manzana o puré de manzana para consumo directo.	25
Alimentos de bebe aparte de otros productos procesados basados en cereales, jugo de manzana y productos de manzana sólida o puré de manzana para infantes o niños.	10
<b>Micotoxina: DON</b>	
Cereales sin procesar aparte del trigo duro, avena y maíz.	250
Trigo duro sin procesar, avena y maíz sin procesar y con excepción del maíz sin procesar destinado a la molienda.	1750
Cereales para el consumo humano directo como harina, salvado, pasta y germen.	750
Pan, productos de panadería, postres, galletas, aperitivos de cereal o desayuno.	500
Alimentos procesados basados en cereal y alimento para bebé para infante y niño.	200
<b>Micotoxina: ZEA</b>	
Cereales sin procesar aparte del maíz.	100
Maíz sin procesar con excepción de maíz destinado para molienda húmeda.	350
Cereales para consumo humano directo como harina, salvado y germen.	750
Aceite de maíz refinado.	400
Pan, productos de panadería, postres, galletas, aperitivos de cereal o desayuno, excluyendo aperitivos de maíz y cereales para el desayuno basados en maíz.	50
Maíz para consumo humano directo como aperitivo o cereal para desayuno.	100
Alimento procesado basado en cereal y alimento de bebe para infantes y niños.	20
<b>Micotoxina: FUM (B1 y B2)</b>	
Maíz sin procesar con excepción de maíz destinado para molienda húmeda.	4000
Maíz y alimento basado en maíz para consumo humano sin incluir:	1000
Desayuno basado en cereal de maíz y aperitivo basado en maíz.	800
Alimento procesado basado en maíz o alimento de bebe para infantes y niños.	200

\*Se hizo la conversión de mg/Kg- $\mu\text{g}/\text{Kg}$  para uniformizar el contenido máximo con la Tabla 7.

**Tabla 7. Límites en micotoxinas importantes en US y UE sobre los niveles en alimentos (Alshannaq y Yu, 2017).**

<b>Micotoxina</b>	<b>Especie</b>	<b>Producto alimenticio</b>	<b>US FDA µg/Kg</b>	<b>UE EC µg/Kg</b>
AF (B1, B2, G1 y G2)	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Maíz, trigo, arroz, cacahuate, sorgo, pistache, almendra, nuez molida, nuez de árbol, higo, semillas de algodón y especias.	20 (Total)	2-12 (B1). 4-15 (Resto)
AFM1	Metabolito de AFB1.	Leche y productos lácteos.	0.5	0.05 leche. 0.025 (leche infantil)
OTA	<i>A. ochraceus</i> , <i>P. verrucosum</i> , <i>P. carbonarius</i>	Cereales, Vino de fruta seca, vino, uvas, café, cocoa y queso	No indicado	2-10
FUM (B1, B2, B3)	<i>F. verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>	Maíz, productos del maíz, sorgo y espárragos.	2000-4000	200-1000
ZEA	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>	Cereales, productos de cereales, maíz, trigo y cebada.	No indicado	20-100
DON	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>	Cereales, productos de cereales.	1000	50-200
PAT	<i>P. expansum</i>	Manzana, jugo de manzana y concentrados.	50	10-50

### **2.2.3 Métodos de prevención, control y eliminación.**

Los metabolitos secundarios producidos por los hongos pertenecen regularmente a los contaminantes más tóxicos que se encuentran en un amplio rango de productos alimenticios. En las materias primas usualmente se tolera tener altos niveles de contaminación (excepto productos destinados al consumo humano directo) con respecto al producto final (Karlovsky *et al.*, 2016). Los efectos nocivos de alimentos contaminados con micotoxinas se pueden evitar previniendo la contaminación por micotoxinas, desintoxicando y removiendo el material contaminado de los alimentos y piensos, inhibiendo la absorción de la micotoxina en el tracto GI (Karlovsky *et al.*, 2016: Hathout y Soher, 2014) y tratando a los individuos expuestos (Karlovsky *et al.*, 2016). Los componentes del análisis de riesgos asociados con la contaminación de micotoxinas en alimentos y piensos son la evaluación, comunicación y la administración

de riesgos. Dichos componentes, más el uso de un sistema integral basado en el Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (HACCP), deberán involucrar estrategias de prevención, control, buenas prácticas de manufacturación y control de calidad en todos los niveles de producción desde el campo hasta el producto final. Cada enfoque HACCP está siendo aplicado a diferentes micotoxinas, ya que la FAO ha elaborado un manual comprensible sobre la aplicación del sistema HACCP para el control y prevención de micotoxinas. El sistema HACCP puede ser usado para identificar los pasos o los puntos en los cuales la contaminación de micotoxinas en alimentos o piensos puede ser prevenida o removida y para identificar los niveles en los cuales la monitorización puede ser confiable (Stoev, 2015).

La distribución no homogénea de las micotoxinas en los alimentos es una fuente de error experimental, especialmente en componentes individuales de alimentos. La diversidad de ingredientes en un plato de comida preparada puede aumentar los problemas analíticos causados por la dilución de los contaminantes y por la recuperación analítica de matrices complejas de alimentos. Esto se complica más por la posible interacción de componentes de alimentos con micotoxinas y alguna pérdida de micotoxinas que puede ocurrir durante la preparación del alimento (Alberts *et al.*, 2017).

El desarrollo de marcadores biológicos de exposición a una específica micotoxina proporciona una medición individual que representa la exposición de micotoxinas en todas las fuentes de consumo y puede ser relacionada a impactos a la salud. A la fecha, el desarrollo de biomarcadores para AFM1 en orina, el aducto de aflatoxin-N7-guanina en orina y el aducto AFB1-albumina en el plasma sanguíneo, han encontrado aplicación en enlazar la exposición de AF a resultados adversos en la salud. De estas tres medidas, los biomarcadores urinarios indican un reciente consumo, mientras que debido a la larga vida media de la albumina, este biomarcador representa una exposición de moderado a largo plazo por varios meses. Aunque estos biomarcadores pueden ser determinados individualmente, recientes avances en HPLC-MS permiten a los biomarcadores urinarios ser analizados por metodologías de múltiples micotoxinas,

los cuales también pueden incluir marcadores urinarios para la exposición de otras micotoxinas como DON, OTA y ZEA (Alberts *et al.*, 2017).

Aunque se han probado numerosos métodos químicos y físicos de desintoxicación, ninguno realmente cumple con la eficacia y seguridad necesaria. Por lo tanto, se necesitan urgentemente métodos viables (costo-efectivos) para desintoxicar granos y alimentos contaminados por micotoxinas que minimicen el potencial de pérdidas para el agricultor y riesgos toxicológicos para el consumidor (Hathout y Soher, 2014). Las Buenas Prácticas Agrícolas (GAP) junto con las Buenas Prácticas de Manufacturación (GMP) son un prerrequisito y un enfoque complementario hacia el sistema HACCP. Las GAP es un elemento esencial en la industria agrícola a fin de garantizar y mantener los niveles más bajos posibles de micotoxinas en cultivos de alimentos (Alberts *et al.*, 2017). Una efectiva descontaminación debería ser irreversible, las formas modificadas de micotoxinas deberían ser afectadas junto con su componente predecesor, el producto debería no ser tóxico y el alimento debería conservar su valor nutricional y sabor (Karlovsy *et al.*, 2016). Finalmente, es esencial asegurar que los niveles de micotoxinas, gracias a la implementación de estándares y regulaciones legales, no constituyan un peligro para la salud humana y animal (Waskiewicz, 2014).

### **2.2.3.1 Métodos físicos y químicos.**

Algunos procesos físicos tienden a remover fracciones altamente contaminadas de material a granel a través de la clasificación, molienda, descascarillado, limpieza, tratamiento térmico, irradiación (Vanhoutte *et al.*, 2016; Karlovsy *et al.*, 2016), flotación y segregación de densidad, remojado, plasma frío y aglutinantes de micotoxinas (Karlovsy *et al.*, 2016).

La reducción post-cosecha involucra la unión reversible de micotoxinas en alimentos por adsorbentes naturales de arcilla interrumpiendo de este modo la absorción en el tracto GI en humanos y animales. La arcilla de filosilicatos montmorillonita se une

fuertemente y selectivamente a AFs y FUMs, resultando en una disminución de la biodisponibilidad y toxicidad asociada en el tracto GI en animales experimentales (Alberts *et al.*, 2017). El uso de adsorbentes aglutinantes orgánicos e inorgánicos tiene algunas características prometedoras, aunque algunos pueden tener efectos nutricionales adversos debido a la unión de vitaminas y minerales (Vanhoutte *et al.*, 2016). La aplicación de agentes de adsorción promueve la excreción de micotoxinas o modifican su modo de acción al ser utilizados como aditivos alimenticios. Sin embargo, la eficacia de los agentes de adsorción para reducir la contaminación de micotoxinas es variable, donde la mayoría de los agentes de unión comerciales no tienen suficiente efecto contra DON (Zhu *et al.*, 2017).

Las estrategias químicas usan ácidos, bases, agentes oxidantes, agentes reductores (Zhu *et al.*, 2017; Karlovsky *et al.*, 2016) que cambian la estructura de las micotoxinas, lo cual ha incrementado la preocupación pública sobre los residuos químicos en alimentos y piensos. Además, de posibles efectos negativos en la nutrición, la palatabilidad en los alimentos y piensos puede ser afectada por los tratamientos químicos (Zhu *et al.*, 2017). Las estrategias de remediación química implican la conversión de micotoxinas a través de reacciones químicas como la amoniación, hidrólisis alcalina, peroxidación, ozonización y el uso de bisulfitos, los cuales son efectivos en una o más micotoxinas. Sin embargo, una visión detallada sobre la toxicidad eventual de los productos finales y la calidad nutritiva es cuestionable (Vanhoutte *et al.*, 2016) Es importante notar que el tratamiento químico con el propósito de descontaminar, no está autorizado dentro de la Unión Europea para productos destinados para la alimentación humana (Karlovsky *et al.*, 2016).

#### **2.2.3.2 Métodos biológicos.**

Los métodos biológicos consisten en el uso de microorganismos o enzimas, las cuales son capaces de metabolizar, destruir o desactivar toxinas en compuestos estables, menos tóxicos o inclusive hasta inofensivos. Los agentes biológicos y sus enzimas

permiten un enfoque específico, muy probablemente irreversible, efectivo y amigable con el medio ambiente, además de un menor impacto en la calidad sensorial y nutricional con respecto a los químicos (Loi *et al.*, 2017).

Los agentes de biocontrol bacteriano, levaduras y hongos filamentosos aplicados contra la descomposición pre/post cosecha y la contaminación por micotoxinas en productos agrícolas son una estrategia emergente y prometedora para corregir o sustituir el tratamiento químico. La aplicación de adecuados agentes de biocontrol puede hacer posible una temprana colonización y protección efectiva contra patógenos de plantas y posteriormente durante el almacenamiento. Prevenir la aparición de hongos toxigénicos es la manera más directa de prevenir la contaminación por micotoxinas. Por esta razón, las levaduras (además de bacterias) se han convertido en la herramienta primaria de investigación de biocontrol, ya que presentan propiedades antagonistas prometedoras contra los hongos filamentosos que contaminan frutas, vegetales, granos y productos cárnicos curados en seco. La característica antagónica de las levaduras hacia los hongos filamentosos puede ser atribuida a la competencia por nutrientes y espacio, secreción de componentes antifúngicos, parasitismo sobre los patógenos del hongo, formación de biopelícula, tanto de la inducción y estimulación de la resistencia de la planta huésped como una respuesta de defensa que involucra la producción de especies reactivas de oxígeno (Pfliegler *et al.*, 2015).

Entre los métodos potenciales para prevenir la producción de micotoxinas en la cadena agroalimentaria, se encuentran los agentes de control biológico (BCAs) basados en el uso de microorganismos. Por ejemplo, tenemos un conocido BCA fúngico con la tecnología AflaSafe<sup>®</sup>, el cual utiliza una cepa de *A. flavus* no toxigénica para interactuar competitivamente con un hongo aflatoxigénico en el campo, reduciendo el crecimiento y la producción de AFs (Verheecke *et al.*, 2017). El control biológico de AFs producidas por cepas de *Aspergillus* en el campo está basado en la exclusión competitiva, por lo cual, grandes cantidades de inóculo no toxigénico (*A. flavus* y *Aspergillus parasiticus*) son introducidos en la tierra donde crecen los cultivos y estos después compiten con las cepas toxigénicas en los sitios de infección de los cultivos (Alberts *et al.*, 2017).

Los metabolitos que ejercen fuerte actividad antifúngica contra los hongos filamentosos como *Aspergillus niger* son los Peptaibols (péptidos no ribosómicos) que son producidos por *Trichoderma spp.* Otro BCA con actividad antifúngica contra *A. niger* y *F. oxysporum* es un TCT producido también por *Thichoderma spp.*, el cual es conocido como Trichodermin (Verheecke *et al.*, 2017).

El componente fúngico que impacta el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas es el llamado 2-feniletanol (2-PE), es uno de los principales compuestos volátiles que ejercen efecto sobre la concentración de micotoxinas. Es producido por *Picha anomala*, un conocido BCA contra la producción de AFs. Un nivel alto de 2-PE inhibe completamente el crecimiento de *A. flavus*, mientras que un bajo nivel de este compuesto volátil promueve el crecimiento de *A. flavus*, pero suprime la producción de AFs. Por lo tanto, el efecto antifúngico o la inhibición de la producción de micotoxinas es dosis dependiente. Otro tipo de metabolito fúngico para reducir la contaminación de micotoxinas es un  $\beta$ -glucano llamado Lentinans, el cual es producido por el hongo Shitake (*Lentinula edodes*) en el filtrado del cultivo que se sugiere para inhibir la producción de AFs producidas por *Aspergillus spp.* (Verheecke *et al.*, 2017). Algunas especies de levaduras pueden actuar como BACs, las cuales inhiben el crecimiento de hongos filamentosos productores de micotoxinas en cultivos, alimentos y piensos (Pfliegler *et al.*, 2015). Como un ejemplo, se ha demostrado que *S. cerevisiae* desintoxica las micotoxinas PAT y OTA (Karlovsy *et al.*, 2016).

Por otro lado, se han utilizado levaduras para la fermentación en jugo de manzana contaminada con PAT, donde se observó una disminución rápida del contenido de micotoxinas durante la fermentación alcohólica, sin embargo, no fue posible caracterizar químicamente los productos de degradación (Hathout y Soher, 2014). Otras micotoxinas como las FUMs y algunos TCTs no son afectados por la fermentación. También, se ha documentado la desintoxicación de varias micotoxinas durante el proceso de la malta, incluida la pérdida completa de OTA y CIT, aunque también la sobrevivencia de DON durante el proceso de fabricación de malta y cerveza. La

elaboración de cerveza y malta que se contaminan con DON son procesos que se podrían beneficiar por el uso de enzimas que desintoxican a las micotoxinas. Así, la degradación de PAT puede ser probablemente combinada con actuales tratamientos enzimáticos usados en la producción de jugos de frutas y purés (Karlovsky *et al.*, 2016).

Debido a su especificidad y su perfil toxicológico favorable, las enzimas poseen aún un potencial inexplorado para desintoxicar contaminantes orgánicos en los alimentos. La fermentación en el procesamiento de los alimentos se puede ayudar de bacterias y hongos responsables de las transformaciones deseadas en los componentes de los alimentos. Adicionalmente, hay cientos de actividades enzimáticas que pueden transformar a las micotoxinas en productos no tóxicos, pero hasta ahora, no ha sido autorizada ninguna cepa microbiana como auxiliar en el procesamiento dirigido a las micotoxinas ni tampoco ninguna enzima ha sido autorizada hasta ahora en la UE para la reducción de la contaminación por micotoxinas en los alimentos (Karlovsky *et al.*, 2016).

Un amplio rango de microorganismos ha mostrado la capacidad de biotransformar las micotoxinas, actuando en el tracto GI de los animales antes de la reabsorción de las micotoxinas. Entre otros, se han empleado a especies de *Bacillus*, *Eubacterium*, *Myxobacteria*, *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Flavobacterium aurantiacum* y *Rhodococcus erythropolis* (Hathout y Soher, 2014).

La pared celular de varias levaduras es capaz de adsorber micotoxinas de productos agrícolas y descontaminarlos de manera efectiva, además algunas de ellas son capaces de degradar toxinas a sustancias menos tóxicas o incluso no tóxicas (Pfliegler *et al.*, 2015). Un criterio importante para la evaluación de los adsorbentes de micotoxinas es su efectividad en diferentes niveles de pH (ácido-neutro). Por lo tanto, el adsorbente debe ser estable a través de todo el tracto GI y el complejo micotoxina-adsorbente deberá permanecer estable para evitar la no absorción de la toxina durante la digestión (Hathout y Soher, 2014).

Hay microorganismos que pueden ser aplicados en la fermentación de diferentes cadenas de alimentos como los granos, jugo de manzana, cerveza y vino. Usando la fermentación de las Bacterias de Ácido Láctico (LABs) es más ventajoso porque es un método más suave que preserva el valor nutritivo y el sabor de los alimentos descontaminados. Adicionalmente, la fermentación de las LABs degrada irreversiblemente las micotoxinas sin dejar algún residuo tóxico. Se cree que el efecto para desintoxicar es a través de un efecto de unión a la toxina o la posibilidad de una interacción enzimática, aunque esto no se ha investigado exhaustivamente. A pesar de la abundancia relativamente alta de las LABs en los alimentos, solo un bajo porcentaje de estas bacterias tienen propiedades de unión para las micotoxinas, lo cual podría considerarse una característica para la selección de las LABs utilizadas en alimentos y piensos en vez de conservadores químicos. Como ejemplo se tienen algunas especies de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus plantarum* entre otras (Hathout y Soher, 2014). La AFB1 es efectivamente removida del intestino de animales por unión a probióticos y la formación del complejo AF-Bacteria. Las bacterias capaces de unirse a la AF son *Lactobacillus rhamnosus*, *Propionibacterium freudenrichii* y *Bifidobacterium spp.* El mecanismo de unión involucra interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, así como la formación de puentes de hidrógeno (Alberts *et al.*, 2017).

La alta tasa de degradación y amplias condiciones de reacción de las bacterias es una aplicación potencial y prometedora para la degradación de micotoxinas. Las técnicas y estrategias innovadoras como el enriquecimiento, medios altamente selectivos y técnicas moleculares efectivas, pueden incrementar la oportunidad de seleccionar microorganismos dirigidos a una microbiota compleja. Sin embargo, las aplicaciones prácticas de hongos pueden estar limitadas por factores como los procedimientos complicados que son necesarios para la obtención de extractos activos, largos tiempos de incubación requeridos y procesos incompletos para la desintoxicación (Chen *et al.*, 2016).

#### **2.2.4 Métodos de Detección.**

La clasificación de los métodos analíticos para determinar micotoxinas pueden ser desarrollados de acuerdo a diferentes criterios. Uno de los más útiles se basa en el principio químico/físico/biológico usado y el tiempo del análisis (Picó, 2016). El análisis de toxinas se realizaba hace relativamente poco de forma individual o en familia, ahora con la espectrometría de masas de alta resolución y los biosensores, se facilita la detección de múltiples micotoxinas de una manera relativamente simultánea. La decisión de cual toxina evaluar se basada en que hongo se podría esperar que estuviera presente en el producto y cuales toxinas podría producir. Este enfoque es lógico, particularmente por que el costo del monitoreo puede ser alto, especialmente en relación al valor del producto que está siendo evaluado (Stroka y Maragos, 2016).

Un tema fundamental en la detección de micotoxinas es establecer en cuál de ellas hay que enfocarse para las pruebas de múltiples micotoxinas. Las obligaciones legales en los años 90's se aplicaban primero a las AFs, en 1998 entró en vigor la primera legislación UE sobre AFs-OTA y en el marco legal en regulación de micotoxinas de la UE se amplió para incluir a DON, PAT, CIT, ZEA, FUMs, Toxina T-2 y HT-2. Muchos métodos siguen un proceso que incluye el muestreo, extracción, limpieza y detección. La mayoría de los métodos intentan separar la toxina del grueso de la matriz mediante la extracción. La selección de una solución de extracción también está influenciada por el deseo de tecnologías más verdes que reduzcan el consumo de disolventes y la generación de desechos peligrosos. Una vez extraída, muchas plataformas analíticas requieren remover gran parte tanto de la matriz restante (minimizar la interferencia) como la concentración de la muestra (aumentar la señal analítica) (Stroka y Maragos, 2016).

Los métodos convencionales para la detección de micotoxinas en el medio ambiente y productos agrícolas son principalmente basados en técnicas de cromatografía, incluyendo Cromatografía de Capa Fina (TLC), Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC) y Cromatografía de Gas acoplada a Espectrometría de Masas

(GC-MS). Sin embargo, todos estos métodos requieren de procedimientos extensos para la preparación de la muestra, consumen mucho tiempo, personal con alto entrenamiento y una gran cantidad de reactivos y disolventes peligrosos que a menudo se requieren durante el análisis (Guo *et al.*, 2015).

#### **2.2.4.1 Cromatográficos.**

Los métodos que pertenecen a este grupo tienen el objetivo de determinar cuantitativamente micotoxinas e involucran (Anfossi *et al.*, 2016) la Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC) acoplada con Ultravioleta (UV), Arreglo de Diodos (DAD), Fluorescencia (FLD), Espectrometría de Masas (MS) y UHPLC o UPLC (Alshannaq y Yu, 2017). El uso de un instrumental sofisticado combinado a una extensiva preparación de la muestra, permite el más grande rango de determinación de micotoxinas y una alta sensibilidad (Anfossi *et al.*, 2016).

El método HPLC-FLD acoplada con un método eficiente de extracción y limpieza es frecuentemente usado para la cuantificación de micotoxinas únicas o de un grupo químicamente relacionado. Ha sido adoptada por la Asociación Oficial Internacional de Química Analítica (AOAC) y por el Comité Europeo de Normalización (CEN) para la cuantificación de micotoxinas en cereales y recientemente, se ha empleado para la detección simultánea de múltiples micotoxinas 1) AFs y OTA en productos de cereales de maíz, mantequilla de maní, ginseng y jengibre. 2) AFs, OTA y ZEA en granos de cereal, centeno y arroz. 3) AFs, OTA, ZEA y DON en maíz. Aunque la detección de HPLC-FLD tiene relativamente buena sensibilidad y recuperación, el requisito de una limpieza extensiva y una previa/posterior derivatización de columna para la correcta detección de micotoxinas son una desventaja (Alshannaq y Yu, 2017). En nuestros días, el grupo de cuatro AFs (AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2) son las más frecuentemente analizados con el método de cromatografía líquida con detección de fluorescencia (Ver Tabla 8) (Stroka y Maragos, 2016).

**Tabla 8 Métodos cromatográficos más usados recientemente en la detección de micotoxinas y sus características.**

<p><b>HPLC-FLD</b></p> <p>(Alshannaq y Yu, 2017):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Detección simultánea de múltiples micotoxinas: AFs, OTA, ZEA y DON.</li> <li>✓ Relativamente buena sensibilidad y recuperación.</li> <li>✓ Limpieza extensa y una previa/posterior derivatización de columna son una desventaja.</li> </ul> <p>(Stroka y Maragos, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ El grupo de las cuatro AFs son las más frecuentemente analizadas.</li> </ul>
<p><b>CG</b></p> <p>(Alshannaq y Yu, 2017):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Identifica y cuantifica micotoxinas volátiles: TCTs y PAT.</li> </ul> <p>(Picó, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Alcance más estrecho, determinan TCTs y confirman PAT.</li> </ul>
<p><b>MS</b></p> <p>(Alshannaq y Yu, 2017):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Información química estructural para la identificación molecular del analito y técnica de confirmación ideal.</li> <li>➤ Cuantifica simultáneamente más de 100 micotoxinas en una sola corrida, haciéndolo el método actual de elección.</li> </ul> <p>(Anfossi <i>et al.</i>, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Alta sensibilidad, selectividad, exactitud, rendimiento.</li> <li>✓ El uso de QuEChERS simplifica fuertemente los procedimientos analíticos.</li> <li>✓ Los QuEChERS bajo ciertas condiciones puede reducir la sensibilidad del método.</li> </ul>
<p><b>LC-MS/MS</b></p> <p>(Picó, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Método analítico más usado para micotoxinas que pertenecen a diferentes familias químicas.</li> <li>✓ Método importante en el descubrimiento de las micotoxinas conjugadas.</li> </ul> <p>(Krska <i>et al.</i>, 2017):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Determina más de 380 hongos, bacterias y metabolitos de plantas en cultivos, cereales, alimentos y productos alimenticios.</li> </ul>

Los métodos basados en GC tienen un alcance más estrecho, pero han sido aplicados a la determinación de TCTs y confirmación de PAT. Particularmente, las técnicas analíticas que emplean GC y columnas capilares son útiles para la determinación simultánea de diferentes TCTs (Ver Tabla 8) (Picó, 2016). Adicionalmente, la Cromatografía de Gas (CG) acoplada con Captura de Electrones (ECD), Ionización de Flama (FID) o detector de MS ha sido usado también para identificar y cuantificar micotoxinas volátiles (Alshannaq y Yu, 2017).

Hasta hace cerca de 10 años, la mayoría de los métodos analíticos disponibles (ejemplo HPLC-UV/FLD) para la determinación de los metabolitos tóxicos solo cubrían una sola clase de micotoxina (como por ejemplo AFs, TCTs y FUMs). Actualmente, los métodos analíticos basados en la MS han sido claves para la determinación de una variedad de micotoxinas y sus metabolitos en plantas, alimentos y para la investigación del metabolismo de estos componentes tóxicos en fluidos del cuerpo, como suero y orina (Krska *et al.*, 2017). La MS fue originalmente utilizada para el análisis de una sola micotoxina, pero ahora la técnica puede cuantificar simultáneamente más de 100 micotoxinas en una sola corrida, haciéndolo el método actual de elección para detectar múltiples micotoxinas en una amplia variedad de alimentos (Ver Tabla 8) (Alshannaq y Yu, 2017). En conjunción con la cromatografía de líquidos (LC-MS), ha sido utilizado el programa de determinación de Spectrum 380 de BIOMIN, el cual inspecciona de forma rutinaria e incluye niveles de concentración de más de 380 micotoxinas y metabolitos fúngicos. Este programa revela que un típico producto agrícola contiene en promedio 30 diferentes metabolitos de micotoxinas (Krska *et al.*, 2017).

Las ventajas de la MS como la alta sensibilidad, selectividad, exactitud, rendimiento y donde el enfoque de preparación de muestra QuEChERS (Fácil, Rápido, Barato, Efectivo, Robusto y Seguro) aplicado en este contexto, simplifica fuertemente los procedimientos analíticos y principalmente permite la extracción simultánea de un impresionante número de micotoxinas, incluso si pertenecen a diferentes clases (Anfossi *et al.*, 2016). Por lo tanto, el método MS tiene la ventaja sobre las otras técnicas de LC para el análisis de micotoxinas en los alimentos porque funciona ionizando moléculas, clasificándolas e identificándolas según su relación masa/carga ( $m/z$ ). También ofrece información química estructural para la identificación molecular del analito basado en  $m/z$  que proporciona el espectro de masas como una técnica de confirmación ideal (Alshannaq y Yu, 2017). Sin embargo, el protocolo habitual de QuEChERS sigue basado en compromisos entre condiciones óptimas de extracción para diferentes químicos que son inherentemente ineficientes y reducen la sensibilidad del método analítico (Ver Tabla 8) (Anfossi *et al.*, 2016).

El tándem de LC-MS/MS ha llegado a ser el método analítico más usado para micotoxinas que pertenecen a diferentes familias químicas, haciendo su determinación cuantitativa eficiente en varios productos alimenticios (Picó, 2016). Un ejemplo es el método de multi-análisis de LC-MS/MS el cual es capaz de determinar más de 380 hongos, bacterias y metabolitos de plantas en cultivos, cereales, alimentos y productos alimenticios. La determinación basada en LC-MS juega un papel muy importante en el descubrimiento de las micotoxinas enmascaradas (Ver Tabla 8) (Krska *et al.*, 2017).

La combinación de HPLC en tándem con MS, resulta una poderosa herramienta para la caracterización e identificación, especialmente para la detección de las llamadas micotoxinas conjugadas, en la cual, la toxina esta usualmente unida a más sustancias polares como la glucosa u otros azúcares (Picó, 2016).

Las Técnicas cromatográficas acopladas a la detección por UV y FLD son principalmente usadas para análisis confirmatorios, esto es corroborar o no el cumplimiento regulatorio previa evaluación mediante una prueba. Los métodos están desarrollados para uno o pocos componentes que están relacionados químicamente y donde usualmente pertenecen a la misma clase de micotoxina. Típicamente cubren todas las micotoxinas reguladas para todos los productos regulados que requieren protocolos (Anfossi *et al.*, 2016).

Finalmente, todos los métodos desarrollados deberán ser validados en una manera que puedan demostrar que son adecuados para dicho fin. A veces, la reproducibilidad, robustez o la validez del método son determinados durante la validación para cada analito. Obviamente, los métodos semi cuantitativos tienen menos requerimientos en este aspecto comparado con los cuantitativos o incluso con los métodos cuantitativos más precisos (Krska *et al.*, 2017).

#### **2.2.4.2 Inmunoquímicos.**

Los métodos comercialmente disponibles para la detección de micotoxinas son principalmente técnicas inmunológicas basadas en la interacción específica entre anticuerpos monoclonales o policlonales y la toxina. Estas técnicas pueden ser divididas en Columna de Inmuno Afinidad (IAC) y Ensayo Inmuno Absorción Ligado a Enzimas (ELISA). Comparado con los métodos cromatográficos, los métodos inmunológicos tienen una alta selectividad, pero el alto costo de anticuerpos y un límite pobre de detección disminuye la aplicación de los métodos inmunológicos (Guo *et al.*, 2015). Debido a la simplicidad, bajo costo, sensibilidad y selectividad, los inmunoensayos son empleados para el primer nivel de examinación y estudios de inspección de contaminación de micotoxinas. Además, las pruebas basadas en inmunoensayos en diversos formatos están continuamente desarrollados con el objetivo de proporcionar sistemas rápidos, portables y de fácil operación (Anfossi *et al.*, 2016). Los métodos inmunoquímicos incluyen a ELISA, Dispositivos de Flujo Lateral (LFD), prueba Dipstick y biosensores. El método de ELISA es probablemente el más comúnmente utilizado para la determinación de micotoxinas, proporciona una determinación rápida con muchos kits comercialmente disponibles para la detección y cuantificación de todas las principales micotoxinas. Esta técnica provee un método rápido, específico y relativamente fácil de usar para el análisis de micotoxinas en los alimentos. Sin embargo, ELISA tiene ciertas desventajas como el potencial de reactividad cruzada y dependencia sobre una matriz específica (Ver Tabla 9) (Alshannaq y Yu, 2017).

El kit comercial sólo detecta una sola micotoxina y está diseñado para un solo uso, puede ser costoso si se necesita analizar muestras con múltiples micotoxinas. Los resultados positivos de ELISA deben ser confirmados por un adecuado método cromatográfico, especialmente al usar una matriz no especificada por el comerciante (Ver Tabla 9) (Alshannaq y Yu, 2017).

**Tabla 9 Métodos inmunológicos utilizados en la detección de micotoxinas y sus características principales.**

<p><b>ELISA</b></p> <p>(Alshannaq y Yu, 2017):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Determinación rápida con kits comerciales y cuantificación de principales micotoxinas.</li> <li>➤ Método rápido, específico y relativamente fácil de usar.</li> <li>➤ Potencial de reactividad cruzada y dependencia sobre una matriz específica.</li> <li>➤ El kit detecta una sola micotoxina y está diseñado para un solo uso, lo cual puede ser costoso.</li> <li>➤ Resultados positivos de ELISA deben ser confirmados por un método cromatográfico.</li> </ul>
<p><b>Biosensores</b></p> <p>(Stroka y Maragos, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Se basan en el reconocimiento biológico y por lo tanto, son susceptibles a los mismos problemas de los inmunoensayos tradicionales como son la sensibilidad, selectividad y el efecto de matriz.</li> </ul> <p>(Picó, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ El uso de biosensores para la detección de micotoxinas está creciendo rápidamente.</li> </ul> <p>(Chauhan <i>et al.</i>, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Los biosensores se han enfocado en algunas características generales como la simplicidad, facilidad de uso, relativa rapidez y facilidad de portabilidad.</li> </ul>
<p><b>FLD</b></p> <p>(Alshannaq y Yu, 2017):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Diseñados para realizarse en el sitio de inspección, resultados en corto tiempo y con la ayuda de dispositivos portátiles simples.</li> <li>➤ Proporcionar resultados semi cuantitativos en menos de 10 minutos, no requiere de equipo especializado y están disponibles comercialmente para la detección de AFs, DON, Toxina T-2, OTA y ZEA.</li> <li>➤ Sin éxito comercial debido a los problemas relacionados a sensibilidad, precisión y alto costo.</li> <li>➤ Recientemente se ha desarrollado la tira reactiva multianalito para la detección simultánea de ZEA, Toxina T-2, Toxina TH-2, DON y FUMs en trigo, avena y maíz.</li> </ul> <p>(Picó, 2016):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Problemas de reproducibilidad, confiabilidad de diferentes matrices que a veces puede limitar su aplicación, junto con la falta de métodos de validación confiable.</li> </ul>
<p><b>Microfluidos</b></p> <p>(Guo <i>et al.</i>, 2015):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ El objetivo es reducir e integrar todos los pasos necesarios para el análisis químico de una muestra en un solo dispositivo.</li> <li>➤ El (<math>\mu</math>TAS) realiza todos los procedimientos de un laboratorio dentro de un simple chip a nivel micrométrico.</li> <li>➤ Baja muestra y consumo de reactivos, disminución de costos de fabricación, diseño flexible, rápido análisis y tiempo de respuesta, alto rendimiento de detección, control preciso del proceso y facilidad de transportar para la detección en campo.</li> </ul>

El uso de biosensores para la detección de micotoxinas está creciendo rápidamente, dentro de los cuales se incluyen biosensores electroquímicos desechables de ADN, biosensores fluorométricos de inmunoafinidad y biosensores basados en película de lípidos o liposomas. Los biosensores están compuestos de un componente biológico (ácido nucleico, enzimas, anticuerpos, células) que reaccionan selectivamente con la micotoxina de interés (Picó, 2016). Los biosensores son métodos indirectos que se basan en el reconocimiento biológico y por lo tanto, son susceptibles a los mismos problemas de los inmunoensayos tradicionales como son la sensibilidad, selectividad y el efecto de matriz. La sensibilidad y selectividad a menudo se abordan durante el desarrollo del elemento de reconocimiento, típicamente un anticuerpo (Ver Tabla 9) (Stroka y Maragos, 2016).

Las recientes técnicas avanzadas como los biosensores se han enfocado en algunas características generales como la simplicidad, facilidad de uso, relativa rapidez y facilidad de portabilidad. Los receptores desarrollados para la detección de micotoxinas son biomoléculas (anticuerpos, DNA y enzimas) y algunos químicos sintéticos (Aptameros, Polímero Molecularmente Impreso (MIP), Mimotopes entre otros) (Chauhan *et al.*, 2016).

En la última década, existe un interés constante en desarrollar tiras de pruebas rápidas para la detección de los principales contaminantes en los alimentos como son los patógenos, residuos de medicamentos veterinarios, pesticidas, alérgenos y micotoxinas. Estos métodos de prueba están diseñados para realizarse en el lugar de inspección, se espera que los resultados se obtengan en un corto tiempo y con la ayuda de dispositivos portátiles simples o incluso, sin utilizar ningún dispositivo o lector. El primer ensayo de la tira reactiva fue desarrollado para la detección de una sola micotoxina como la AFs en alimentos a base de maíz. Después, se desarrolló un inmunoensayo con tira reactiva multianalito para la detección de varias micotoxinas con sensibilidad limitada y detección simultánea de ZEA, Toxina T-2, Toxina TH-2, DON y FUMs en trigo, avena y maíz (Ver Tabla 9) (Alshannaq y Yu, 2017).

Una prueba de LFD puede proporcionar resultados semi cuantitativos en menos de 10 minutos, no requiere de equipo especializado y están disponibles comercialmente para la detección de AFs, DON, Toxina T-2, OTA y ZEA. Muchas pruebas rápidas de tiras para la detección de las principales micotoxinas en diferentes productos alimenticios, no son usadas comúnmente en el campo y no han tenido un éxito comercial debido a los problemas relacionados a la sensibilidad, precisión y alto costo (Alshannaq y Yu, 2017). Adicionalmente, varias inmunotiras o inmunodipsticks, también llamadas LFD, han sido desarrollados para pruebas de micotoxinas en campo, las cuales presentan problemas de reproducibilidad y confiabilidad de diferentes matrices que a veces puede limitar su aplicación, junto con la falta de métodos de validación confiable (Ver Tabla 9) (Picó, 2016).

Existen también dispositivos de microfluidos con el objetivo de reducir e integrar todos los pasos necesarios para el análisis químico de una muestra en un solo dispositivo. El sistema incluye principalmente un tipo de aparato de conducción (por ejemplo, bombas y reactores) y patrones de proceso (por ejemplo, preparación de muestra, filtración, dilución, reacción y detección). Una plataforma analítica de microfluidos, también conocido como Sistema de Análisis Micro Total ( $\mu$ TAS) expande más su aplicación, haciendo toda la configuración de un laboratorio dentro de un simple chip a nivel micrométrico. Proporciona ventajas como baja muestra y consumo de reactivos, disminución de costos de fabricación, diseño flexible con más funciones, rápido análisis y tiempo de respuesta, alto rendimiento de detección, control preciso del proceso (parámetros hidrodinámicos y temperatura) y facilidad de transportar para la detección en campo (Ver Tabla 9) (Guo *et al.*, 2015).

Los métodos basados en inmunoensayos parecen sufrir una limitación potencial en el nuevo escenario de investigación de micotoxinas debido a la selectividad extrema de los mecanismos de reconocimiento molecular, el cual impide la determinación simultánea de diferentes componentes, detección de micotoxinas desconocidas y las estructuras modificadas producidas por el metabolismo de las plantas (Anfossi *et al.*, 2016).

## **2.3 Micotoxinas y la Salud Humana.**

### **2.3.1 Micotoxicosis.**

La exposición a micotoxinas puede causar síndromes tóxicos llamado micotoxicosis, la cual puede afectar varios sistemas de acuerdo al órgano diana de la micotoxina. La micotoxicosis es más frecuente en climas tropicales por los altos niveles de humedad y temperatura. Este efecto aumenta por la falta de un control adecuado de micotoxinas en toda la cadena de producción de alimentos, donde la toxicidad es más pronunciada en personas y niños desnutridos (Peraica, 2016) La mayoría de casos de micotoxicosis (humana y animal) resulta de comer alimentos contaminados y la exposición humana puede ser directa vía cereales o indirecta vía productos de animales como carne, leche y huevos. También, la micotoxicosis ha sido caracterizada como no contagiosa, no transferible y no infecciosa (Mollea y Bosco, 2015). Por último, la micotoxicosis puede considerarse aguda cuando se tiene un comienzo rápido de los síntomas y una respuesta tóxica obvia, mientras que la toxicidad crónica está caracterizada por una exposición a bajas dosis durante un largo periodo de tiempo (Vinderola y Ritieni, 2015).

La ZEA es una micotoxina con toxicidad aguda baja en animales experimentales y no hay reportes de toxicidad aguda en humanos. Los síntomas de la exposición crónica son causados por la interacción de ZEA y sus metabolitos con receptores de estrógenos. Se ha observado Telarquia (desarrollo de senos en niñas) con pseudopubertad precoz en niñas de Costa Rica expuestas a residuos de ZEA en carne (Peraica, 2016).

La AF más frecuente y hepatotóxica es la AFB1, donde los síntomas iniciales son alta temperatura, vómito, dolor abdominal seguido por anorexia, depresión, ictericia, diarrea y fotosensibilidad. Si la exposición continúa, la ictericia progresa rápidamente en hepatoesplenomegalia, ascitis y coma. Las consecuencias a una exposición a largo plazo en cantidades más bajas de AFB1 son daño hepático crónico, cirrosis, ascitis y carcinoma hepatocelular primario (HCC). El riesgo de HCC aumenta de 25 a 30 veces cuando la exposición a AFB1 se combina con el virus de la hepatitis B y C. La Agencia

Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) clasificó la mezcla de AFs naturales (AFB1, AFB2 AFG1 y AFG2) como carcinogénico, mientras que AFM1 se clasificó como posible carcinogénico para humanos (Ver Tabla 10) (Peraica, 2016). Hay evidencias fuertes de que la carcinogenicidad de las AFs opera a través de un mecanismo de acción genotóxico que involucra la activación metabólica de un metabolito epóxido, la formación de aductos de ADN y la modificación del Gen TP53 (Vettorazzi y López, 2016).

**Tabla 10. Clasificación de principales micotoxinas por la IARC (Ostry *et al.*, 2017).**

<b>Grupo IARC</b>	<b>Definición</b>	<b>Micotoxina</b>
1	Micotoxina carcinogénica para humanos.	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 y <b>AFM1*</b> .
2A	Micotoxina probablemente carcinogénica para humanos.	
2B	Micotoxina es posible carcinogénica para humanos.	<b>AFM1*</b> , FB1, FB2, OTA y STE.
3	Micotoxina no es clasificable en cuanto a su carcinogenicidad en humanos.	DON, NIV, PAT, Toxina T-2, ZEA.
4	Micotoxina es probablemente NO carcinogénica para humanos.	

**AFM1\* Cambio del grupo 2B al 1.**

La FUM más frecuentemente encontrada es FB1, en la cual, una intoxicación aguda sólo causa síntomas gastrointestinales como diarrea, vómito y borborismo. Una exposición crónica a FB1 está conectada a una alta tasa de defectos en el tubo neural (malformaciones cerebrales y de la médula espinal), en regiones donde el alimento principal es el maíz (sur de Texas en los US, México, Guatemala, China y el sur de África). La FB1 está clasificada como posible carcinogénico (Ver Tabla 10) (Peraica, 2016).

Las OTs son un grupo de micotoxinas que contaminan los cultivos de los campos y el almacenamiento. Existe un solo caso en humanos que resultó en fallo renal agudo. Se sospecha que la exposición crónica a la OT más tóxica (OTA), es el principal agente causal de la Nefropatía Endémica de los Balcanes (BEN) y los tumores uroteliales que se encuentra en BEN (Peraica, 2016). Tomando en cuenta toda la información respecto a la OTA, la IARC concluyó que hay suficiente evidencia en animales de experimentación para la carcinogenicidad de OTA, no así, respecto a carcinogenicidad de OTA en humanos (Ver Tabla 10) (Vettorazzi y López, 2016).

### **2.3.2 Células y moléculas afectadas.**

El estrés oxidativo ocurre cuando hay un incremento en la producción de radicales libres y metabolitos reactivos denominados oxidantes, los cuales exceden la capacidad de la célula para eliminar los oxidantes mediante mecanismos protectores llamados antioxidantes. El exceso de oxidantes provoca daños en las biomoléculas de la célula, tejido u órgano con un impacto potencial de daño sobre todo el organismo. Compuesto de glutamina, cisteína, glicina y utilizado como antioxidante, el GSH es el principal tiorina proteico responsable de la homeostasis y el equilibrio redox de la célula. Existe oxidado GSSG y en su forma libre GSH, donde sólo éste último exhibe actividad antioxidante. Durante el estrés oxidativo, el GSH es utilizado para neutralizar especies reactivas de oxígeno (hidroxilo (OH), hidroperoxilo (HO<sub>2</sub>) y peróxido (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)) que conducen a la formación de GSSG oxidado, siendo éste un subproducto de la actividad de absorción de radicales libres por parte de GSH y que carece de función antioxidante. La producción de GSH es por dos mecanismos, el primero por síntesis de novo ocurre en una reacción de dos pasos catalizada por dos enzimas separadas; Glutamina-Cisteína Ligasa (GCL) y por Glutación Sintasa (GS). El segundo es por reciclado de GSSG, donde éste último es reducido vía la enzima Glutación Reductasa (GR) (Guilford y Hope, 2014).

En investigaciones sobre los mecanismos de deficiencia de GSH, se ha demostrado que la desregulación de la defensa antioxidante relacionada con el GSH ocurre por la disfunción del Factor Nuclear Eritroide-Relacionado a Factor 2 (NrF2) anclado al citosol, este estimula la expresión génica de enzimas relacionadas con la defensa antioxidante y la producción de GSH en la célula. Cuando aumenta el estrés oxidativo, NrF2 es liberado y traslocado hacia el núcleo donde activa y regula al alza varios genes asociados con la síntesis de GSH y la defensa antioxidante. Por lo tanto, sin la función de NrF2, los genes que forman GCL y GS no se expresan y no se forma el GSH (Guilford y Hope, 2014). Las AFs generalmente no causan problemas de salud cuando están ligadas al glutatión mediante la interacción con la enzima Glutatión N-Transferasa (GTS), la cual facilita la excreción de la micotoxina. De esta manera, tanto la disponibilidad de glutatión reducido como de las enzimas GTS son importantes en la prevención de patologías relacionadas con las micotoxinas (Guilford y Hope, 2014). Existe evidencia en animales que la OTA causa estrés oxidante a causa de una regulación negativa de los genes que son estimulados por la exposición al oxidante. Así, la disminución de los genes regulados por NrF2, dan como resultado una reducción de los mecanismos de defensa, sugiriendo que la OTA inhibe su propia desintoxicación (Guilford y Hope, 2014).

La exposición a micotoxinas en humanos y animales afecta la respuesta inmune del huésped a agentes infecciosos, donde uno de los principales sitios de exposición son los epitelios de la mucosa en el intestino. Dependiendo del régimen de dosis, la respuesta inmune puede ser regulada diferencialmente por micotoxinas. La exposición a bajas dosis de DON u otro tipo de TCT como NIV, induce la producción de quimosinas en humanos o en células epiteliales intestinales (IECs) en ratón, producción de IL-2 en linfocitos humanos y producción de citosinas proinflamatorias como IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$  en macrófagos humanos (Park *et al.*, 2015).

En la mayoría de los modelos de infección in vitro o in vivo con animales, las micotoxinas como DON y toxina T-2 aumentan las infecciones por *Salmonella spp.* en los macrófagos y aumentan la respuesta inflamatoria a través de la regulación positiva

de citosinas y quimosinas proinflamatorias (Park *et al.*, 2015). La exposición a algunas micotoxinas como la FB1, MON y OTA, interfieren con la defensa del huésped contra especies de *E. coli*, guiando al fracaso de la depuración bacteriana, promoviendo la colonización e invasión en la mucosa, así como la respuesta inflamatoria. Por lo tanto, la exposición a micotoxinas puede hacer que los hospederos sean más susceptibles a las enfermedades agudas y crónicas mediadas por *E. coli* (Park *et al.*, 2015). Las enfermedades entéricas severas causadas por *C. perfringens* pueden ser más probables después de la exposición a micotoxinas como DON o FB1. Mecánicamente, el incremento a la predisposición a los trastornos entéricos está asociada con la interrupción de la barrera intestinal y una mayor toxicidad en el epitelio intestinal en respuesta a las micotoxinas (Park *et al.*, 2015).

Varios estudios han demostrado los efectos citotóxicos de especies de *Fusarium* que inhiben la viabilidad celular e incluso causan muerte celular. Las micotoxinas como la FB1, ZEA, ENNs, toxina T-2 y los TCTs producidos por especies de *Fusarium*, ejercen efectos citotóxicos en células humanas y animales a diferentes concentraciones y duración a la exposición. El hongo *Penicillium* también produce las micotoxinas OTA, CIT, PAT y ácido penicílico, las cuales tienen efectos citotóxicos sobre líneas de células de mamíferos que reducen la viabilidad celular dependiente de la concentración y la duración a la exposición (Egbuta *et al.*, 2017).

Los hongos filamentosos son uno de los factores responsables del daño al ADN junto a los químicos carcinogénicos, metabolitos, radiación ultravioleta e hidrocarburos aromáticos policíclicos. La producción de metabolitos como las micotoxinas, colocan a los hongos filamentosos en el grupo de posible causa de daño al ADN, tanto en células humanas como animales. Una de las principales razones porque el ADN es susceptible a daños por micotoxinas es porque los heteroátomos nucleofílicos de las bases orgánicas de los ácidos nucleicos como el oxígeno o el nitrógeno, son susceptibles a los ataques de micotoxinas formando enlaces covalentes con ellos. Esta asociación entre el DNA y las micotoxinas resulta en la formación de aductos de DNA, los cuales perjudican la síntesis de DNA y finalmente incrementan la activación de oncogenes

(genes implicados en el inicio de la formación del cáncer). Ha sido reportado que la AFB1, OTA, ZEA y STE entre otras micotoxinas, se unen al DNA en las células para formar los aductos con DNA (Egbuta *et al.*, 2017).

### **2.3.3 Tratamiento con probióticos.**

Los probióticos son definidos por la ONU y la WHO como “microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedero”. Las cepas exitosas de probióticos necesitan ser capaces de sobrevivir al paso por el tracto GI superior, multiplicarse, colonizar y funcionar en el intestino. Las cepas de bacterias del ácido láctico especialmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son empleadas frecuentemente como probióticos en productos lácteos fermentados. Los efectos benéficos de los probióticos han sido reportados no sólo en enfermedades GI, sino también en enfermedades hepáticas donde la composición de la microbiota intestinal está alterada. El mecanismo exacto de los efectos benéficos de los probióticos en el eje intestino-hígado aún no está revelado completamente, pero los probióticos pueden ejercer sus efectos a través de (i) modulación de la composición de la microbiota en el intestino y la producción del factor antimicrobiano; (ii) mejora en la función de la barrera intestinal y (iii) modulación de la inmunidad local y sistémica (Wan y El-Nezami, 2018).

De acuerdo con el conocimiento actual sobre el papel de los probióticos contra las micotoxinas o en contra de sus efectos, es sobre la prevención o restauración del daño crónico causado por las micotoxinas donde los probióticos podrían tener un papel importante, considerando algunos estudios in vivo e in vitro (Vinderola y Ritieni, 2015). Entre los pocos estudios sobre el uso de probióticos como enfoque dietético para reducir el riesgo de HCC inducido por las AFs tenemos a *Lactobacillus rhamnosus* LC705 y *Propionibacterium freudenreichii* Var. *shermanii*, los cuales podrían reducir la excreción del aducto AFs-ADN (AFB1-N7-guanina) en la orina (Wan y El-Nezam, 2018). La concentración de AFB1-N7-guanina disminuyó en un porcentaje del 36% en 3

semanas y 55% en 5 semanas. Por lo tanto, un mayor riesgo de cáncer de hígado se asocia con una excreción elevada del aducto AFs-ADN (Vinderola y Ritieni, 2015).

También se demostró la capacidad de los probióticos para unir e inmovilizar compuestos tóxicos como las micotoxinas ex vivo en bucles duodenales ligados a pollos de una semana de edad y la reducción en la captación dentro del tejido intestinal en un 74%. Por lo tanto, se ha investigado en animales la capacidad potencial de cepas seleccionadas para unirse a AFB1 como modelo de micotoxina, demostrándose que tanto la toxicidad y biodisponibilidad de AFB1 se reduce con la administración de probióticos (Wan y El-Nezami, 2018).

## **2.4 Micotoxinas y el Calentamiento Global.**

### **2.4.1 Cambio Climático (CC)**

Cambios extremos en el clima han sido observados aproximadamente desde 1950, algunos de estos cambios han sido relacionados por la influencia humana, incluyendo una disminución de las temperaturas frías extremas, un aumento en las temperaturas cálidas extremas, un aumento en los niveles del mar y aumento en el número de eventos de precipitación entre otros. La influencia humana en nuestro sistema climático es clara, donde las recientes Emisiones de Gases Invernadero (GHGEs) son las más altas registradas en la historia (Kniel y Spanninger, 2016). Este incremento ha sido por los esfuerzos en apoyar el crecimiento de la población, incluyendo el incremento de la cantidad de tierras cultivables y la dependencia de combustibles fósiles (Raiten y Aimone, 2017).

Existe una necesidad de actualizar las políticas relacionadas con el CC en todos los ámbitos locales y a nivel global. Hasta la fecha, la preocupación por el CC en Norte América no ha sido tan grande como en todo el mundo, pero se espera que esto cambie. Quizás, lo que influye en porque el CC tiene tanta controversia, es porque las

personas lo experimentan de una manera tan diferente en todo el mundo (Kniel y Spanninger, 2016).

Los patrones climáticos de una región como temperatura, precipitación y viento están ligados con los sistemas biofísicos (atmósfera, glaciales, océanos, ríos, lagos, tierra para agricultura, bosques y humedales). El clima de la tierra ha variado a través del tiempo, sin embargo, las evidencias muestran que estos patrones de cambio recientemente han llegado a ser cada vez más variados (Raiten y Aimone, 2017). Las condiciones de cambio climático predichas para el siglo 21, incluyen inviernos más suaves y húmedos, veranos calurosos y en general eventos de climas extremos (Ver Tabla 11). Como los climas calurosos y los patrones del clima cambian, la producción de micotoxinas podría incrementarse en áreas donde los cultivos crecen de manera rentable. Un ejemplo es el maíz, el cual es un cultivo vulnerable que crece en regiones cálidas de África, Asia y América (Kniel y Spanninger, 2016).

#### **2.4.2 Seguridad alimentaria.**

La seguridad alimentaria está determinada por tres componentes claves: (a) suficiente disponibilidad de alimento (b) acceso al alimento y (c) calidad y nutrición. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha examinado el impacto potencial de CC en el Centro y Sur de Europa, donde se ha sugerido que los efectos serán regionales, perjudiciales y ventajosos dependiendo la región geográfica. Basado en datos disponibles, se espera que la concentración atmosférica de CO<sub>2</sub> se doble o triplique de (350-450 a 800-1200 ppm), unido a sequía y a un incremento de la temperatura de 2°C-5°C en los próximos 25-50 años. Similares impactos se han predicho en otras zonas del mundo, específicamente partes de Asia, Centro y Sur de América, las cuales son importantes productores de maíz, trigo y soja para su uso como alimento (Medina *et al.*, 2017). El CC puede incrementar el riesgo de inseguridad alimentaria a través de reducciones en la disponibilidad de comida, utilización y estabilidad en el sistema de alimentos. El escenario además exacerba el riesgo de inseguridad alimentaria y

desnutrición, particularmente en regiones en desarrollo como África y el sur de Asia (Raiten y Aimone, 2017).

La agricultura a través de la historia ha superado limitaciones y ha logrado una mayor producción de alimentos mediante la adopción de nuevas tecnologías agrícolas. Sin embargo, la cantidad y calidad nutricional de la producción agrícola depende de un equilibrio dinámico apropiado de la calidad del suelo, disponibilidad del agua, luz solar, CO<sub>2</sub>, temperatura adecuada y otros factores. La producción disminuye bajo condiciones extremas del clima (Ver Tabla 11), plagas, patógenos y contaminación. La temperatura global de la tierra entre 2006-2015, fue de 1°C más cálido que el promedio del siglo XX y las concentraciones atmosféricas actuales de CO<sub>2</sub> (400 ppm) continuarían su aumento hasta valores de 540 ppm para el 2100 (Myers *et al.*, 2017).

La disponibilidad de recursos hídricos para la agricultura estará influenciada por cambios en los patrones de precipitación, pérdida de glaciares, derretimiento de nieve estacional temprana e intrusión de agua salada en acuíferos costeros (Ver Tabla 11). Las proyecciones del modelo climático generalmente indican menos precipitación en las regiones actualmente áridas o semiáridas y una mayor precipitación en las latitudes polares (Myers *et al.*, 2017).

**Tabla 11. Cambios en el medio ambiente, su relación en la producción y disponibilidad de alimentos (Raiten y Aimone, 2017).**

<b>Incremento de la temperatura promedio.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• La temperatura promedio de la tierra está creciendo.</li> <li>• Probable efecto perjudicial en regiones áridas y tropicales.</li> <li>• Probable efecto positivo en la producción de cultivos en latitudes medias y altas.</li> </ul>
<b>Eventos climáticos extremos (tormentas severas, tornados, tifón/ciclón).</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Importantes lluvias en regiones semi-áridas.</li> <li>• Incremento de eventos que afectarán la agricultura, producción de alimentos, almacenamiento y la salud, en un entorno de recursos limitados debido a la pérdida de vidas, medios de sustento, falta de saneamiento e impacto en el desarrollo económico.</li> </ul>
<b>Patrones de precipitación promedio.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se espera que cambien, pero no de manera predecible, donde algunas áreas se beneficiaran más y otras menos.</li> <li>• Las áreas altamente dependientes de precipitación estacional para la agricultura serán las más afectadas.</li> <li>• Cambios anticipados podrían incluir modificaciones en los rendimientos, superficie cultivable, tipos de alimentos a cultivar, vulnerabilidad a enfermedades en plantas, animales y humanos transmitidos por vectores u otros.</li> </ul>
<b>Incremento de CO<sub>2</sub> y GHGEs.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• En los últimos 10 años los niveles de GHGEs han aumentado significativamente.</li> <li>• El aumento de los GHGEs ha llevado a cambios interrelacionados en el clima de la tierra y los sistemas alimentarios impactados:             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidencia experimental indica que la composición de nutrientes en los cultivos se ve afectada negativamente por el aumento en las concentraciones de CO<sub>2</sub>.</li> <li>• No se ha establecido el impacto en la salud de las plantas por el aumento de CO<sub>2</sub>.</li> </ul> </li> </ul>
<b>Oleadas de calor.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los eventos que se consideraban con temperaturas extremas actualmente, serán más comunes en el futuro y tendrán un impacto negativo en las etapas claves de la producción agrícola.</li> </ul>
<b>Sequias.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Asociado con la disminución de la producción de alimentos, cantidad-calidad de agua y aumento de la inseguridad alimentaria.</li> <li>• Aumentando en intensidad, frecuencia y duración.</li> </ul>
<b>Derretimiento de los glaciares.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• El derretimiento de los glaciares se asociaba con un aumento en el flujo de agua de los ríos y una mayor disponibilidad estacional de agua. Sin embargo, la pérdida precipitada de glaciares debido al incremento de temperatura tendrá un impacto significativo en este patrón y aumentará un patrón variable de nieve/lluvia.</li> </ul>
<b>Nivel del mar, acidificación y cambios de temperatura.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los cambios en la acidez y temperatura afectaran la pesca como fuente de alimentación.</li> <li>• El incremento del nivel del mar también afectará el daño causado por mareas de tormentas.</li> <li>• Amenaza significativa para las comunidades costeras por la pérdida de propiedades, tierras agrícolas y aguas subterráneas debido a la contaminación por la sal.</li> </ul>

Múltiples factores afectan la presencia y producción de micotoxinas en cultivos que pueden ser consumidos por humanos y animales, donde varios de estos factores pueden ser influenciados por cambios en el clima. Por lo tanto, cambios en los patrones del clima amenazan la seguridad alimentaria, incluyendo el incremento de la producción del moho. Sin embargo, debido a la compleja naturaleza de la interacción hospedero-patógeno que guía la producción de micotoxinas, en algunos casos el CC podría disminuir la severidad de las epidemias por temperaturas excesivas y una reducción de la humedad, lo cual podría reducir la producción de micotoxinas (Kniel y Spanninger, 2016).

### **2.4.3 Predicción de impacto o riesgos.**

El calentamiento global debido al CC está llegando a ser cada vez más aceptado y cada año que pasa es más evidente por el incremento de la temperatura en el aire y océano, el aumento del nivel del mar y el derretimiento a gran escala del hielo y nieve. Los modelos climáticos globales dan más de un 90% de probabilidad de que se registren las temporadas más calurosas como una norma en muchos lugares templados. Es importante destacar que las temperaturas en la temporada de cultivo en los trópicos y subtrópicos superarán las temperaturas más extremas registradas en el siglo XX. Las peores consecuencias del CC pueden no ser sentidas hasta el 2050, pero se esperan efectos adversos significativos a corto plazo en las condiciones extremas más frecuentes (Paterson y Lima, 2017). Muchas de las actuales predicciones e hipótesis sobre el efecto del CC en enfermedades y hongos micotoxigénicos están basadas en un conjunto de datos históricos o condiciones climáticas actuales que predominantemente consideran interacciones entre disponibilidad de agua y temperatura (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2016).

La temperatura templada y humedad alta son factores claves para los hongos micotoxigénicos e influyen en su germinación, crecimiento, esporulación y producción de micotoxinas. No solo los incrementos de temperatura alteraran el crecimiento y el

potencial toxigénico de los patógenos fúngicos, sino que también se verá afectada su capacidad para competir. Nuevas combinaciones de micotoxinas-productos son motivo de preocupación, ya que permite a nuevos genotipos de hongos con alta agresividad y producción de micotoxinas, incluidos los hongos termófilos y termotolerantes (TTF), tener la capacidad de producir nuevos metabolitos secundarios. Las investigaciones han considerado el efecto del CC en la fisiología de la producción de las micotoxinas principales sin considerar con detalle nuevos hongos micotoxigénicos y micotoxinas potenciales en el futuro. Esto significa que la distribución y tipos de micotoxinas pueden cambiar significativamente, dando lugar a nuevas micotoxinas emergentes (Paterson y Lima, 2017).

Las especies fúngicas que pueden infectar los cultivos tienen su propio rango de condiciones ambientales óptimas para infectar cultivos, colonizar, producir toxinas y sobrevivir. Cambios en las condiciones climáticas provocarán modificaciones en la población de hongos y los patrones de micotoxinas, donde un incremento de temperatura en un área determinada afectará directamente la presencia y abundancia de especies en los cultivos que crecen en esa zona. Un ejemplo es el maíz, un cultivo adecuado que hospeda a varios hongos productores de micotoxinas, que incluyen entre otros a *F. graminearum* y *A. flavus*. Basado en el área de crecimiento, uno de los hongos domina y las micotoxinas detectadas varían consecuentemente (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2016).

Globalmente, el incremento de la temperatura promedio en ciertos rangos de latitudes afectará la composición en esa área. Por ejemplo, podemos mencionar que hace un decenio en Europa no se observaban especies de *Aspergillus spp.*, que es típico de regiones tropicales y subtropicales con altas temperaturas y sequías. En Europa, específicamente en Italia y los Balcanes, se han observado desde el 2003-2014 la aparición de brotes de AFs y DON (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2016). La aparición de AFs en lugares que no eran comunes podría ser más frecuente como este reciente brote de AFs donde el clima seco se prolonga. La sequía es otro modulador de micotoxinas que se espera ser más frecuente dependiendo de la geografía. En este siglo, se proyectan

severas sequias en el oeste de África y sur de Europa. Mientras que, en Europa central, Centro América, Noreste de Brasil, Sur de África y el Centro Norte de América se proyectan sequias de intensas a moderadas. Además, la sequía es estresante para plantas, quebrantando la inmunidad natural contra patógenos como las micotoxinas producidas por hongos. Las precipitaciones pluviales es otro factor ambiental que juega un importante papel en la presencia de micotoxinas en los alimentos, ya que lluvias fuertes y fuera de temporada incrementan la dispersión de micotoxinas y favorecen la contaminación por hongos (Marroquín-Cardona *et al.*, 2014).

Se sugiere que *A. flavus* y *A. parasiticus* pueden llegar a extinguirse en regiones actualmente cálidas y habrá regiones donde hay demasiado calor para que los hongos comunes produzcan micotoxinas de una manera inmediata o tardía. Estos hongos prosperan a temperaturas altas no superiores a los 41°C y a una precipitación menor. La temperatura mayor a 35°C y clima seco en Europa entre 2003-2012 provocó que *A. flavus* fuera capaz de colonizar el maíz en la etapa de maduración, superando a especies de *Fusarium* como *F. verticillioides* que contaminaban el maíz con FUMs (Paterson y Lima, 2017).

Los TTF son la microbiota que se desarrolla en masas apiladas de material vegetal que se auto calienta, pilas de productos agrícolas y forestales, y otras acumulaciones de materia orgánica en las que el ambiente cálido, húmedo y aeróbico proporciona las condiciones para el desarrollo. Por lo tanto, los TTF podrían infectar los cultivos ya que están adaptados a sustratos similares y habría poca competencia por las altas temperaturas. Por lo tanto, un hongo aflatoxigénico podría ser superado fácilmente por los TTF si se adaptara a crecer en los mismos cultivos, aunque aún falta saber más sobre factores ambientales que permitan a estos hongos crecer, sobrevivir e interactuar con los cultivos y la capacidad de producir micotoxinas bajo el contexto del CC (Paterson y Lima, 2017).

Nuevas estrategias para monitorear y predecir la contaminación por micotoxinas en un alimento específico o en una región geográfica está en reciente desarrollo para intentar

identificar y predecir condiciones medioambientales presentes que favorecen la proliferación de micotoxinas. Variables del clima como humedad, precipitación pluvial, temperatura, estado de la planta y resistencia a infecciones, pueden ser introducidos a la simulación (Marroquín-Cardona *et al.*, 2014).

Hace un par de años, se realizaron dos estudios cuantitativos de los efectos del CC para aplicarse a la contaminación por micotoxinas en granos de cereal, donde ambos modelos se desarrollaron utilizándose datos históricos observados. La primera estimación se enfocó en concentraciones de DON en trigo en el oeste de Europa para el 2040, con un enfoque de modelado en primavera e invierno. Se utilizaron datos de fenología del trigo, variables como la fecha de florecimiento, duración del periodo entre el florecimiento y la maduración completa en días, la resistencia del trigo a *Fusarium spp.*, variables de humedad relativa, temperatura y lluvia durante las etapas críticas del desarrollo del trigo. Además, se utilizó el generador meteorológico para obtener la precipitación diaria, temperatura máxima-mínima y radiación solar. Los resultados mostraron una mayor contaminación de DON al trigo en temporada de primavera. Por otro lado, el modelo para predecir la futura contaminación de maíz por AFs en toda Europa mostró una reducción en la duración de la temporada de cultivo, fecha de floración y cosechas más tempranas, aumento en la contaminación del maíz por AFs en un escenario de +2°C en países del sur de Europa como España, Italia y los Balcanes (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2016).

Los resultados de los análisis de la predicción por modelado deben interpretarse cuidadosamente y no se debe considerar las predicciones como precisas, ya que usan datos de lo sucedido anteriormente y se introducen incertidumbres que influyen en los resultados de la evaluación de impacto de las micotoxinas (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2016). Además, se sugiere que hay vacíos en relación a los modelos que predicen el impacto de las micotoxinas por el CC que podrían mejorarse con la entrada de información más detallada y mejores aportaciones sobre las interacciones de la temperatura, aw y CO<sub>2</sub> en las condiciones de crecimiento de las micotoxinas para poder realizar modelos más robustos (Medina *et al.*, 2017).

Las predicciones sobre el CC pueden parecer una causa razonable e inevitable en el incremento de micotoxinas que prevalecen en los alimentos. Sin embargo, hacer cumplir las legislaciones puede hacer tolerable la carga de micotoxinas al menos en países desarrollados. Por el contrario, en países en desarrollo, los efectos de las micotoxinas podrían ser inevitables y no muy tolerables. Adicionalmente, la población mundial para el 2050 se espera que incremente a 9.6 billones, donde la situación en un futuro cercano puede cambiar tanto en naciones desarrolladas como en desarrollo (Marroquín-Cardona *et al.*, 2014). Finalmente, las micotoxinas emergentes pueden llegar a ser importantes en el CC, donde la EFSA ha emitido opiniones científicas sobre los riesgos en animales y salud pública relacionado a la presencia de NIV, T-2, Toxina TH-2, CIT, BEA y ENNs en alimentos y piensos (Paterson y Lima, 2017).

### 3. DISCUSIÓN.

Si bien hay evidencia que muestran que las toxinas han jugado un rol importante hasta nuestros días (Waskiewicz, 2014), podría haber controversia respecto a que las micotoxinas han ocasionado las mayores epidemias en humanos y animales a través de la historia como dice Pitt (2014). No obstante, el impacto de las micotoxinas no puede compararse con la epidemia del Ergotismo, producida por el hongo *Claviceps purpurea* en granos de centeno, que efectivamente si fue una epidemia de mucha mayor importancia, como el mismo Pitt (2014) lo comenta.

Desde 1955 a la fecha, se han realizado varias investigaciones referentes a las micotoxinas que han sido publicadas en numerosos artículos y libros (Waskiewicz, 2014). Sin embargo, la persona sin ninguna relación o conocimiento acerca de ellas, puede tener una información referente a las micotoxinas un tanto confusa o quizás totalmente desconocida. En el mejor de los casos es posible relacionar a las micotoxinas con hongos comestibles, enfermedad adquirida por un animal o una toxina producida por un microbio que puede dañar la salud.

Una de las definiciones de micotoxinas que más se utiliza en los artículos es la de “productos naturales elaborados por hongos que evocan una respuesta tóxica cuando se introducen en bajas concentraciones en vertebrados superiores y otros animales por una ruta natural” (Gruber-Dorninger *et al.*, 2016) y de manera general “metabolitos secundarios producidos por hongos” la cual es relativamente breve e insuficiente si se requiere obtener una idea más amplia. La ruta natural por la cual es administrada la micotoxina a nuestro cuerpo es principalmente a través de los alimentos.

Analizando solamente la segunda parte de la Tabla 2 (Pitt, 2014), se puede deducir que diversos géneros de hongos pueden producir varias micotoxinas y una misma micotoxina puede ser producida por varios géneros de hongos. Un ejemplo es *Aspergillus* que puede producir AFs, OTAs, TeA y STE entre otras. Por otro lado, la OTA y el TeA pueden ser producidos tanto por *Aspergillus* como por *Penicillium*.

Las principales micotoxinas que afectan los alimentos, piensos y pueden provocar los mayores daños a la salud son la AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2. En investigaciones relevantes sobre las AFs, Kumar *et al.* (2017) hace referencia al crecimiento del hongo y la producción de AFB1 que puede ser afectada por la temperatura, la actividad de agua y el CO<sub>2</sub>. Dichas variables tienen puntos óptimos para la producción o bien la reducción de AFB1 que son importantes conocer para poder prevenir, controlar y predecir futuros cambios. Otros ensayos muestran que la AFB1 incrementa la expresión de citocinas pro-inflamatorias por las células NK y es la responsable de efectos carcinogénicos en el riñón, lo cual, también es relevante saber porque todos los futuros estudios para el tratamiento y la producción de nuevos fármacos pueden enfocarse en células específicas y en el órgano dañado.

La FB1 es la principal micotoxina de la familia de las FUMs que es producida por un patógeno primario ampliamente distribuido en las cosechas de maíz. Las FUMs pueden ser importantes en países como el nuestro, donde el maíz es la base de la alimentación diaria por el consumo principalmente de tortilla y otros productos derivados del maíz. Un punto destacado que escribe Kumar *et al.* (2017) es la inducción de la hidrólisis de las FUMs por el proceso de nixtamalización de la tortilla, el cual no elimina completamente la toxina del maíz contaminado y las FUMs pueden ser convertidas en productos de toxicidad desconocida. Además, sería importante tomar en cuenta si el maíz recibió medidas de prevención desde la pre/post cosecha, algún tratamiento por parte de la industria procesadora o si provenía directamente del agricultor que siembra, cosecha, vende y prepara para su autoconsumo.

Otras micotoxinas importantes son la OTA, con resistencia a la acidez y altas temperaturas, los TCTs (DON y Toxina T-2) y la ZEA, las cuales son estables a procesos de cocción. Por lo anterior, Kumar *et al.* (2017) nos dice que estas micotoxinas son difíciles de eliminar de los alimentos una vez contaminados y por consecuencia, son un peligro para la salud humana y animal. Por último, la micotoxina PAT es relevante en la industria que procesa frutas como la manzana, uva, pera y

durazno (Kumar *et al.*, 2017). Es de resaltar, que principalmente la manzana y la uva, son las frutas más procesadas para la elaboración de varios productos de consumo humano en el mundo. Por lo tanto, la contaminación de productos por PAT, puede provocar daños en la salud y pérdidas económicas considerables.

Los estudios en humanos y animales presentados por Assunção *et al.* (2016), indican que se está más expuesto a múltiples micotoxinas que a una sola por la natural co-ocurrencia de estas en los alimentos. Lo anterior tiene bastante lógica, pero no lo soporta satisfactoriamente el dato presentado por Rodrigues y Naehrer (2012), donde indica que el 48% de 7049 muestras de alimentos analizados estaban contaminados por dos o más micotoxinas. El que si muestra un promedio satisfactorio es el programa de Spectrum 380 de BIOMIN, donde un típico producto agrícola contiene en promedio 30 diferentes metabolitos de micotoxinas (Krska *et al.*, 2017), aunque no detalla los nombres de las micotoxinas más frecuentes.

De la Tabla 3 realizada por Smith *et al.* (2016) sobre las micotoxinas combinadas por continente podemos analizar:

- La combinación de AFs+FUM es posible que se encuentren principalmente en climas tropicales como en África, Asia y América del Sur. En cuanto a AFs-OTA sólo en África y Europa.
- En regiones templadas y frías de Europa y Norte América, la mezcla más común de micotoxinas es DON-ZEA.
- La mezcla de micotoxinas con las FUMs se encuentra en zonas calurosas como África, Asia y América del Sur.
- Seguramente, las mezclas binarias son las más abundantes y frecuentes en todo el mundo.
- Las principales mezclas de micotoxinas fueron AFs+OTA, AFs+FUM y DON+ZEA, encontradas en un 21%, 20% y 13% respectivamente.

Se puede observar claramente en la Tabla 4 que el trigo es el principal cereal reportado que contiene micotoxinas enmascaradas provenientes de su predecesor como es DON, ZEN, T-2, HT2 y NIV, siendo todas las micotoxinas anteriores producidas por *Fusarium* y el blanco más destacado para el metabolismo de las plantas.

De acuerdo con Gratz (2017), los conjugados de micotoxinas enmascaradas más comúnmente detectados como DON-3-Gluc, NIV-3-Gluc, HT2-Glu y ZEN-14-Gluc, son significativamente menos tóxicas que sus componentes predecesores libres ya que son estables en el tracto GI superior y su absorción intestinal parece significativamente menor que las micotoxinas libres. Por otro lado, Kovalsky *et al.* (2016) explican que los efectos tóxicos de las micotoxinas enmascaradas podrían aumentar o disminuir y Rychlik *et al.* (2014) a su vez, indica que en los últimos años se ha demostrado que tanto el glucósido de ZEN-14-Gluc como DON-3-Gluc tienen el potencial tóxico. Por lo anterior, queda claro que la literatura es bastante limitada en lo que se refiere a evaluar el destino de la micotoxina enmascarada en el intestino para poder predecir su contribución a la toxicidad, ya que la mayoría de los trabajos han sido desarrollados principalmente para DON-3-Gluc y ZEN-14-Gluc. Finalmente, en la actualidad no existen suficientes estudios sobre las micotoxinas conjugadas en general, lo que afecta de igual forma no poder establecer límites máximos toxicológicos de referencia en alimentos/piensos, en lugar de basarse exclusivamente en los límites de los compuestos parentales de ZEA Y DON.

Gruber-Dorninger (2016) hace énfasis con mucha razón en que la definición actual de micotoxina emergente como “aquellas que no se determinan rutinariamente y no están reguladas legislativamente” está muy abierta a muchos más metabolitos fúngicos con toxicidad conocida o sospechosa. Además, hay diferencias respecto a la micotoxina emergente STE, donde Pitt (2016) la cataloga con mínima toxicidad y la IARC la clasifica en el grupo 2B. Por lo tanto, habría que investigar si ya hay países que regulen la STE para ya no clasificarla como micotoxina emergente, puesto que toda micotoxina emergente puede llegar a tener el potencial de clasificarse en cualquier momento como una micotoxina principal que debe ser regulada.

De la Tabla 5 sobre las principales micotoxinas, especies que la producen y productos alimenticios afectados, se confirma que los cereales y sus productos derivados, granos, semillas y frutas secas, son los alimentos que más pueden estar contaminados por las AFs, FUMs, OTAs, TCTs, ZEA y hasta por Alcaloides de Ergot. En cuanto a los géneros que producen las micotoxinas antes mencionadas, son los mismos que hemos hablado anteriormente como *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Por lo tanto, para protección de la salud humana es indispensable adoptar medidas que logren garantizar que los alimentos inseguros no sean colocados en el mercado como lo indica (Oliveira y Becerra, 2016). Una forma de alcanzar este objetivo, es realizar lo que Stoev (2015) escribe sobre los límites de algunas micotoxinas en productos, el cual debe ser elegido dependiendo del efecto toxicológico de la micotoxina, la ocurrencia de micotoxinas en varios productos y la disponibilidad de métodos de muestra y análisis. Adicionalmente, Moretti *et al.* (2017) complementan al decir que los límites deben estar respaldados en confiabilidad y extensa investigación, a fin de evitar restricciones innecesarias y pérdidas económicas subsecuentes.

Los niveles de contaminación por micotoxinas que se registran a nivel mundial pueden diferir drásticamente de acuerdo a las diferentes áreas geográficas, a su desarrollo social y económico. Un ejemplo es la completa y detallada legislación que tiene Europa sobre micotoxinas en alimentos (Stoev, 2015). Además, este autor comenta que debe existir una tendencia en armonizar las leyes de legislación de micotoxinas entre bloques comerciales y países. La armonización debe ser el camino para lograr alimentos seguros tanto en el comercio interno como externo de un país o bloque comercial. Sin embargo, la desventaja económica entre países desarrollados y en desarrollo, podría ser el principal inconveniente para una armonización global.

Es importante hacer mención sobre las diferencias considerables entre los límites máximos permitidos en la legislación de los Estados Unidos (US) con respecto a la legislación de la Unión Europea (UE). Por lo anterior, se puede realizar algunos

comentarios acerca de la Tabla 6a y 6b (Stoev, 2015) y la Tabla 7 (Alshannaq y Yu, 2017):

- En general, las AFs tienen los límites máximos permitidos más bajos en los alimentos. Sin embargo, la legislación de los US tiene un contenido máximo para todas las AFs de 20 µg/Kg (con excepción de AFM1). En cambio, la UE tiene un rango entre 0.1-12 µg/Kg solamente para la AFB1.
- La AFM1 en leche y derivados lácteos para bebé es en particular, la AF con el límite máximo permitido más bajo de todas las micotoxinas al tener 0.025-0.05 µg/Kg en UE y 0.5 µg/Kg en US.
- El único límite máximo que está relativamente uniforme en ambas legislaciones es el de la micotoxina PAT, con 50 µg/Kg en los productos en general en los US y un rango entre varios productos de 10-50 µg/Kg en la UE.
- La legislación de los US (Tabla 7), no indica el dato sobre los niveles máximos permitidos de la micotoxina ZEA. No obstante, en la Tabla 3 se observa que la ZEA combinada con DON se encuentra muy frecuentemente en América del Norte.
- Por la información presentada en la legislación de los US y la UE, los cereales, semillas y granos, son los alimentos que más se regulan.

El uso del sistema HACCP para analizar los riesgos y puntos críticos de control junto con estrategias de prevención como las GAP y GMP desde el campo hasta el producto final, no garantiza la eliminación completa de las micotoxinas. Por tal motivo, una medida de prevención que nos asegura verificar a los alimentos contaminados es en sí misma como lo refiere Waskiewicz, (2014), la implementación de estándares y regulaciones legales de las micotoxinas. Sin embargo, también es necesario contar con el recurso económico, recurso humano y el conocimiento necesario para llevar a cabo todas las estrategias y medidas de una manera exitosa.

Por la preocupación de los efectos negativos de los tratamientos físicos y principalmente por el uso de químicos para descontaminar alimentos, se están

realizando una gran cantidad de estudios sobre la alternativa de métodos biológicos viables. Una descontaminación efectiva es descrita muy precisamente por Karlovsky *et al.* (2016), quienes nos dicen que esta debe ser irreversible, las formas modificadas de micotoxinas deben ser afectadas junto con su componente predecesor, el producto no debe ser tóxico y el alimento debe conservar el sabor y valor nutricional.

Es la actualidad, hay una tendencia en realizar ensayos con microorganismos que pueden mostrar algún efecto contra los hongos micotoxigénicos y las micotoxinas. El uso de microorganismos potenciales como los Agentes de Control Biológico (BCAs), ya es una realidad presentada por Alberts *et al.* (2017) para eliminar AFs utilizando la exclusión competitiva en el campo. Otros ejemplos importantes son el Peptaibol que presenta actividad antimicrobiana contra hongos filamentosos (Verheecke *et al.*, 2017, Karlovsky *et al.*, 2016), el 2-PE que produce una reducción del crecimiento de hongos y de la producción de micotoxinas, los Lentinans producidos por el hongo comestible Shitake que reducen la contaminación por micotoxinas y finalmente algunas levaduras como *S. cerevisiae* que desintoxica a micotoxinas como la PAT y OTA. Algunas LABs y levaduras son capaces de adsorber micotoxinas para desintoxicar productos agrícolas, alimentos y piensos. Ahora, habría que esperar los resultados de todos los BCAs una vez aplicados a un producto para analizar su eficacia, seguridad y costo.

De los artículos consultados para posibles métodos biológicos para eliminar micotoxinas, solo Zhu *et al.* (2017) menciona las estrategias y metodologías que deben realizarse para evaluar un microorganismo potencial y los desafíos que conlleva. Además, son pocos los artículos que comentan las desventajas de usar cierto tipo de microorganismo como Chen *et al.* (2016), quien nos explica sobre la aplicación práctica de los hongos.

Los métodos convencionales para la detección de micotoxinas en el medio ambiente y productos agrícolas son principalmente basados en técnicas de cromatografía. No obstante, estos métodos requieren de procedimientos largos para la preparación de la muestra, consumen mucho tiempo, necesitan entrenamiento personal y una gran

cantidad de reactivos y disolventes peligrosos que a menudo se requieren durante el análisis como lo escribe Guo *et al.* (2015).

De la Tabla 8 sobre métodos cromatográficos utilizados para la detección de micotoxinas podemos comentar:

- Se confirma que los métodos cromatográficos que identifican simultáneamente múltiples micotoxinas, son los más utilizados en la actualidad.
- La MS o LC-MS/MS son los métodos de elección por su sensibilidad, selectividad y poder de confirmación.
- Aunque el método de CG es más estrecho en el rango de micotoxinas detectadas, es esencial para la detección de micotoxinas volátiles.
- Es importante el uso de la MS para la detección de micotoxinas enmascaradas.

Respecto a los métodos inmunológicos, Guo *et al.* (2015) hace referencia que estos tienen una alta selectividad, alto costo por anticuerpos y un límite pobre de detección que disminuye su aplicación considerablemente. De igual forma, Anfossi *et al.* (2016) indican que por la selectividad extrema que parecen sufrir los inmunoensayos, se impide la determinación simultánea de diferentes componentes, detección de micotoxinas desconocidas y estructuras modificadas producidas por el metabolismo de las plantas. En contraste con Guo *et al.* (2015), Anfossi *et al.* (2016) escribe que debido a que los inmunoensayos son de bajo costo y sensibles, pueden ser empleados para un primer nivel de examinación y estudios de inspección por contaminación de micotoxinas. El bajo costo que comenta Anfossi *et al.* (2016) es una comparación de un kit comercial con respecto a los métodos inmunoquímicos tradicionales y quizás a un balance en general sobre el costo del equipo, reactivos, detección de una sola micotoxina, reducción del tiempo y menor número de procesos con respecto a los métodos cromatográficos. Incluso, si el costo de los anticuerpos en nuestros días sigue siendo elevado. Ahora, respecto a si es o no un método inmunoquímico sensible, puede no ser el más óptimo, pero si es el segundo método de elección que se dispone para la detección de las micotoxinas.

De la Tabla 9 sobre los métodos inmunoquímicos utilizados en la detección de micotoxinas se puede comentar:

- De todos los métodos revisados en la tabla, el sistema analítico de microfluidos parece tener el potencial para solucionar algunos de los problemas que presentan los demás métodos inmunológicos. Inclusive, podría desplazar en un futuro a los métodos inmunoquímicos presentados en la información general.
- Por las desventajas encontradas en los artículos revisados, los inmunoensayos siguen siendo hasta el día de hoy, una técnica de examinación e inspección previa para la detección de micotoxinas, la cual tiene que ser confirmada la mayoría de las veces por métodos cromatográficos.
- Se puede confirmar como los FLDs, biosensores y microfluidos tienden a ofrecer sistemas de fácil operación, rápidos y portables.
- En recientes ensayos inmunológicos, hay tendencia en detectar simultáneamente varias micotoxinas.

La micotoxicosis es una enfermedad un tanto desconocida producida por la ingesta principalmente de alimentos como los cereales y productos de animales contaminados por micotoxinas (Mollea y Bosco, 2015). Es casi seguro, que la micotoxicosis ocurre más frecuentemente en zonas con alta humedad-temperatura, y donde no existe o es ineficiente la regulación de sus niveles. Dependiendo de la micotoxina, se puede afectar un órgano del cuerpo humano por una exposición crónica.

Por todos los estudios toxicológicos realizados hasta la fecha, Peraica (2016) nos comenta que la familia de las AFs y principalmente la AFB1, son las micotoxinas que pueden aumentar el riesgo del Carcinoma Hepatocelular Primario (HCC). Por tal motivo, la IARC las clasificó en el grupo 1 como carcinógeno para humanos. Otra micotoxina de trascendental importancia es la AFM1, clasificada en la mayoría de artículos revisados en el grupo 2B por la IARC. No obstante, en el artículo de Ostry *et al.* (2017), la AFM1 se encuentra clasificada en el grupo 1 desde el 2012. Este cambio en la clasificación

puede ser debido a que la AFM1 se encuentra altamente regulada en los alimentos para bebés como se pudo observar en las tablas 6a, 6b y 7. Por lo tanto, se puede deducir que varios autores de artículos en los últimos 5 años, se han basado en artículos anteriores al 2012 para buscar información referente a la AFM1.

Una familia de micotoxinas con bastante presencia en climas tropicales y templados del mundo son las FUMs, donde la FB1 es la más frecuente y está clasificada como posible carcinógeno para humanos. La exposición crónica a la FB1 o FB2, puede afectar al tubo neural en regiones con alto consumo de maíz. Finalmente, Vettorazzi y López (2016) nos dicen que la OTA también se encuentra clasificada en el grupo 2B por ser el principal causante de la Nefropatía Endémica de los Balcanes y de tumores uroteliales a causa de una exposición crónica en animales.

La exposición de micotoxinas (DON, NIV) en humanos y animales afecta la respuesta inmune que induce la producción de interleucinas proinflamatorias, estas a su vez dañan a los macrófagos humanos. Además, Park *et al.* (2015) nos dice que en modelos *in vitro* o *in vivo* con animales, algunas micotoxinas aumentan o hacen más posible las infecciones por *Salmonella spp.*, *E. coli* y *C. perfringens*. Habría que investigar si ya existen estudios sobre algunas micotoxinas que pueden aumentar las infecciones bacterianas en humanos.

Un punto importante en la discusión es tener la plena seguridad de poder lograr el objetivo final que es disminuir la contaminación de micotoxinas en los alimentos o piensos a niveles inofensivos que no afecten a los órganos del cuerpo humano o animal. Por tal motivo, es indispensable realizar eficientemente todas o la mayoría de medidas comentadas anteriormente como es la prevención, control, descontaminación, detección y regulación para poder alcanzar el objetivo anterior y afirmar la hipótesis I. Adicionalmente, se debe contar con el conocimiento adecuado y los medios económicos necesarios.

En el caso que fallan todas las medidas, nuestro organismo cuenta con un mecanismo antioxidante que protege a las células del estrés oxidante causado por las micotoxinas. Por lo tanto, es necesario tener presente y funcionando eficientemente el factor de transcripción NrF2, GCL, GS y GSH para neutralizar las especies reactivas de oxígeno. Además, el GSH junto con la enzima GTS ayuda a eliminar las micotoxinas de nuestro organismo (Guilford y Hope, 2014).

En años recientes, es muy común escuchar o leer sobre los beneficios de los probióticos en productos lácteos o administrados oralmente. Estos beneficios son principalmente en el tracto GI por una alteración de la flora intestinal provocado por algún padecimiento. Sin embargo, el mecanismo exacto de los efectos benéficos de los probióticos aún no se conoce completamente, pero Wan y El-Nezami (2018) escriben que los probióticos pueden ejercer sus efectos modulando la composición de la microbiota en el intestino, mejorando la función de la barrera intestinal y modulando la inmunidad local y sistémica.

Se deben realizar más estudios no solo tomando como único modelo a la AFB1 sobre el uso potencial de los probióticos para prevenir o tratar problemas de micotoxicosis. No obstante, se han logrado resultados muy alentadores en la reducción de hasta un 55% de la concentración del aducto AFs-ADN en orina por 5 semanas de administración de *Lactobacillus rhamnosus* y *Propionibacterium freudenreichii* (Vinderola y Ritieni, 2015).

Es evidente como la humanidad ha estado produciendo en gran parte del planeta tanto ventajas como desventajas, la contaminación es un problema producido en menor o mayor medida por varios tipos de transportes, complejos industriales, tecnologías desechables, sobrepoblación, falta de educación y por la propia naturaleza por citar algunas. El resultado de contaminar de forma consciente e inconsciente repercute en los campos, pueblos, ciudades, bosques, fuentes hídricas, atmósfera y en todos los seres vivos. También, sería injusto no mencionar que se realizan investigaciones y acciones para prevenir, reducir y contrarrestar los efectos de los contaminantes como la biotecnología y energías renovables principalmente en países desarrollados. Aun así,

no son suficientes las medidas realizadas, ya que se puede observar a simple vista basura tirada, contaminación en la atmósfera, mares, ríos, lagunas, disminución de espacios verdes, deforestación y aumento de enfermedades respiratorias entre otras.

En los últimos años se han estado presentando cambios en el clima en varias regiones del planeta, donde la constante es la presencia de fenómenos climáticos más severos. Datos de Myers *et al.* (2017) confirman el CC por un aumento de 1°C de la temperatura global de la tierra entre el 2006-2015 con respecto a todo el siglo XX y por el aumento de las concentraciones atmosféricas de CO<sub>2</sub> por arriba de los niveles actuales de 400 ppm aproximadamente. Por tal motivo, el CC amenaza la seguridad alimentaria en calidad y en cantidad de producción agrícola que puede disminuir bajo ciertas condiciones de climas extremos que aumentan la presencia de hongos productores de micotoxinas.

Muchos factores pueden afectar la presencia y producción de micotoxinas en los cultivos de alimentos como por ejemplo las altas temperaturas que pueden incrementar la producción de micotoxinas. Sin embargo, Kniel y Spaninger (2016) nos comenta que debido a la compleja naturaleza de la interacción hospedero-patógeno que guía a la producción de micotoxinas, en algunos casos el CC podría disminuir la severidad de las epidemias por temperaturas excesivas y una reducción de la humedad, lo cual podría disminuir la producción de las micotoxinas actuales. Lo anterior, podría ser objeto de alguna discrepancia con la hipótesis II redactada.

Un estudio que nos presenta Medina *et al.* (2017) sobre el impacto potencial del CC en el centro y sur de Europa ha sugerido que los efectos serán regionales, perjudicando o beneficiando según la región geográfica. Se espera además que las concentraciones de CO<sub>2</sub> se doblen o tripliquen hasta 800-1200 ppm, sequías, incremento de temperatura de 2-5°C en los próximos 25-50 años. También, se prevén similares impactos en Asia y centro y sur América. Un dato parecido lo presenta Paterson y Lima (2017) al comentar que las peores consecuencias del CC pueden no ser sentidas hasta el 2050, pero se esperan efectos adversos significativos a corto plazo. El dato anterior sobre el

incremento de temperatura de 2-5°C podría parecer un tanto exagerado, pero si analizamos el dato confirmado anteriormente por Myers *et al.* (2017), hay mucha lógica en pensar que se podría incrementar 1°C cada 10 años aproximadamente. En cuanto al incremento de las concentraciones de CO<sub>2</sub>, las estimaciones difieren considerablemente en valores de 540 ppm para el 2100 (Myers *et al.*, 2017) y hasta 800-1200 ppm en los próximos 25-50 años (Medina *et al.*, 2017).

Existen modelos climáticos globales que dan más del 90% de probabilidad de que se registren temporadas más calurosas en muchos lugares templados. Como consecuencia, Paterson y Lima (2017) explica que éste aumento de la temperatura puede alterar el crecimiento, el potencial toxigénico de los hongos y afectar la capacidad para competir contra nuevas especies de hongos productores de micotoxinas como los hongos TTF. Estos hongos podrían infectar los cultivos ya que están adaptados a sustratos similares y habría poca competencia por las altas temperaturas a las que están adaptados. Por lo tanto, un hongo aflatoxigénico podría ser dominado fácilmente por los TTF si se adapta a crecer en los mismos cultivos, aunque aún falta saber mucho sobre las interrelaciones de factores ambientales de los TTF. Un ejemplo de esto es lo ocurrido en Europa entre los años 2003-2012 cuando se registraron temperaturas mayores a 35°C y clima seco que provocó que *A. flavus* fuera capaz de colonizar el maíz en la etapa de maduración, superando a especies como *F. verticillioides* que contaminaban el maíz con las FUMs.

Sobre el efecto del CC en los hongos micotoxigénicos, nos podemos ayudar de sistemas de modelados que nos permiten realizar predicciones e hipótesis que están basadas en datos históricos o condiciones climáticas actuales (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2016) y permita monitorear la contaminación por micotoxinas en un alimento en específico o región geográfica por medio de simuladores (Marroquín-Cardona *et al.*, 2014).

Se han realizado dos estimaciones en Europa sobre los efectos del CC aplicadas a la contaminación por micotoxinas en grano de trigo y cereal, lo cual ayuda a tomar

algunas medidas preventivas y valorar posibles impactos. Las estimaciones anteriores realizadas por el modelado deben interpretarse cuidadosamente y no deben considerarse como precisas, ya que usan datos de lo sucedido anteriormente (Van der Fels-Klerx *et al.*, 2016). Además, Medina *et al.* (2017) indican que la información que se le ingresa al modelo necesita ser más detallada y contener más interacciones de temperatura, aw y CO<sub>2</sub> para que se tengan modelos más robustos.

## 4. CONCLUSIONES.

La importancia de la relación de las micotoxinas con los alimentos desde hace ya algunos siglos, debe conducir a obtener una información completa y actualizada sobre ellas. Esta información debe ir de acuerdo a las necesidades de cada persona relacionada con las micotoxinas hasta una educación elemental por parte del consumidor final.

Ningún sistema de control o estrategia de prevención desde el campo hasta el producto final garantiza la eliminación completa de las micotoxinas. No obstante, si es posible controlarlas mediante la realización de todas las medidas necesarias de prevención, descontaminación, control y monitoreo para cumplir con los límites regulatorios sobre las micotoxinas. Así, el mecanismo de defensa natural de nuestro cuerpo sería eficiente para enfrentar niveles bajos de toxinas y el posible uso de los probióticos en el tratamiento sería principalmente preventivo y de aplicación en intoxicaciones aisladas.

Es trascendental la realización de estudios y ensayos referentes a la ocurrencia, toxicidad y exposición de micotoxinas múltiples, emergentes y conjugadas en los alimentos, principalmente en los países agrícolas y procesadores de alimentos. Así, se puede comenzar de un modo gradual y uniforme a implementar regulaciones confiables que ayuden a tener alimentos seguros.

Es un hecho que están cambiando las condiciones climáticas en varias zonas del planeta de una forma más o menos observable y se espera que el CC sea más severo dentro de algunos años, aunque ya se están presentando eventos adversos. Uno de los efectos negativos que se relaciona más con las micotoxinas es el incremento de temperatura, el cual, afectará directamente la presencia de especies de hongos micotoxigénicos y micotoxinas actuales en diversas zonas del planeta. En consecuencia, es indispensable investigar sobre nuevas especies de hongos y micotoxinas con potencial tóxico, además de probables escenarios donde hongos y micotoxinas puedan dominar los cultivos y contaminar los alimentos.

El CC puede afectar tarde o temprano a todos los seres vivos del planeta por las relaciones que se tienen unos con otros. Por tal motivo, las micotoxinas son tan solo una parte microscópica del problema que puede afectar macroscópicamente la seguridad alimentaria y la salud humana por el CC. Por lo consiguiente, es indispensable contar con sistemas de modelado para micotoxinas, uso de biotecnología y energías renovables, concientizar a gobiernos y ciudadanos a tomar acciones que disminuyan los contaminantes como, por ejemplo, legislar leyes ambientales que se cumplan y vigilen sin excepción en países desarrollados o en desarrollo. Finalmente, con base a la investigación y discusión realizada, se presentan a continuación los puntos más importantes encontrados en relación a las micotoxinas:

1. Las micotoxinas son metabolitos secundarios de bajo peso molecular, químicamente diferentes en estructura y estables al calor.
2. Las micotoxinas son producidas por varios géneros de hongos microscópicos y varios géneros de hongo pueden producir una misma micotoxina. Por tal motivo, un producto agrícola puede tener varias micotoxinas.
3. Las micotoxinas son producidas principalmente por los géneros de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Los dos factores que más afectan el crecimiento de los hongos y la formación de las micotoxinas son la temperatura y la humedad.
4. Las micotoxinas principales son las AFs, FUMs, OTs, ZEA, DON y PAT. Las que más prevalecen en el mundo son DON, FUM y ZEA.
5. Las mezclas binarias son las más abundantes y frecuentes en todo el mundo, siendo las principales la AFs+OTA, AFs+FUM y DON+ZEA.
6. La micotoxinas enmascaradas se encuentran principalmente en el trigo, donde DON-3-Gluc y ZEN-14-Gluc son las más detectadas y estudiadas.

7. Las micotoxinas emergentes más importantes son la STE, BEA, ENNs, CIT, NIV y TeA. Actualmente, no está regulada su presencia en los alimentarios.
8. Las AFs son las micotoxinas más reguladas en los alimentos por estar clasificadas en el grupo 1 como carcinógena para humanos.
9. La FB1 y FB2 son importantes en México y otros países que consumen maíz por estar clasificada en el grupo 2B como posible carcinógeno.
10. Los métodos biológicos para descontaminar micotoxinas en la actualidad siguen estando en evaluación e investigación, excepto la exclusión competitiva.
11. Las micotoxinas se encuentran como contaminantes naturales de productos de origen vegetal, principalmente contaminando a los cereales, granos, semillas y frutas secas. Además, pueden estar en lácteos, carne y huevo.
12. MS o LC-MS/MS son los métodos de elección por su sensibilidad, selectividad, poder de confirmación, detección de múltiples micotoxinas y conjugados de micotoxinas.
13. Los inmunoensayos siguen siendo una técnica de examinación e inspección previa para la detección de micotoxinas.
14. Los métodos FLD, biosensores y microfluidos tienen un futuro prometedor al ofrecernos sistemas de fácil operación, rápidos y portables.
15. La AFB1, OTA, ZEA y STE se unen al DNA para formar aductos, los cuales perjudican la síntesis de DNA e incrementan la activación de oncogenes.
16. El GSH nos protege contra oxidantes producidos por las micotoxinas y ayuda a eliminarlas del organismo.
17. La toxicidad y biodisponibilidad de AFB1 se reduce con la administración de probióticos en animales. La prevención o restauración del daño crónico causado por las micotoxinas es donde los probióticos podrían ser importantes.

18. La afectación de las micotoxinas en los alimentos y la salud es más pronunciada en los países en desarrollo por la falta recursos, medidas de prevención, ausencia o ineficiencia de las regulaciones, clima tropical y contaminación ambiental.
19. Se espera en algunas zonas del mundo mayores concentraciones de CO<sub>2</sub>, sequías, incremento de temperatura de 2-5°C en los próximos 25-50 años, modificándose la población de las micotoxinas actuales y la aparición de micotoxinas emergentes.
20. Existen modelados para predecir la contaminación por micotoxinas en un alimento o región geográfica.

## 5. BIBLIOGRAFÍA.

- Adeyeye, S.A.O. (2016) Fungal mycotoxins in foods: A review. *Cogent Food & Agriculture*.1213127 (2), 1-11.
- Ahmed, A.I., Jutta, P. (2015) Mycotoxins: Producing Fungi and Mechanisms of Phytotoxicity. *Agriculture*. 5, 492-537.
- Alberts, J.F., Rheeder, J.P., Burger, H.M., Shephard, G.S., Gerderblom, W.C.A. (2017) Technological and community-based methods to reduce mycotoxins exposure. *Food Control*. 73, 101-109.
- Alshannaq, A., Yu, J.H. (2017) Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 14 (632), 1-20.
- Anfossi, L., Giovannoli, C., Baggiani, C. (2016) Mycotoxin detection. *Current Opinion in Biotechnology*. 37, 120–126.
- Assunção, R., Silva, M., Alvito, P. (2016) Challenges in risk assessment of multiple mycotoxins in food. *World Mycotoxin Journal*, 9 (5), 791-811.
- Aswani Kumar, Y.V.V., Renuka, R.M., Bodaiah, B., Usha Kiranmayi, M., Vijaya Lakshmi, M., Sudhakar, P. (2016) Mycotoxin Strategies: Impact on Global Health and Wealth. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 7 (7), 1-11.
- Bennett, J.W., Klich, M. (2003) Mycotoxins. *Clin.Microbiol.Rev.* 16 (3), 497–516.
- Berthiller, F., Crews, C., Dall'Asta, C., Saeger, S.D., Haesaert, G., Karlovsky, P., Oswald, I.P., Seefelder, W., Speijers, G., Stroka, J. (2013) Masked mycotoxins: a review. *Mol Nutr Food Res*. 57(1), 165–186.
- Berthiller, F., Maragos, C.M., Dall'asta, C. (2015) Introduction to Masked Mycotoxins. *Issues in Toxicology*. 24, 1-13.
- Chauhan, R., Singh, J., Sachdev, T., Basu, T., Malhotra, B.D. (2016) Recent advances in mycotoxins detection. *Biosensors and Bioelectronics*. 81, 532-545.

- Chen, J., Yu, F., Zhao, L. (2016) Review on biological degradation of mycotoxins. *Animal nutrition*. 2, 127-133.
- Das Chagas Oliveira Freire, F., Edite Bezerra da Rocha, M. (2016) Impact of Mycotoxins on Human Health In: Fungal Metabolites, Jean-Michel Mérillon & Kishan Gopal Ramawat (Ed). Springer, Cham. Print ISBN: 978-3-319-25000-7, Online ISBN: 978-3-319-25001-4.
- Egbuta, M., Mwanza, M., Babalola, O. (2016) A Review of the Ubiquity of Ascomycetes Filamentous Fungi in Relation to Their Economic and Medical Importance. *Advances in Microbiology*. 6, 1140-1158.
- Egbuta, M.A., Mwanza, M., Babalola, O.O. (2017) Health Risks Associated with Exposure to Filamentous Fungi. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 14 (719), 1-17.
- Escrivá, L., Font, G., Manyes, L., Berrada, H. (2017) Studies on the Presence of Mycotoxins in Biological Samples: An Overview. *Toxins*. 9 (251), 1-33.
- Geisen, R., Touhami, N., Schmidt, M. (2017) Mycotoxins as adaptation factors to food related environments. *Current opinion in Food Sciences*. 17, 1-8.
- Gratz, S.W. (2017) Do Plant-Bound Masked Mycotoxins Contribute to Toxicity? *Toxins*. 9, (85), 1-10.
- Gruber-Dorninger, C., Novak, B., Nagl, V., Berthiller, F. (2016) Emerging Mycotoxins: Beyond Traditionally Determined Food Contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65 (33), 7052-7070.
- Guilford, F.T., Hope, J. (2014) Deficient Glutathione in the Pathophysiology of Mycotoxin-Related Illness. *Toxins*. 6, 608-623.
- Guo, L., Feng, J., Fang, Z., Xu, J., Lu, X. (2015) Application of microfluidic "lab-on-a-chip" for detection of mycotoxins in foods. *Trends in food science & technology*. 46, 252-263.

- Hathout, A.S., Soher, S.E. (2014) Biological detoxification of mycotoxins: a review. *Ann Microbiol.* 64, 905–919.
- Karimi, G., Mehri, S. (2014) Mycotoxins In: *Toxinology: Biological Toxins and Bioterrorism*, Gopalakrishnakone P. (Ed) Springer, Dordrecht. DOI 10.1007/978-94-007-6645-7\_10-1, Online ISBN 978-94-007-6645-7.
- Karlovsky, P., Suman, M., Berthiller, F., De Meester, J., Eisenbrand, G., Perrin, I., Oswald I.P., Speijers, G., Chiodini, A., Recker, T., Dussort, P. (2016) Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin Res.* 32, 179–205.
- Kniel, K.E. y Spaninger, P. (2016) Preharvest Food Safety under the Influence of a Changing Climate. *Microbial Spectrum.* 5 (2), 1-9.
- Kovalsky, P., Kos, G., Nährer, K., Schwab, C., Jenkins, T., Schatzmayr, G., Sulyok M., Krska, R. (2016) Co-Occurrence of Regulated, Masked and Emerging Mycotoxins and Secondary Metabolites in Finished Feed and Maize—An Extensive Survey. *Toxins.* 8 (363), 1-29.
- Krska, R., Sulyok, M., Berthiller, F., Schuhmacher, R. (2017) Mycotoxin testing: From Multitoxin-analysis to metabolomics. *JSM Mycotoxins.* 67 (1), 11-16.
- Kumar, P., Mahato, D., Kamle, M., Mohanta, T., Kang, S. (2017) Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in microbiology.* 7 (2170), 1-10.
- Loi, M., Fanelli, F., Liuzzi, V.C., Logrieco, F.L., Mulè, G. (2017). Mycotoxin Biotransformation by Native and Commercial Enzymes: Present and Future Perspectives. *Toxins.* 111 (9), 1-31.
- Marroquín-Cardona, A.G., Johnson, N.M., Phillips, T.D., Hayes, A.W. (2014) Mycotoxins in a changing global environment-A review. *Food a Chemical Toxicology.* 69, 220-230.

- Medina, A., Akbar, A., Baazeem, A., Rodriguez, A., Magan, N. (2017) Climate change, food security and mycotoxins: Do we know enough? *Fungal Biology Review*. 31, 43-54.
- Mollea, C., Bosco F. (2015) Mycotoxins: Are They Perceived as a Serious Threat for the Human Health? *Chemical Engineering Transactions*. 44, 133-138.
- Moretti, A., Logrieco, A.F., Susca, A. (2017) Mycotoxins: An Underhand Food Problem. *Methods Mol Biol*. 1542, 3-13.
- Myers, S.S., Matthew, M.R., Guth, S., Golden, C.D., Vaitla, B., Mueller, B.N., Dangour, A.D., Huybers, P. (2017) Climate Change and Global Food Systems: Potential Impacts on Food Security and Undernutrition. *Annu. Rev. Public Health*. 38, 259–277.
- Ostry, V., Malir, F., Toman, J., Grosse Y. (2017) Mycotoxins as human carcinogens—the IARC Monographs classification. *Mycotoxin Res*. 33, 65–73.
- Park, S.H., Kim, D., Kim, J., Moon, Y. (2015) Effects of Mycotoxins on Mucosal Microbial Infection and Related Pathogenesis. *Toxins*. 7, 4484-4502.
- Paterson, R.R.P., Lima, N. (2017) Thermophilic Fungi to Dominate Aflatoxigenic/Mycotoxigenic Fungi on Food under Global Warming. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 14 (199), 1-11.
- Peraica, M. (2016) Mycotoxicoses In: Environmental Mycology in Public Health: Fungi and Mycotoxins, Carla Viegas, Ana Catarina Pinheiro, Raquel Sabino, Susana Viegas, João Brandão, Cristina Veríssimo (Ed). Elsevier. ISBN: 978-0-12-411471-5.
- Pfliegler, W.P., Pusztahelyi, T., Pócsi, I. (2015) Mycotoxins – prevention and decontamination by yeasts. *J. Basic Microbiol*. 55, 805–818.
- Picó Y. (2016) Mycotoxins: Occurrence and Determination. In: Encyclopedia of Food and Health Reference Module in Food Science. (Ed) Elsevier. ISBN: 978-0-08-100596-5, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00479-7>.

- Pitt, J. (2014). Mycotoxins: Mycotoxins-General. *Encyclopedia of food safety*. 2, 283-288.
- Raiten, D.J., Aimone, A.M. (2017) The intersection of climate/environment, food, nutrition and health: crisis or opportunity. *Current Opinion in Biotechnology*. 44, 52–62.
- Rodrigues, I., Naehrer, K. (2012) A three-year survey on the worldwide occurrence of mycotoxins in feedstuffs and feed. *Toxins*. 4, 663–675.
- Rychlik, M., Humpf, H.U., Marko, D., Dänicke, S., Mally, A., Berthiller, F., Klaffke, H., Lorenz, N. (2014) Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including “masked” mycotoxins. *Mycotoxin Res*. 30, 197–205.
- Smith, M., Madec, S., Coton, E., Hymery, N. (2016) Natural co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects. *Toxins*. 8 (94), 1-36.
- Stoev, S.D. (2015) Foodborne mycotoxicoses, risk assessment and underestimated hazard of masked mycotoxins and joint mycotoxin effects or interaction. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 39, 794-809.
- Stroka, J., Maragos, C.M. (2016) Challenges in the analysis of multiple mycotoxins. *World Mycotoxin Journal*. 9 (5), 847-861.
- Van der Fels-Klerx, H.J., Liu, C., Battilan, P. (2016) Modelling climate change impacts on mycotoxin contamination. *World Mycotoxin Journal*. 9 (5), 717-726.
- Vanhoutte, I., Audenaert, K., De Gelder, L. (2016) Biodegradation of Mycotoxins: Tales from known and Unexplored Worlds. *Frontier in microbiology*. 561 (7), 1-20.
- Verheecke, C., Choque, E., Mathieu, F. (2017) Application of Fungal Metabolites against Mycotoxins Production. In: Fungal Metabolites. Reference Series in Phytochemistry, Merillon JM., Ramawat K. (Ed) Springer, Cham. Online ISBN 978-3-319-19456-1, DOI [https://doi.org/10.1007/978-3-319-19456-1\\_31-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-19456-1_31-1).

- Vettorazzi, A., López, A. (2016) Mycotoxins as Food Carcinogens In: Environmental Mycology in Public Health: Fungi and Mycotoxins, Carla Viegas, Ana Catarina Pinheiro, Raquel Sabino, Susana Viegas, João Brandão, Cristina Veríssimo (Ed) Elsevier. ISBN: 978-0-12-411471-5.
- Vinderola, G., Ritieni, A. (2015) Role of Probiotics against Mycotoxins and Their Deleterious Effects. *Journal of Food Research*. 4 (1), 10-21.
- Wan, M.L., El-Nezami, H. (2018) Targeting gut microbiota in hepatocellular carcinoma: probiotics as a novel therapy. *Hepatobiliar surgery and Nutrition*. 7 (1), 11-20.
- Waskiewicz, A. (2014) Natural Occurrence of mycotoxins in food. *Encyclopedia of food microbiology*. 2, 880-886.
- Yazar, S., Omurtag, G.L. (2008) Fumonisin, trichothecenes and zearalenone in cereals. *Int. J. Mol. Sci*. 9, 2062-2090.
- Zhu, Y., Hassan, Y.I., Lepp, D., Shao, S., Zhou, T. (2017) Strategies and Methodologies for Developing Microbial Detoxification Systems to Mitigate Mycotoxins. *Toxins*. 9 (130), 1-26.