

Micotoxinas en la cadena agroalimentaria: Implicancias y métodos para su detección

Ing. Alfonsina Moavro



4° Seminario
Gestión de la Inocuidad
en la Industria Alimentaria

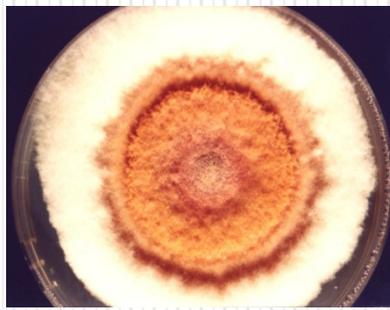
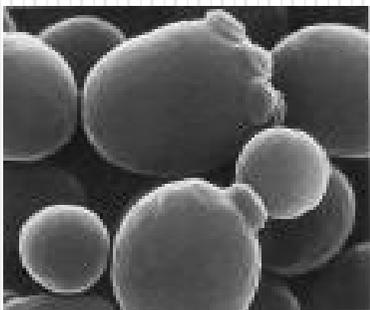


2017

¿QUÉ SON LOS HONGOS?

- Organismos eucariotas
- Sin clorofila
- Heterótrofos
- Filamentosos
- Pared rígida
- Nutrición absorptiva de sustratos
- Reproducción asexual o sexual y asexual
- Capacidad adaptativa
- En general aerobios

MICROSCOPICOS



REINO FUNGI

Sustratos duros / blandos.

Excelente capacidad
enzimática

• Azúcares simples, alimentos:
granos, papeles, pinturas,
celulosa, etc

**Extremadamente exitosos.
Distribución cosmopolita
en la naturaleza**

MACROSCOPICOS



MICOTOXINAS

Metabolitos fúngicos que en pequeñas concentraciones resultan tóxicos para vertebrados y otros animales cuando son administrados a través de una ruta natural

Frisvad y Thrane, 1996

- Compuestos de bajo PM
- Diversidad de estructuras, muy complejas
- Elevada estabilidad frente a agentes químicos y físicos
- No inducen respuesta en el sistema inmune humano
 - Incapacidad para detectarlas biológicamente

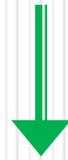


MICOTOXICOSIS

Origen de la micotoxicosis



Infección fúngica
Formación de
Micotoxinas



Consumo por el hombre

**MICOTOXICOSIS
PRIMARIA**



Consumo por animales



Residuos
en tejido



Producto
cárnico



Consumo por el hombre

**MICOTOXICOSIS
SECUNDARIA**



Residuos
en leche



Producto
lácteo



Efectos Tóxicos

TOXICIDAD AGUDA

DETECTABLE POR LA INTENSIDAD
Y ESPECIFICIDAD
DE LOS SINTOMAS

POSIBILIDAD DE IDENTIFICAR EL
MATERIAL CONTAMINADO Y LA
TOXINA RESPONSABLE

- Deterioro de función hepática y renal en animales Casos extremo: muerte
- Interferencia en la síntesis de proteínas, produciendo sensibilidad en piel, necrosis tisular e inmunodeficiencia.
- Otras son neurotoxinas: A dosis altas pueden causar daño cerebral o muerte.
- **Raramente existe toxicidad aguda en humanos**

TOXICIDAD CRÓNICA

SINTOMATOLOGIA A LARGO PLAZO
CONFUSION CON OTRAS
ENFERMEDADES

DIFICIL ESTABLECER CAUSA-
EFECTO

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

- Inducción de cáncer, especialmente de hígado
- Puede afectar la replicación de ADN, con efectos mutagénicos o teratogénicos.

Clasificación de las micotoxinas según su potencialidad carcinogénica

<u>Mycotoxins</u>	<u>Group</u>
Aflatoxins, natural source	1
Aflatoxin M1	2B
Citrinin	3
Sterigmatocystin	2B
Fumonisin B1	2B
Ochratoxin A	2B
Patulin	3
Toxins of <i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>	3
Toxins of <i>Fusarium sporotrichioides</i> (T-2)	3

Grupo 1: el agente es carcinogénico para el humano

Grupo 2 A: el agente es probable carcinogénico en humanos, hay pocas evidencias en humanos pero suficientes en animales.

Grupo 2 B: el agente es un posible carcinogénico, la evidencia en humanos es limitada y no hay suficiente evidencia en animales experimentales

Grupo 3: el agente no se clasifica como carcinogénico en humanos, y no puede incluirse en otro grupo

Grupo 4: la evidencia disponible tanto en estudios con animales como humanos sugieren que el agente es probablemente no carcinogénico para humanos



IMPACTO DE MICOTOXICOSIS:

INCREMENTO DE:

- Mortalidad de animales
- Suceptibilidad a infecciones por lo tanto gastos veterinarios

DISMINUCIÓN DE:

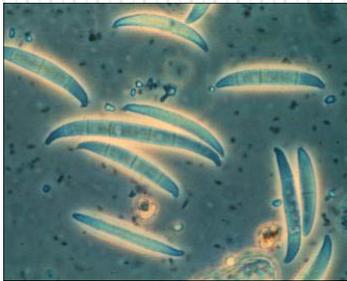
- Peso
- Producción de leche y huevos
- Producción (abortos y crias de menor peso)



Principales Hongos Toxicogénicos

Mohos identificados > 100.000

Mohos potencialmente toxicogénicos \cong 500



Fusarium



Alternaria

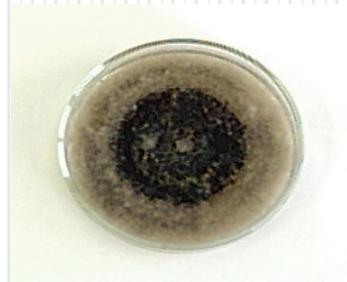


Penicillium

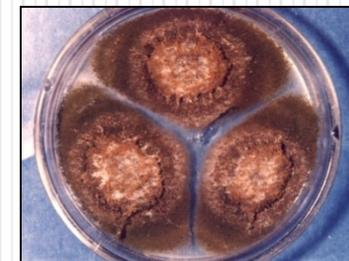
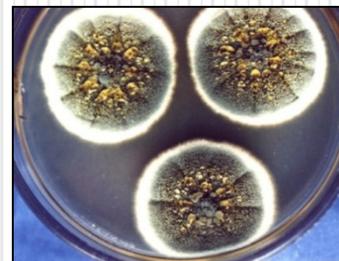


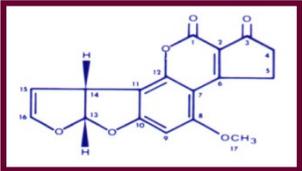
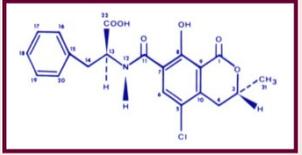
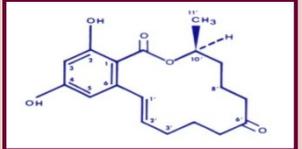
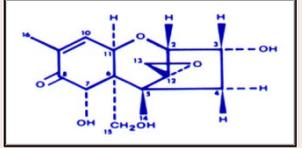
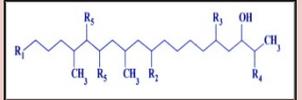
Aspergillus

Hongos de campo



Hongos de almacenamiento



MICOTOXINA	PRINCIPALES HONGOS PRODUCTORES	EST. QCA	EFECTOS TÓXICOS	ALIMENTOS AFECTADOS
<u>AFLATOXINA</u> AB1 / AB2 - AM1 AG1 / AG2	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i> <i>Aspergillus nomius</i>		Hepatotóxica Cancerígena	Nueces, maní, maíz Semillas de algodón M1: leche
<u>OCRATOXINA</u> OA	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus carbonarius</i>		Nefrotóxica	Alimentos en regiones tropicales (sobrevive secado al sol). Café . Vino
<u>ZEARALENONA</u>	<i>Fusarium graminearum</i>		Estrogénica	Maiz y otros cereales
<u>TRICOTECENOS</u> Deoxinivalenol (DON) Nivalenol (NIV) (más de 75 mtx)	<i>Fusarium graminearum</i>		Inhibe síntesis proteica Necrosis celular	Trigo y otros cereales
<u>FUMONISINAS</u> FB1 / FB2 / FB3	<i>Fusarium verticilloides</i>		Variable según especie animal y dosis. Leucoencefalomalacia equina (LEM)	Maíz

Factores que influyen en la síntesis de micotoxinas

Genéticos

Físicos

Químicos

Biológicos

	FACTORES	CAMPO	RECOLECCIÓN	ALMACENAMIENTO
FÍSICOS	Humedad	X	X	X
	Temperatura	X	X	X
	Daño mecánico	X	X	X
	Tiempo	X	X	X
	Mezclado del grano		X	X
QUÍMICOS	Oxígeno			X
	Dióxido de carbono			X
	Comp. del Sustrato	X		X
	Minerales	X		X
	Tratamiento qco.			X
BIOLÓGICOS	Insectos	X		X
	Infección fúngica	X		X
	Capacidad genética	X		X
	Diferencias en las variedades de plantas	X		X

**PRESENCIA DE MOHOS EN UN ALIMENTO NO
IMPLICA MICOTOXINAS Y VICEVERSA**



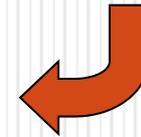
Riesgo potencial de micotoxinas
en toda la cadena productiva



Según la FAO, alrededor del **25 %** de las cosechas anuales es contaminadas por micotoxinas.



ALMACENAMIENTO



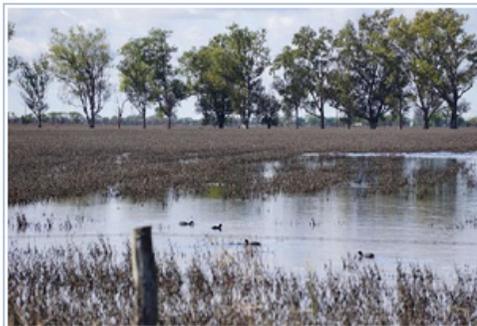

CAMPO

INDUSTRIA





Después del temporal: Situación de los cultivos y del suelo. Consejos para la cosecha y el almacenamiento de los granos.



Después del temporal que sometió a nuestra zona a 20 días consecutivos de lluvias, con registros de más de 300 mm acumulados en períodos de 48 a 72 horas y temperaturas más altas que las normales, parece que las condiciones climáticas están mejorando y en el futuro.

Por:

Las lluvias comenzaron el 1 de diferentes intensidades, a lo largo de la provincia y el ascenso del nivel de los ríos ocasionó el anegamiento de extensos sectores. Las consecuencias sobre los diferentes sistemas p

este mismo espacio por muchos especialistas. En esta oportunidad, se plantea la situación especialmente la soja; el estado en que quedarán los suelos, algunas acciones futuras post-cosecha y almacenamiento de los granos.



Micotoxinas, tenemos un plan

INTA Pergamino está pensando una estrategia de intervención en los territorios con un tema delicado como son las micotoxinas en maíz.

Por:

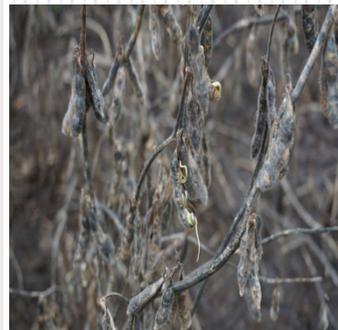
Diego BUSTOS

Jueves, 21 Abril, 2016

En la sede del INTA Pergamino, un nutrido grupo de profesionales fue parte de una reunión que tuvo como objetivo pensar conjuntamente la forma de llevar la problemática de las micotoxinas a puntos específicos de la región.

Daniel Presello, referente en el tema, se encontró con extensionistas del INTA en la zona norte de la provincia de Buenos Aires (PRET Agrícola y PRET Agrícola Ganadero del Centro) y con especialistas del programa nacional de Cereales y Oleaginosas de la institución.

"La Extensión es muy importante para esta instancia, contamos con mucha información en el Programa y en la literatura internacional sobre micotoxinas", comentó Presello a modo de introducción sobre la reunión que tuvo como objetivos elaborar conjuntamente con los extensionistas mecanismos para que ellos puedan contar en tiempo real con información; y a su vez para que desde los territorios surjan también inquietudes hacia el programa que investiga sobre el tema.



Científicos argentinos comprometidos con esta problemática

Diciembre 2016, Argentina

RESISTENCIA A PODREDUMBRES DE ESPIGA Y ACUMULACION DE MICOTOXINAS EN MAIZ

Presello, Daniel A.^{1*}; Oviedo, María S.²; Fernández, Mariana¹;
Iglesias, Juliana¹; Copia, Pablo A.¹

Palabras clave: maíz, podredumbre de espiga, micotoxinas, resistencia a enfermedad

Las podredumbres de espiga reducen el rendimiento y causan contaminación del grano de maíz con micotoxinas que afectan la comercialización de granos, la producción pecuaria, los procesos industriales y la salud de la población. En esta publicación se discuten criterios para la elección de híbridos más susceptibles, una de las prácticas de manejo efectivas para reducir estos efectos negativos.

INTRODUCCION

Importancia del problema

El cultivo de maíz es susceptible a podredumbres de espiga causadas por hongos patógenos con prevalencia de especies pertenecientes a los géneros *Fusarium* y *Aspergillus* (Grua¹). Estos hongos afectan el rendimiento y causan contaminación del grano con micotoxinas tóxicas para la salud (micoestrogénicas, triazolenos, zearalenona, atatoxinas, etc), derivadas del metabolismo fúngico. Las micotoxinas causan enfermedades agudas o crónicas en humanos y animales, así en concentraciones muy bajas medidas en miligramos por kilogramo o por tonelada de grano.

Las micotoxinas no solo afectan la salud de

los consumidores, sino que también producen pérdidas económicas asociadas a la reducción del rendimiento, el valor de los granos, la productividad animal y a los costos en salud humana. Estas sustancias resisten los procesos industriales, como la extracción de aceites, de triolosa o la producción de etanol y se acumulan en co-productos que generalmente se usan en la alimentación animal. En la producción de etanol, la concentración de micotoxinas en la bebida (DGS) prede alimentarse entre 2,2 y 5,4 veces a la relación alcohol:hidro de micotoxinas del grano (Copia et al., 2014). El resultado económico de las empresas depende de la comercialización de estos co-productos que, como generalmente se destinan a la alimentación animal, debe presentarse a bajas concentraciones de micotoxinas. Las micotoxinas pueden proliferar en todas las



Figura 1: Granos de maíz colonizados por hongos de género *Fusarium* (estrías blancas) y *Aspergillus* (proliferación amarillenta). El género *Fusarium* produce gibberelinas que causan brotado del grano.

1- INTA, Estación Experimental Pergamino, CC 31 2700 Pergamino, Provincia de Buenos Aires, Argentina.
2- INTA, Centro Mito Regina, Reconquista 54, 8335 Mito Regina, Provincia de Río Negro, Argentina.
* presello.daniel@inta.gov.ar

29

Maíz

Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.
Universidad Nacional de Cuyo
versión On-line ISSN 1853-8665

Rev. Fac. Cienc. Agrar., Univ. Nac. Cuyo vol.47 no.2 Mendoza dic. 2015

ARTICULO ORIGINAL

Fuentes de inóculo de especies de *Fusarium* potenciales productoras de micotoxinas en el agroecosistema soja

Inoculum sources of potential toxigenic Fusarium species in the soybean agroecosystem

María Laura Chiotta, Sofía Chulze, Germán Barros

Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas Físico Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nacional 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Originales: Recepción: 30/06/2014 - Aceptación: 01/06/2015



ELSEVIER

Food and Chemical Toxicology

Volume 50, Issue 2, February 2012, Pages 250–257



Exposure assessment of mycotoxins in cow's milk in Argentina

M.L. Signorini¹, M. Gaggiotti¹, A. Molineri¹, C.A. Chiericatti², M.L. Zapata de Basílico², J.C. Basílico², M. Pisani¹

Show more

Journal of Phytopathology

Explore this journal >

Short Communication

Fusarium cerealis Associated with Barley Seeds in Argentina

Eliana Castañares, María Inés Dinolfo, María Virginia Moreno, Corina Berón, Sebastián Alberto Stenglein

First published: 15 March 2013 Full publication history

Estrategias para el control de micotoxiosis

CODEX ALIMENTARIUS

INTERNATIONAL FOOD STANDARDS



Food and Agriculture
Organization of
the United Nations



World Health
Organization

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

CODE OF PRACTICE FOR THE PREVENTION AND REDUCTION OF
MYCOTOXIN CONTAMINATION IN CEREALS

CAC/RCP 51-2003

Adopted in 2003.
Revision: 2016. Amendment: 2014.

Aplicar Buenas Prácticas Agrícolas

Seleccionar variedades de cultivos resistentes a los hongos

Cosechar cuidadosamente para evitar dañar los granos

Realizar el almacenamiento de los granos cuando la a_w es igual o inferior a 0,65

Instalar sistemas de aireamiento, y control automático de temperatura y humedad (mantener la temperatura debajo de 20 °C y la Hr menor a 75 %)

Mantener los depósitos de granos y alimentos, libres de roedores y de insectos (fumigación y desratización)

Limpiar frecuente los comederos para eliminar alimentos dañados

Analizar frecuentemente todo el alimento para detectar presencia de micotoxinas bajo planes de muestreo apropiados.

Incorporar un inhibidor de hongos en la formulación del alimento (ej: los basados en ácido propiónico ya que tienen poder residual más prolongado)

Métodos de descontaminación

FÍSICOS

Procesos térmicos

Ej: destrucción parcial de afla durante el tostado de maní

Irradiaciones

(UV, luz visible, gamma)

Ej: en leche pasteurizada se puede reducir un 50 % de AM1

Las radiaciones gamma descontaminan AB1 en soluciones y alimentos sólo a altas dosis

Pulsos eléctricos

QUÍMICOS

Amoníaco (gaseoso y acuoso)

Metabisulfito de sodio

Ozono

Ventaja: mantiene prop organolépticas y el poder nutritivo de alimentos

Sal de amonio del ác propiónico

Mata los hongos. La sal tiene mayor efecto residual durante el almacenamiento

Desventaja: pueden ocasionar pérdida de nutrientes y de propiedades organolépticas en el producto

Secuestrantes

- ❖ Usadas para disminuir la biodisponibilidad de las micotoxinas
- ❖ Las micotoxinas deben fijarse selectivamente sin perjudicar la absorción de los nutrientes en el organismo.
- ❖ Las micotoxinas no son absorbidas por el TGI y son eliminadas por heces.

INORGÁNICOS (polímeros a base de sílice)

Zeolitas Bentonitas Arcillas	Aluminosilicatos Carbón activado Tierra diatomea
------------------------------------	--

MYCO-AD

NOVASIL

ZEOLEX

ALUMI-SIL

REKASIL

MILBOND TX

ORGÁNICOS (fuentes de plantas fibrosas)

Salvado de trigo Fibra de alfalfa Pared cel de levaduras (polis., proteínas y líp) Bacterias	Celulosa Hemicelulosa Pectina
--	-------------------------------------

Bacterias del suelo: *Flavobacterium aurantiacum*, *Nocardia asteroides*

bacterias del rumen: *Butyrivibrio fibrisolvens*

Levaduras: *S. cerevisiae*

Bacterias acidolácticas: *Lactococcus sp.*, *Streptococcus*

No existe un secuestrante universal de micotoxinas

Límites permitidos de micotoxinas



CAPÍTULO III

DE LOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS

RESOLUCIÓN GMC N° 025/02

Incorporada por Resolución Conjunta N° 66/02 y N° 344/02

Se deroga toda legislación del Código Alimentario Argentino que se oponga al dictado de la presente Resolución

REGLAMENTO TÉCNICO MERCOSUR SOBRE LÍMITES MÁXIMOS DE AFLATOXINAS ADMISIBLES EN LECHE, MANI Y MAÍZ



MERCOSUR \GMC\RES N° 56/94

REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE LÍMITES MÁXIMOS DE AFLATOXINAS

TENDO EM VISTA: O Art. 13 do Tratado de Assunção, o Art. 10 da Decisão N° 4/91 do Conselho do Mercado Comum, a Resolução N° 91/93 do Grupo Mercado Comum, e a Recomendação N 38/94 do SGT N° 3 - "Normas Técnicas".

<u>Leche fluida</u> <u>Leche en polvo</u>	M1 M1	0.5 µg/L 5 µg/Kg
<u>Maiz en grano</u> <u>harina de maiz o sémola</u>	B1+B2+G1+G2 B1+B2+G1+G2	20 µg/Kg 20 µg/Kg
<u>Mani</u> <u>Pasta o manteca de mani</u>	B1+B2+G1+G2 B1+B2+G1+G2	20 µg/Kg 20 µg/Kg

Regulaciones mundiales

PAÍS	PRODUCTO	MICOTOXINA	LÍMITES (µg/L - µg/kg)
Estados Unidos FDA, 2002	Leche	Afla M1	0.5
	Trigo	DON	1000
	Maíz para animales lecheros	Afla totales	20
	Maíz para animales que pastorean	Patulina	100
	Maíz para animales en su etapa final	Fumonisina B1	1000
	Materias prima para concentrados	B2 B3	300
	Jugo de manzana		50
	Maíz para pochoclo		3000
Unión Europea RE (EU) N°165/2010 * RE (EU) N°1058/2012 ** RE (EU) N°1137/2015	Maní y derivados de consumo directo	Afla B1	2.0
	Leche pasteurizada	Afla M1	0.05
	Cereales y derivados	Afla M1	0.05
	Cereales no elaborados	Afla B1	2.0
	Productos derivados de cereales	Afla totales	4.0
	Jugos de manzana	Ocratoxina A	5.0
	Preparados para lactantes	Ocratoxina A	50
	Espicias	Patulina	0.025
	**Especias: pimienta, nuez moscada, jengibre y cúrcuma	Afla M1	5.0
	<i>Capsicum spp.</i> (pimentón)	Afla B1	10
	*Higos secos	Afla B1	5.0
		Afla totales	10
		Ocratoxina A	15
	Afla B1	20	
	Afla totales	6.0	
		10	
MERCOSUR (RES N° 56/94)	Leche fluida	Afla M1	0.5
	Leche en polvo	Afla M1	5.0
	Maíz en grano	Afla totales	20
	Harinas de maíz		
	Maní y derivados		



Etapas en el análisis de micotoxinas

MUESTREO

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

ANÁLISIS



Extracción

Purificación / Concentración

Separación / Detección

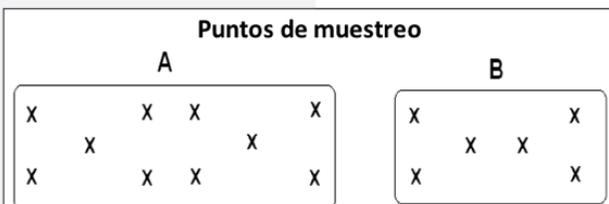
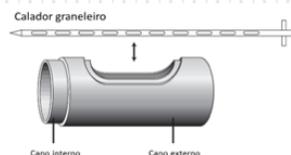
Confirmación

MUESTREO: Obtención de una muestra representativa del lote

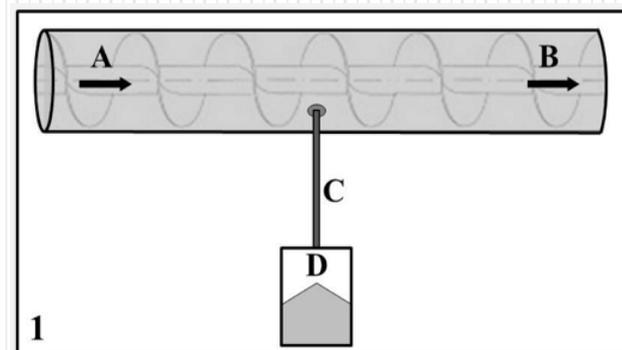
- ❖ **Micotoxinas:** generalmente se distribuyen de forma heterogénea
- ❖ **Error:** líquidos < en polvo o pasta < particulados
- ❖ **Dificultad para obtener muestra representativa:** estático > dinámico



Tamaño de la muestra global -
reglamento CE nº 401/2006.
Ejemplo con calador de 10
orificios (cada orificio es una
muestra elemental).



Muestreo estático



Muestreo dinámico

Sub Muestras



**Preparación
de las muestras**



**Resolución
es CE N°:**
401/2006
178/2010
519/2014

ANÁLISIS

Extracción

- **Obj:** Separar micotoxinas de compuestos insolubles
- Se realiza mediante homogeneizadores de cuchillas a alta velocidad (2-3 min) o con agitadores de vaivén (30-45 min).
- Se utilizan **disolventes de polaridad** variable, combinados a veces con agua y/o pequeñas cantidades de ácidos.
- **Cloruro sódico** u otras sales inorgánicas: anti emulsionantes
- **Compuestos apolares**, como hexano: para eliminar lípidos.
- **Acetato de plomo:** para precipitar proteínas
- **Carbonato cúprico:** para secuestrar pigmentos clorofílicos

Purificación / Concentración

Obj: Eliminar sustancias del extracto que interfieran

A) Líquido-líquido

- Para alimentos **líquidos**
- **Ej:** Patulina en zumo de manzana
AM₁ en leche



- X:** Analista demandante
Gran volumen de svtes org
Difícil automatización

B) Extracción en fase sólida (SPE)

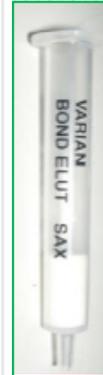
- Se carga el cartucho SPE con el extracto y luego se pasan disolventes para limpiarlo de impurezas.
- Finalmente, se pasa un solvente con el que se eluyen las toxinas.



Purificación / Concentración

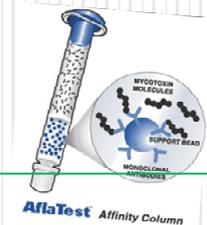
C) Extracción con columna de intercambio iónico

- Empleada cuando la micotoxina se encuentra en forma ionizada (ej: fumonisina, OA).
 - La retención se basa en la atracción electrostática de un grupo funcional con carga de la toxina con un grupo cargado de la sup. del sílice de relleno de la columna.
 - Se pasa una sc con fuerte carga iónica para eludir la toxina.
- X:** Pueden interferir otros componentes del extracto con igual carga (menor selectividad).



D) Extracción mediante columnas de inmunoafinidad (IAC)

- Las toxinas se unen específicamente a los anticuerpos monoclonales de la columna (no los demás compuestos). Tras un lavado, eluyen las toxinas por desnaturalización de los anticuerpos.
- ✓ Alta especificidad, pueden usarse extractos poco limpios, ofrece altas recuperaciones y pureza de los extractos (listos para HPLC, GC o fluorímetros)
- X:** Alto \$, único uso, necesidad de desarrollo de anticuerpos para una toxina determinada



Otras técnicas: Columnas Mycosep® / molecular imprinted polymers (MIPs) / QuEChERS / asistida por microondas / fluidos supercríticos / microextracción líq-líq dispersiva (DLLME)

Separación / Detección

PRINCIPALES TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETECCIÓN DE MICOTOXINAS

Para revelar estructuras
de nuevas micotoxinas

- ❖ Espectroscopía de UV e IR
- ❖ Resonancia Magnética Nuclear (RMN)
- ❖ Cristalografía de Rayos -X
- ❖ Técnicas biosintéticas

Para el análisis
rutinario

- ❖ TLC / HPTLC
- ❖ HPLC / UPLC
- ❖ ELISA
- ❖ Electroforesis capilar
- ❖ GC

Para análisis más
completos y/o
confirmaciones más
exactas

- ❖ UPLC – MS
- ❖ GC – MS
- ❖ MS
- ❖ MS - MS

Separación / Detección

Para el análisis rutinario

Técnicas Inmunológicas

ELISA
Membranas

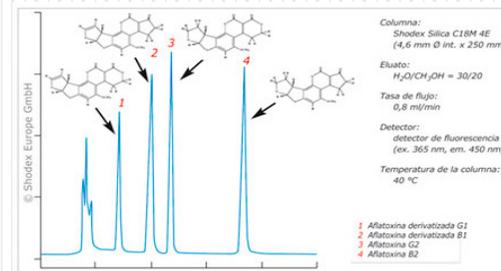
- Para muestras naturalmente contaminadas
- Como método de screening rápido



Técnicas Cromatográficas

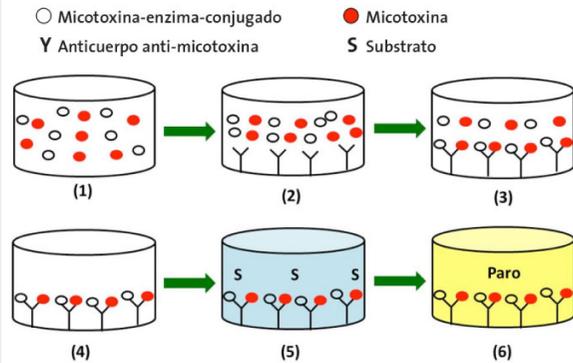
HPLC
GC

- Para confirmaciones
- Para obtener más información del extracto
- En caso de no existir kit inmunoenzimático para la toxina de interés



Técnicas Inmunológicas

ELISA



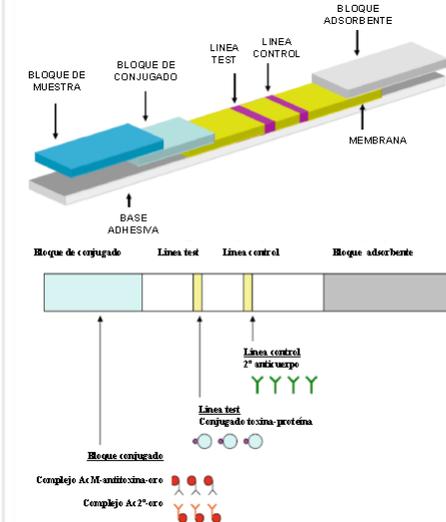
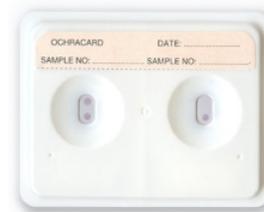
- ✓ Se usa poco volumen de muestra
- ✓ Generalmente no necesita pre purificaciones
- ✓ Se pueden procesar varias muestras a la vez
- ✓ Baja preparación técnica de los operarios
- ✓ Rápida lectura de los resultados
- ✓ Posibilidad de lectura visual cualitativa o semi cuantitativa
- ✓ Alta especificidad

- ✗ Coste y caducidad de los kits
- ✗ Disponibilidad de kits para micotoxinas de interés confirmatoria, ya sea por HPLC o CG-EM
- ✗ Posibilidad de reacciones cruzadas con otras mtx o compuestos.

Basados en Membranas

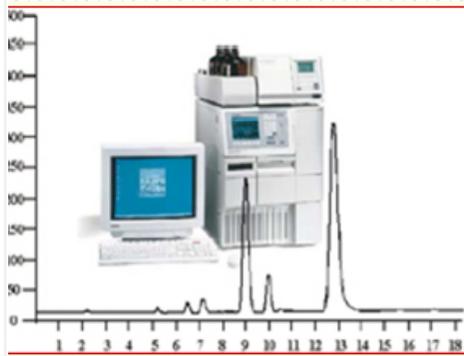
- ✓ Muy sencillo, muy rápido, alta estabilidad
- ✓ Fácil de usar en el campo
- ✓ Semicuantitativo

- ✗ Los positivos deben confirmarse por técnicas cuantitativas, como HPLC



Técnicas Cromatográficas

HPLC



GC

El principal grupo de toxinas analizadas por GC son los TRICOTECENOS, por:

- Carecer de fluorescencia
- No absorber en la banda del UV
- Límites de detección muy altos si se usa HPLC o TLC
- Fácil de obtener derivados volátiles

- ✓ Mayor grado de automatización (inyector automático, derivatización en línea, etc)
- ✓ Mayor rapidez, sensibilidad, reproducibilidad y exactitud
- ✓ Mayor seguridad (toxinas en solución)
- ✓ Mayor información de la muestra
- ✓ Multiplicidad de detectores. Posibilidad de realizar HPLC-MS y métodos multimicotoxinas.

- ✗ Coste del equipo y de su mantenimiento
- ✗ Grado de preparación del operario
- ✗ Necesidad de una elevada purificación de las muestras

- Desarrollado poco para mtx por no ser volátiles (por lo que hay que derivatizarlas) y a la gran implantación del HPLC y el TLC
- Los detectores más sensibles y específicos: captura de electrones (ECD) y el de espectrometría de masa (MS)
- Los métodos que omiten derivatización emplean el detector de ionización (FID) que es considerablemente menos sensible que ECD y MS

Métodos multitoxina . Ej: pueden ir a la vez zearalelona y hasta 7 tricotecenos en un pinchazo de GC-MS

Nueva problemática: MICOTOXINAS CONJUGADAS

Son derivados de las micotoxinas principales cuya estructura ha cambiado debido al metabolismo de la planta, del hongo, o del procesado de los alimentos, de forma que suelen ser indetectables por las técnicas analíticas convencionales.

Se pierden
en el análisis
porque

El cambio de su estructura molecular modifica sus características cromatográficas
Se modifica el epítopo reconocido por los anticuerpos
Se reduce la eficacia del disolvente de extracción al haber sufrido un cambio en su polaridad.

Sub estimación
del contenido
total de mtx

Mxt conjugadas
SOLUBLES

Directamente accesibles para el análisis

Mxt conjugadas
INMOVILIZADAS

Se necesita un pre tratamiento de las muestras para liberarlas . Ej: SDS para extraer FBs ligadas a proteínas.
B-glucosidasas para romper la ZEA-14G.
Amilasas, celulasas, xilanasas, etc para el DON-3G.
Hidrólisis ác con KOH (FBs)

Expresión de resultados como la suma del total de mtxs
(parental + conjugada).

Conclusiones

Las micotoxinas representan un riesgo latente y un gran problema para la inocuidad de los alimentos del hombre y animales.

Es importante fortalecer los esfuerzos para reducir al mínimo el riesgo de contaminación con mtx (BPA y HACCP).

Obtener un muestreo representativo del lote es de alto impacto en el resultado del análisis.

Actualmente existen diversos métodos para la detección de micotoxinas. Su elección dependerá de la matriz y micotoxina en cuestión como de la accesibilidad al mismo.

Habría que establecer límites legales y realizar evaluación de riesgos incluyendo las micotoxinas conjugadas.



Muchas gracias por su atención !



**4° Seminario
Gestión de la Inocuidad
en la Industria Alimentaria**



2017