

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN HUMANA A LAS MICOTOXINAS: ESTUDIO GLOBAL EN LA POBLACIÓN DE CATALUÑA (ESPAÑA)

HUMAN EXPOSURE ASSESSMENT TO MYCOTOXINS: GLOBAL STUDY IN CATALONIA (SPAIN)

Ramos AJ*, Cano-Sancho G, Sanchis V, Marín S.

Unidad de Micología Aplicada. Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Lleida, UTPV-Xarta, Agrotecnio, Avenida Rovira Roure 191, C.P. 25198 Lleida, España.

Recibido: 20 de diciembre de 2011.

Aceptado: 09 de febrero de 2012.

Resumen

La exposición a las micotoxinas a través de los alimentos es un riesgo para la salud reconocido, que está recibiendo una creciente atención. El presente trabajo muestra el diseño y los principales resultados del primer estudio llevado a cabo en Cataluña (comunidad autónoma española situada al noreste de España) para evaluar la incidencia de las micotoxinas más importantes en alimentos que se comercializan en esta región, y para evaluar la exposición de la población a estos importantes contaminantes de los alimentos. Para alcanzar estos objetivos se determinaron, por un lado, los niveles de micotoxinas en los productos más susceptibles a la contaminación que se consumen con mayor frecuencia en esta región, principalmente alimentos a base de cereales, alimentos para bebés, frutos secos, especias, alimentos a base de manzana y productos lácteos. Por otra parte, se evaluó la ingesta alimentaria en todos los grupos de población con el fin de caracterizar y cuantificar la exposición de la población a las micotoxinas. Las micotoxinas analizadas fueron las aflatoxinas (AFs), B₁, B₂, G₁, G₂ y M₁, el deoxinivalenol (DON), las fumonisinas (FBs) B₁ y B₂, la ocratoxina A (OTA), la patulina (PAT), las toxinas T-2 y HT-2, y la zearalenona (ZEA). En conjunto, 3,447 muestras fueron adquiridas

en 2008 y 2009 en seis hipermercados y supermercados procedentes de las doce principales ciudades de Cataluña, lo que representaría el 72 % de la población. Las muestras se agruparon para obtener las muestras analíticas (n = 1,690), para determinar y cuantificar, entre una y once del total de las micotoxinas citadas. Éstas se extrajeron, purificaron y se determinaron siguiendo métodos validados que incluyen procedimientos de purificación por columnas de cromatografía de inmunoafinidad (IAC), y la determinación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector de diodos o detección de fluorescencia, o por cromatografía de gases con detección electroquímica o de masas, en función del caso. La ingesta de los alimentos relacionados se evaluó mediante un cuestionario de frecuencia específicamente desarrollado para la población catalana. Setenta y nueve personas mayores de 65 años, 720 adultos, 236 adolescentes, 68 niños, 166 padres de bebés fueron entrevistadas durante 2008 y 2009. Por sus hábitos alimentarios específicos se prestó una especial atención a dos grupos específicos: 56 personas de origen inmigrante y 70 personas celiacas. La exposición de la población a las micotoxinas se evaluó a través de la combinación de los datos de contaminación

***Autor corresponsal:**

Ramos AJ, Unidad de Micología Aplicada. Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Lleida, UTPV-Xarta, Agrotecnio, Avenida Rovira Roure 191, C.P. 25198 Lleida, España. Tel. (00-34) 973 702811, Fax. (00-34) 973 702596. Correo Electrónico: airamos@tecal.udl.es
Revista Bio Ciencias ISSN 2007-3380 Julio 2012 Vol. 2 Núm. 1 Año 3 Páginas 45 a 57

con los datos de consumo mediante metodología determinista. Además, se evaluó la exposición de la población a la OTA y a las FBs mediante los respectivos biomarcadores en sangre y orina. Los resultados mostraron que la presencia de las micotoxinas estudiadas en Cataluña era baja y, por lo general, los niveles de concentración se encontraron por debajo de los niveles de seguridad correspondientes establecidos por la Comisión Europea. Las micotoxinas más importantes en el mercado catalán fueron la OTA y el DON, que se encuentran principalmente en las especias y los alimentos a base de cereales, respectivamente. Los estudios de evaluación de la exposición mostraron que para la población catalana en su conjunto no cabe esperar un riesgo alto para la salud derivado de las micotoxinas en base a los alimentos estudiados, en línea con lo observado en otros países europeos. Sin embargo, debe ponerse especial atención en el caso de los bebés, los niños y varios grupos étnicos, por ser los grupos más expuestos.

Palabras clave: Micotoxinas, alimentos, dieta, exposición, ingesta.

Abstract

Exposure to mycotoxins in food is a widely recognized health risk, which is receiving increasing attention. In the present paper we show the design and the main results of the first study in order to assess the occurrence of the most important mycotoxins in Catalonia (North East part of Spain), and the exposure of its population to these important food contaminants. To reach these objectives, first the levels of mycotoxins were determined in the most susceptible to contamination and most commonly consumed commodities in this region, mainly cereal-based food, baby food, dried fruits, species, apple-based food and dairy products. On the other hand, dietary intake was assessed in all population groups in order to characterize and quantify their exposure to the mycotoxins. Analyzed mycotoxins were the aflatoxins (AF) B₁, B₂, G₁, G₂ and M₁, deoxynivalenol (DON), fumonisins (FBs)

B₁ and B₂, ochratoxin A (OTA), patulin (PAT), T-2 and HT-2 toxin and zearalenone (ZEA). In total, 3,447 samples were purchased during 2008 and 2009 in six hypermarkets and supermarkets from the twelve main cities of Catalonia, representative of 72 % of the population. The samples were pooled in order to obtain analytical samples (n = 1,690), to determine and quantify, from one to eleven out of the total of mycotoxins cited before. These were extracted, purified and determined following validated methods which included clean-up procedures using immunoaffinity columns (IAC), and determination by high performance liquid chromatography (HPLC) with diode array or fluorescence detection, or gas chromatography with electrochemical or mass detection, depending on case. Food diet intake of the related foods was assessed through a specific Food Frequency Questionnaire developed for Catalanian population. 79 elders, 720 adults, 236 teenagers, 68 infants, 166 baby parents, 56 ethnic individuals and 70 celiac sufferers were interviewed during 2008 and 2009. Special attention was focused in two special groups: ethnic and celiac, who were thoroughly studied taken into account their specific dietary habits. Populations exposure to the mycotoxins was assessed through the combination of contamination data with consumption data by means of deterministic methodology. Furthermore, such exposure to OTA and FBs was also checked through the respective urine and blood biomarkers. The results showed that the occurrence of the studied mycotoxins in Catalonia was low and, in general, results also showed that the concentration levels found were below the respective safety levels established by the European Commission. The most significant mycotoxins in the Catalanian market were OTA and DON, which were widely found in species and cereal-based food, respectively. Population exposure assessment studies showed that non health risk derived from mycotoxins through the consumption of the studied food products should be expected for the Catalanian population agreeing to what has been observed in other European countries. However, special

attention should be focused on babies, children and several ethnic groups who seem to be the most exposed people.

Key words: Mycotoxins, food, diet, exposure, intake.

Introducción

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por mohos que contaminan diversos productos agrícolas, ya sea antes de la cosecha o en condiciones de post-cosecha (FAO, 1991). La exposición a las micotoxinas a través de los alimentos es un riesgo para la salud ampliamente reconocido que está recibiendo una atención cada vez mayor (Bhat y Vasanthi 1999). Las micotoxinas pueden causar una variedad de síntomas toxicológicos: algunas afectan al sistema inmune, mientras que otras son teratogénicas, mutagénicas y/o carcinogénicas para ciertas especies animales susceptibles, y se han asociado con varias enfermedades agudas y crónicas en animales domésticos, el ganado y los seres humanos en muchas partes del mundo. En muchos casos, los efectos de las micotoxinas en la salud humana, a los niveles a los que los seres humanos están frecuentemente expuestos, no se conocen bien (CCFAC, 2002).

Las aflatoxinas (AFs) son altamente tóxicas, mutagénicas, teratogénicas y carcinógenas. La aflatoxina B₁ (AFB₁) es la micotoxina más carcinógena conocida, y diversos estudios en humanos han puesto de manifiesto que las AFs son los principales factores de riesgo para el carcinoma hepatocelular, lo que ha originado su clasificación en el grupo 1 (agentes carcinógenos para los seres humanos) de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2002; Organización Mundial de la Salud, 1998; Wang y Tang, 2004).

La aflatoxina M₁ (AFM₁) es el principal derivado monohidroxilado de la AFB₁ formado

en el hígado por las enzimas asociadas al citocromo P450 (Prandini *et al.*, 2009). Aunque la AFM₁ es menos tóxica que la AFB₁, ha sido clasificada en el grupo 2B por la IARC como un posible carcinógeno humano (IARC, 1993).

La exposición humana a las fumonisinas (FBs) se ha relacionado con el cáncer de esófago y de hígado en el sur de África y China (Sydenham *et al.*, 1991; Yoshizawa *et al.*, 1994). La toxicidad aguda y crónica de las FBs ha sido ampliamente demostrada en varias especies animales, incluyendo carcinogénesis y efectos tóxicos cardiovasculares (Gelderblom *et al.*, 1988, 1991). El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) evaluó las FBs y les asignó una ingesta diaria tolerable máxima provisional (IDTMP) de 2 µg kg⁻¹ de peso corporal (p.c.) por día (OMS, 2001).

La ocratoxina A (OTA) es un agente nefrotóxico conocido, y la exposición a este tóxico ha demostrado que induce tumores en los riñones y otros efectos tóxicos en animales de experimentación. Esta toxina fue evaluada en varias ocasiones por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) (2001), que estableció una ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) de 100 ng kg⁻¹ p.c. (aproximadamente 14 ng kg⁻¹ p.c. día⁻¹) basada en el efecto nefrotóxico observado en cerdos durante un estudio de toxicidad subcrónica. El *Scientific Committee for Food* de la Unión Europea (SCF, 1998) estableció una ingesta diaria tolerable (IDT) de 5 ng kg⁻¹ p.c. calculada a partir de los efectos nefrocarcinogénicos observados en ratas.

La patulina (PAT) ha mostrado ser muy tóxica, teratogénica e inmunosupresora en estudios con animales (Dailey *et al.*, 1977; Escoula *et al.*, 1988; Sugiyanto *et al.*, 1993). El JECFA ha establecido una IDTMP para la patulina de 0.4 µg kg⁻¹ p. c. por día (OMS, 1995).

La toxina T-2 es un potente inhibidor de la síntesis de proteínas y la función mitocondrial *in vivo* e *in vitro*, y muestra efectos

inmunosupresores y citotóxicos. Por otra parte, esta toxina tiene efectos muy tóxicos en la piel y mucosas (Eriksen y Pettersson, 2004; Sudakin, 2003; Visconti *et al.*, 1991; Visconti, 2001). El JECFA, después de evaluar el efecto tóxico de las toxinas T-2 y HT-2, concluyó que los efectos tóxicos de estas micotoxinas no se podían diferenciar. Inicialmente, la IDTMP para la combinación de estas toxinas se fijó en $0.06 \mu\text{g kg}^{-1}$ p.c. por día, pero finalmente la IDT ha sido establecida en $0.1 \mu\text{g kg}^{-1}$ p.c. por día (EFSA, 2011b; JECFA, 2001).

A pesar de que el deoxinivalenol (DON) no es tan tóxico como otros tricotencenos como las toxinas T-2 o HT-2, esta micotoxina es uno de los contaminantes más comunes de los cereales en todo el mundo (Jelinek *et al.*, 1989; Scott *et al.*, 1989). Los efectos agudos de intoxicación alimentaria en humanos son dolores abdominales, mareos, dolor de cabeza, irritación de garganta, náuseas, vómitos, diarrea y sangre en las heces (Rotter *et al.*, 1996). En cuanto al DON, el SCF estableció una ingesta diaria tolerable (IDT) de $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ p.c. por día, sobre la base de una reducción del aumento de peso (SCF, 2002).

La zearalenona (ZEA) y algunos de sus metabolitos han demostrado que se unen competitivamente a los receptores de estrógeno. Por lo tanto, la toxicidad se asocia con problemas reproductivos en animales específicos y posiblemente en humanos (Gromadzka *et al.*, 2009; Wood, 1992). Relacionado con esta toxina se han observado problemas de fertilidad en animales tales como cerdos y ovejas (Krska *et al.*, 2003). La ZEA puede ser un importante agente etiológico de intoxicación en niños o en fetos expuestos a esta micotoxina, con resultados de telarquía prematura, pubarquia, y aumento de mamas (CAST, 2003). El panel científico de la *European Food Safety Authority* (EFSA) sobre contaminantes en la cadena alimentaria (CONTAM) ha establecido recientemente una IDT de $0.25 \mu\text{g kg}^{-1}$ p.c. por día, mientras que la IDTMP establecida por el JECFA fue de $0.5 \mu\text{g kg}^{-1}$ p.c. por día (EFSA, 2011a).

Los estudios de evaluación de la exposición combinan los datos de consumo de alimentos con datos sobre la concentración de productos químicos en los mismos. Los expertos han recomendado el uso de un método estocástico para proporcionar una evaluación de la exposición más realista, teniendo las incertidumbres del modelo y la variabilidad en consideración. Sin embargo, no hay consenso sobre cuál debe ser la metodología específica aplicada en cada caso (EFSA, 2006; Kroes *et al.*, 2002; OMS, 2005; Verger y Fabiansson, 2008).

El objetivo de este trabajo es presentar el diseño y la metodología utilizada para evaluar la presencia de micotoxinas en Cataluña (comunidad autónoma del noreste de España), así como, para evaluar la exposición de esta población. Finalmente, se presentan los resultados preliminares más importantes de la presencia de micotoxinas y la ingesta diaria estimada para cada grupo de población.

Material y métodos

Diseño del Estudio

El estudio consta de tres partes principales: 1) el estudio de la incidencia de las micotoxinas en el mercado catalán, 2) el estudio de los hábitos alimentarios de una muestra de población de Cataluña y, finalmente, 3) la combinación de estos datos con el fin de estimar la exposición de la población a estas micotoxinas.

El primer paso consistió en el establecimiento de una lista de alimentos para ser analizados, en base a los productos alimenticios susceptibles de contaminación y a los de mayor consumo en Cataluña (Serra-Majem *et al.*, 2003). Los alimentos seleccionados reflejan los patrones de alimentación de la población catalana en general. Por otra parte, se tuvieron en cuenta dos grupos especiales de población con diferentes patrones de alimentación: los celíacos y los inmigrantes que

presenten un patrón de dieta específico. Los alimentos fueron recolectados en toda Cataluña, y se agruparon en muestras compuestas. Posteriormente fueron analizados con los métodos validados respectivos.

La ingesta de alimentos se evaluó por medio del uso de un cuestionario de frecuencia alimentaria desarrollado para la población de Cataluña, y adaptado a cada grupo con diferencias importantes en los patrones de la dieta.

La exposición global a cada micotoxina fue estimada para cada grupo de población, a través del método directo descrito más adelante.

Muestreo de alimentos

Entre 2008 y 2009 se obtuvieron las muestras de alimentos en seis hipermercados y supermercados a partir de las doce ciudades principales (Tortosa, Tarragona, Reus, Vilanova i la Geltrú, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Terrassa, Sabadell, Mataró, Girona, Manresa y Lleida) de Cataluña, representando el 72 % de la población. De cada supermercado o hipermercado, se tomaron al azar 3 unidades (si existían) de cada producto. El nivel de las micotoxinas se determinó en un total de 72 muestras compuestas obtenidas por la agrupación de las 3 unidades de cada una de

Tabla 1
Resumen de las muestras individuales y analíticas, para cada producto alimentario, y las micotoxinas analizadas por categoría

Alimentos	Muestras individuales	Muestras analíticas	Micotoxinas
Leche	211	72	AFM ₁
Queso	216	72	AFM ₁
Yogur	202	72	AFM ₁
Cacahuetes	215	72	AF _T , OTA
Pistachos	170	70	AF _T , OTA
Higos secos	26	26	AF _T
Maíz dulce	182	71	AF _T , FBs, TRs, ZEA
Copos de maíz	168	72	AF _T , FBs, TRs, OTA, ZEA
Copos de trigo	30	30	AF _T , TRs, OTA, ZEA
Snacks de maíz	216	72	AF _T , FBs, TRs, ZEA
Cerveza	216	72	FBs, TRs, OTA, ZEA
Pimentón rojo	168	72	AF _T
Café	204	72	OTA
Pasas	37	37	OTA
Vino	241	241	OTA
Alimentos infantiles de cereales	154	71	AF _T , FBs, TRs, OTA, ZEA
Pan	30	30	TRs
Pan de molde	145	71	TRs, OTA, ZEA
Pasta	201	70	TRs, ZEA
Zumo de manzana	161	71	PAT
Derivados de manzana sólidos	77	77	PAT
Alimentos infantiles de manzana	124	124	PAT
Alimentos étnicos	35	35	AF _T , FBs, DON, ZEA
Alimentos sin gluten	18	18	AF _T , FBs, DON, ZEA

AF_T (aflatoxina B₁+B₂+G₁+G₂); AFM₁ (aflatoxina M₁); DON (deoxinivalenol); FBs (FB₁+FB₂); TRs (deoxinivalenol+toxina T2+toxina HT2); PAT (patulina); OTA (ocratoxina A); ZEA (zearalenona).

los comercios si estaban disponibles (12 ciudades x 6 comercios/ciudad = 72 muestras/categoría). Sin embargo, en algunos casos, si no existía tal producto en un comercio, se tenían menos de 72 muestras compuestas.

Finalmente, se recogieron 3,447 muestras individuales, agrupadas posteriormente en 1,690 muestras compuestas (muestras para análisis), y se llevaron a cabo un total de 4,064 análisis químicos. La Tabla 1 resume los alimentos recogidos y el inventario de las muestras individuales, compuestas y las micotoxinas analizadas por categoría.

Se analizó una amplia gama de marcas comerciales que incluyen la mayoría de cuota de mercado en Cataluña de estos productos, así como en el resto del mercado español. Las muestras se transportaron y almacenaron en condiciones adecuadas hasta su análisis.

Análisis químico de micotoxinas en los alimentos

La selectividad, la linealidad y precisión de los métodos analíticos empleados fueron evaluadas de acuerdo a los criterios establecidos por el Reglamento (EC) N° 401/2006 (Comisión Europea, 2006a). La Tabla 1 muestra las toxinas analizadas en cada tipo de alimento.

La extracción y purificación de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ se realizó utilizando columnas de inmunoafinidad y fueron detectadas y cuantificadas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con derivatización fotoquímica post-columna y detección por fluorescencia. El límite de cuantificación (LC), fue de 0.1 µg kg⁻¹ para la AFB₂ y AFG₂ y de 0.025 µg kg⁻¹ para la AFB₁ y AFG₁. El contenido de AFM₁ se analizó utilizando un kit inmunoenzimático comercial. El LC de la AFM₁ en la leche fue de 5 ng kg⁻¹ y de 25 ng kg⁻¹ en el yogur.

Los extractos de FBs obtenidos de las muestras a base de maíz, se purificaron mediante columnas de inmunoafinidad, para

la posterior derivatización con o-ftaldialdehído y análisis por HPLC. El LC de las FBs varió entre 11.7 y 15.6 µg kg⁻¹.

La OTA y la ZEA se extrajeron y purificaron por medio de columnas de inmunoafinidad y determinación por HPLC con detector de fluorescencia. El LC osciló entre 1.95 y 0.70 µg kg⁻¹ para la ZEA, y el límite de detección (LD) para la OTA osciló entre 0.003 y 0.18 µg kg⁻¹.

La PAT se analizó por un método validado bien establecido con extracción con acetato de etilo y análisis directo mediante HPLC con detección ultravioleta. El LC fue de 6.25 µg kg⁻¹.

El DON y las toxinas T-2 y HT-2 se determinaron en los cereales de desayuno, *snacks* y las muestras de pasta después de su extracción, limpieza, derivatización, y, finalmente, análisis por cromatografía de gases con detección electroquímica (GC-ECD). Por otra parte, estas micotoxinas se determinaron en el pan de molde, el maíz dulce y la cerveza por cromatografía líquida con detección de diodos (LC-DAD). El LC del DON osciló entre 12 y 66 µg kg⁻¹, de 12 a 153 µg kg⁻¹ para la toxina HT-2 y de 9 a 61 µg kg⁻¹ para la toxina T-2.

Estimación del consumo de alimentos

Teniendo en cuenta que el consumo de algunos productos estudiados es considerado como esporádico u ocasional, se prefirió el uso de cuestionarios de frecuencia de consumo, ya que puede ser ventajoso el sacrificio de medidas precisas de ingesta a cambio de obtener más información cruda relacionada con un período prolongado de tiempo (Walter, 1998). En este estudio, la ingesta de alimentos se evaluó mediante un cuestionario de frecuencia específico (CFA), desarrollado para la población catalana incluyendo los alimentos normalmente consumidos en la región que pueden estar potencialmente contaminados con estas micotoxinas. La OMS sugiere que los estudios para evaluar la ingesta de contaminantes

químicos, deben mostrar la ingesta entre la población normal, con todos los grupos de población que podrían tener diferentes hábitos alimentarios. Por lo tanto, se consideraron cinco grupos de población de cada sexo: los bebés (0-3 años), niños (4-9), adolescentes (10-19 años), adultos (20-65 años) y personas mayores de 65 años. El CFA constaba de 38 tipos de alimentos conocidos mundialmente por su contaminación por micotoxinas, con exclusión de los alimentos que no se consumen en la región. En el informe de frecuencias se consideraron cinco opciones de respuesta, que van desde nunca a diariamente. Las cantidades fueron evaluadas por el tamaño de las raciones con la ayuda de una serie de fotografías en color. Finalmente, 76 personas mayores de 65 años, 720 adultos, 235 adolescentes, 69 niños y 164 padres de bebés fueron entrevistadas durante el período 2008-2009 por entrevistadores entrenados. Además, 70 celíacos y 56 personas de origen inmigrante con un patrón de dieta diferente se incluyeron en el estudio nutricional. Los individuos pertenecían a 89 ciudades y pueblos de Cataluña.

Evaluación global de la exposición a las micotoxinas

Con el fin de reducir la incertidumbre en los datos de contaminación por debajo del límite de cuantificación, estos valores se asumieron iguales a la mitad del LD (SIMUVIMA/Alimentos, OMS, 1995).

En el presente trabajo, se llevó a cabo un enfoque directo para evaluar la exposición de la población catalana a las micotoxinas:

Suponiendo independencia entre el consumo (C_{π_j}) y la contaminación (T_j), así como entre sus productos, se estimó la exposición media de la población π con la muestra de población π_0 de la siguiente manera:

$$\hat{E}_{\pi_0} = \sum_{j=1}^p \bar{C}_{\pi_0,j} \bar{T}_j$$

donde $\bar{C}_{\pi_0,j}$ es la media aritmética del consumo normalizado del alimento j en el grupo de población π_0 , y T_j es la media aritmética de los datos disponibles de la contaminación del alimento en cuestión.

Bajo estos supuestos, también se pudo realizar la estimación de la varianza $\hat{V}(E_{\pi_0})$ utilizando la ecuación (5) y la ecuación (6) en Gauchi *et al.* (2002).

Los cuantiles teóricos de exposición se definieron como, $F_{E_{\pi}}(Q_{\pi}^{\alpha}) = \alpha$ donde $F_{E_{\pi}}$ es la función teórica de densidad acumulativa (*cdf*) y Q_{π}^{α} el α° cuantil teórico de exposición. El cuantil empírico de exposición (\hat{Q}_S^{α}) se definió de la siguiente manera:

$$\#(\hat{E}_k \leq (\hat{Q}_S^{\alpha})) / N = \alpha$$

donde la notación $\#(x_i \leq K)$ es el número de x_i inferiores o iguales a K .

Resultados y Discusión

Resultados de la presencia de micotoxinas en Cataluña

Se encontró una baja incidencia de AFs en todos los productos analizados excepto en el pimentón, los pistachos y los cacahuetes, siendo estos tres productos los que presentaron un mayor porcentaje de muestras positivas (56.9, 20 y 11.1 %, respectivamente).

Se encontró un bajo porcentaje de muestras positivas para AFs en el resto de categorías, y ninguna en el caso de las muestras de alimentos infantiles.

Teniendo en cuenta que los valores medios fueron calculados a partir de las muestras positivas, los valores más altos se encontraron en los pistachos, seguidos por el pimentón y los cacahuetes.

La presencia de AFM₁ en queso y yogur procedente del mercado catalán fue muy baja. Por otra parte, aunque se observó una alta incidencia de esta toxina en leche, los niveles de contaminación encontrados fueron muy bajos, lejos del límite de seguridad establecido por la Comisión Europea (European Commission, 2006b).

La mayor incidencia de FBs se encontró en las muestras de cerveza, con un 90.1 % de muestras positivas, seguida de los aperitivos de maíz y de los copos de maíz. Los alimentos infantiles a base de maíz mostraron un nivel moderado de muestras positivas (23.3 %), y no se detectó toxina en el maíz dulce. Entre las muestras positivas, los aperitivos de maíz y los copos de maíz mostraron los niveles más altos de contaminación por fumonisinas (119.1 ± 83.1 y $78.9 \pm 27.9 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente).

La OTA estuvo presente en todas las matrices analizadas, mostrando especialmente un alto porcentaje de muestras positivas la cerveza y el café (88.7 y 75.7 %, respectivamente). Los valores más bajos se encontraron en los alimentos infantiles, los pistachos y los copos de maíz (8.7, 7.1 y 2.8 %, respectivamente). La media de contaminación de las muestras positivas varió entre 0.02 ± 0.02 y $3.62 \pm 3.54 \mu\text{g kg}^{-1}$, valores encontrados en la cerveza y las pasas, respectivamente, siendo en este último caso donde se encontró el nivel más elevado de OTA ($10.05 \mu\text{g kg}^{-1}$). Además, se encontraron importantes niveles de OTA en las muestras de café, con un valor medio de $2.19 \pm 0.79 \mu\text{g kg}^{-1}$.

La PAT fue detectada infrecuentemente en los alimentos sólidos a base de manzana (5.2 %), especialmente cuando se compara con la contaminación encontrada en el zumo de manzana o los alimentos infantiles (42.3 % y 33.9 %, respectivamente). Sin embargo, el nivel máximo encontrado ($17.6 \mu\text{g kg}^{-1}$), y el mayor valor medio en muestras positivas ($13.5 \mu\text{g kg}^{-1}$) se encontró en esta categoría. Los niveles medios de PAT en las muestras

positivas de zumo de manzana y de alimentos infantiles a base de manzana fueron de 8.05 y $7.12 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente.

En cuanto al DON, se encontró que la presencia de esta toxina era moderada en alimentos a base de cereales procedentes del mercado catalán, pero especialmente alta en copos de trigo, copos de maíz, pasta y pan. A pesar del alto porcentaje de muestras positivas, solamente 5 muestras estuvieron por encima del límite establecido por la Comisión Europea (European Commission, 2006b). Por otra parte, la toxina T-2 solo se encontró en 5 muestras, mientras que la toxina HT-2 estuvo presente en un bajo porcentaje de muestras, no siendo detectada en ninguna muestra de pan o cerveza.

En lo concerniente a la ZEA, el mayor porcentaje de muestras positivas se encontró en el pan de molde (43.7 %), mientras que no fue detectada en las muestras de copos de maíz. El nivel medio de las muestras positivas varió entre 3.1 ± 1.4 y $5.9 \pm 6.8 \mu\text{g kg}^{-1}$, y en el caso de de los alimentos infantiles el valor medio fue de $4.1 \pm 0.6 \mu\text{g kg}^{-1}$. En cuanto a los valores máximos, se encontraron en el pan de molde ($20.9 \mu\text{g kg}^{-1}$) y en los aperitivos de maíz ($22.8 \mu\text{g kg}^{-1}$), pero lejos del límite impuesto por la UE de $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ (European Commission, 2006b).

Resultados de la exposición de la Población de Cataluña a las micotoxinas

En este trabajo mostramos los resultados preliminares obtenidos por el método directo para cada micotoxina evaluada para todos los grupos de población.

La baja presencia de AFs en los alimentos analizados hace impreciso el procedimiento de evaluación de la exposición, aumentando el rango de estimaciones probables. Resumiendo, cabe esperar una baja ingesta de AFs a través de la dieta para todos los grupos de población. Las ingestas medias diarias estimadas (EDIs, del inglés *estimated daily intakes*) se situaron en-

tre 0.00 y 0.2 ng kg⁻¹ p.c. por día. Considerando nuestros resultados, los grupos de población más expuestos resultaron ser los adolescentes y el grupo correspondiente a los inmigrantes.

En cuanto a la AFM₁, los niños fueron el grupo que presentó un mayor porcentaje de consumidores (94.1 %), mientras que los adultos fueron el grupo con el menor porcentaje de consumidores (55.4 %). Teniendo en cuenta nuestros resultados, el grupo de los niños fue el de mayor riesgo de exposición a la AFM₁. Se estimó una ingesta diaria estimada de 0.36 y 0.43 ng kg⁻¹ p.c. por día para el percentil 95 para niños y niñas, respectivamente.

Nuestros resultados muestran que los principales grupos expuestos a las FBs son los bebés y los inmigrantes, con EDIs medias de 0.20 y 0.22 µg kg⁻¹ p.c. por día. El resto de grupos de población estudiados, incluyendo los celíacos, mostraron valores más bajos de EDI, que variaron entre 0.01 y 0.07 µg kg⁻¹ p.c. por día.

En el caso de la OTA, los niveles de contaminación en los alimentos analizados fueron menores que los valores límite establecidos por la Comisión Europea, y la incidencia en la mayoría de los casos fue menor del 50 %. La ingesta diaria de OTA fue siempre inferior a los valores sugeridos por la EFSA y la JEFCA (17 y 14 ng kg⁻¹ p.c. por día, respectivamente), variando entre un 1-3 % de esos valores en los adolescentes y los niños, y entre un 3 a 17 % en los adultos y bebés.

Para la PAT, se estimaron ingestas de 41 y 5 ng kg⁻¹ p.c. por día para los niños y adultos, respectivamente. Los niños fueron los más expuestos, con valores del 10.3 % y 32.4 % del IDT para consumidores medios y altos (percentil 95), respectivamente. La compota multifrutas fue el principal alimento que contribuyó a la ingesta de PAT por los bebés, siendo la responsable del 55 % de la ingesta total de la toxina, seguida por la compota de manzana y el zumo de manzana, con valores del 24 % y 20 %, respec-

tivamente. El resto de la población evaluada estuvo siempre lejos del IDT de 400 ng kg⁻¹ p.c. por día (WHO 1995).

Se ha estimado que la exposición de los adultos y mayores de 65 años al DON está lejos del IDT de 1 µg kg⁻¹ p.c. por día, con medias del EDI de 0.09 y 0.04 µg kg⁻¹ p.c. por día. Los mayores valores de EDI se encontraron en niños y en el grupo constituido por los inmigrantes, con medias estimadas de 0.74 y 0.57 µg kg⁻¹ p.c. por día, respectivamente, mientras que los percentiles altos podrían exceder el nivel de seguridad.

La evaluación de la exposición conjunta a las toxinas T-2 y HT-2 muestra que se puede esperar un nivel moderado de exposición para todos los grupos de población, variando entre 0.02 y 0.14 µg kg⁻¹ p.c. por día, para las estimaciones medias de mayores de 65 años y niños, respectivamente. Teniendo en cuenta la alta toxicidad de estas micotoxinas, se estima necesario aplicar una vigilancia especial en este caso.

El grupo de edad con los valores más elevados de ingesta de ZEA fueron los niños, principalmente los altos consumidores, con un rango de exposición entre 35.4-51.9 ng kg⁻¹ p.c. por día, siendo los ancianos el grupo con una menor exposición. En todos los casos, los valores de exposición se situaron muy lejos de la IDT de 250 ng kg⁻¹ p.c. por día.

Conclusiones

Este es el primer estudio llevado a cabo en España para evaluar la incidencia de un conjunto amplio de micotoxinas, con el objetivo de estimar la exposición global de la población. Se determinó con detalle el nivel de contaminación por micotoxinas en algunos de los alimentos más susceptibles, muestreados en Cataluña, la comunidad autónoma española objeto de estudio. Más aún, se ha determinado la exposición de la población catalana a estos contaminantes.

Nuestros resultados, fruto de 4,456 análisis químicos, demuestran que la incidencia de las micotoxinas en los alimentos disponibles en Cataluña es baja, con niveles que, por lo general, satisfacen los requerimientos de seguridad alimentaria establecidos por la Comisión Europea respecto a estos contaminantes. Las micotoxinas más importantes en el mercado catalán han resultado ser las FBs, la OTA y el DON, que fueron ampliamente encontradas en alimentos derivados de cereales.

Nuestros estudios sobre evaluación de la exposición demuestran que no es esperable un riesgo para la salud derivado de las micotoxinas, lo que coincide con lo encontrado en otros países europeos. Sin embargo, hay que prestar una especial atención en el caso de los bebés, los niños y diferentes grupos étnicos, al ser los grupos de población más expuestos.

Agradecimientos

Los autores desean manifestar su agradecimiento al proyecto "Evaluación de la exposición de la población española a las toxinas de *Fusarium* (AGL2008-05030-C02-01)", financiado por el Gobierno de España, así como a la financiación obtenida a través de la Agència Catalana de Seguretat Alimentària de la Generalitat de Catalunya, y de la Universitat de Lleida. Igualmente desean agradecer la ayuda ofrecida por Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), mediante el proyecto "Iberoamérica. Cooperación científica orientada a la búsqueda de estrategias de prevención y control de las micotoxicosis para mejorar las condiciones sanitarias en la producción pecuaria" (Acción 109AC0371).

Literatura citada

- Bhat RV, Vasanthi S. Mycotoxin contamination of foods and feeds. Overview, occurrence and impact on food availability, trade, exposure of farm animals and related economic losses. En: Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins. 1999 march 3-6; Tunis, Tunisia.
- Council for Agricultural Science and Technology (CAST). Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human system. En: Task Force Report. Ames, IA, 2003; 139: 48-58.
- Codex Committee on Food Additives and Contaminants (CCFAC). Proposed draft code of practice for the prevention of mycotoxin contamination in cereals including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and trichothecenes. En: Thirty-fourth CCFAC Session, 2002 march 11-15; Rotterdam, the Netherlands.
- Dailey RE, Brouwer E, Blaschka AM, Reynaldo EF, Green S, Monlux MS, *et al.* Intermediate-duration toxicity study of patulin in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1977; 2: 713-725.
- Eriksen, GS, Pettersson H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 2004; 114: 205-239.
- Escola L, Thomsen M, Bourdiol D, Pipy B, Peuriere S, Roubinet F. Patulin immunotoxicology: effect of phagocyte activation and the cellular and humoral immune system of mice and rabbits. *International Journal of Immunopharmacology* 1988; 10: 983-989.
- European Commission. Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006. Official Journal of the European Union 2006a; L70: 12-34.
- European Commission. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006. Official Journal of the European Union 2006b; L364: 5-24.

- European Food Safety Authority (EFSA). Guidance of the scientific committee on a request from EFSA related to uncertainties in dietary exposure assessment. *European Food Safety Authority Journal* 2006; 438: 1-54.
- European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. *European Food Safety Authority Journal* 2011a; 9(6): 2,197.
- European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *European Food Safety Authority Journal* 2011b; 9(12): 2481.
- Food Nutrition and Agriculture (FAO). Food for the Future. *Food, Nutrition and Agriculture Review* 01, 1991 [consultado 2011 diciembre 5]. Disponible en: <http://www.nzdl.org/gsd/mod?e=d-00000-00-off-0fml2.2-00-0-0-10-0-0-0direct-10-4-0-11-11-en-50-20-help-00-0-1-00-4-4-0-0-11-11-0utfZz-8-00-10&a=d&c=fml2.2&cl=CL3.20&d=HASH65d30ccc5f13d7ecef7168>
- Gauchi J-P, Leblanc J-C. Quantitative assessment of exposure to the mycotoxin ochratoxin A in food. *Risk Analysis* 2002; 22: 219-34.
- Gelderblom WCA, Jaskiewicz K, Marasas WFO, Thiel PG, Hora RM, Vleggar R, *et al.* Fumonisin-Novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology* 1988; 54: 1806-1811.
- Gelderblom WCA, Kriek NPJ, Marasas WFO, Thiel PG. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1 in rats. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1247-1251.
- Global Environment Monitoring System/Food- World Health Organization (GEMs/Food-WHO). Reliable evaluation of low-level contamination of food-workshop in the frame of GEMs/Food-EURO. 1995 may 26-27; Kulmbach, Germany. [consultado 2009 mayo 01]. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/lowlevel_may1995/en/index.html
- Gromadzka K, Waśkiewicz A, Goliński P, Świetlik J. Occurrence of estrogenic mycotoxin - zearalenone in aqueous environmental samples with various content. *Water Research* 2009; 43: 1051-1059.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon: International Agency for Research on Cancer Scientific Publication 1993; 56: 19-23.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2002; 82: 171.
- JECFA. Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Prepared by the Fifty-sixth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO. Food Additives Series No. 47, 2001.
- Jelinek CF, Pohland AE, Wood GE. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1989; 72: 223-230.

- Kroes R, Müller D, Lambe J, Löwik MRH, Van Klaveren J, Kleiner J, *et al.* Assessment of intake from the diet. *Food and Chemical Toxicology* 2002; 40: 327-85.
- Krska R, Pettersson H, Josephs RD, Lemmens M, Mac Donald S, Welzig E. Zearalenone in maize: stability testing and matrix characterisation of a certified reference material. *Food Additives and Contaminants* 2003; 20: 1141-1152.
- Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Filippi L, Laporta M, Piva G. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47: 984-991
- Rotter BA, Prelusky DB, Pestka JJ. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1996; 48: 1-34.
- Scientific Committee for Food (SCF). European Commission DG XXIV Unit B3. Opinion on ochratoxin A. 1998; September.
- Scientific Committee for Food (SCF). Opinion on Fusarium toxins-Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol (adopted on 26 February 2002). [consultado 2010 febrero 15]. Disponible en: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf
- Scott PM. The natural occurrence of trichothecenes. En: Beasley VR, Trichothecene Mycotoxicosis: Pathophysiological Effects. Boca Raton: CRC Press, 1989: 1-26.
- Serra-Majem L, Ribas L, Salvador G, Castells C, Serra J, Jover L. Avaluació de l'estat nutricional de la població catalana 2002-2003. Evolució dels hàbits alimentaris i del consum d'aliments i nutrients a Catalunya (1992-2003). Barcelona: Direcció General de Salut Pública, Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya. 2003.
- Sudakin DL. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters* 2003; 143: 97-107.
- Sugiyanto J, Inouye M, Oda S-I, Takagishi Y, Yamamura H. Teratogenicity of patulin, a mycotoxin, in mice. *Environmental Medicine* 1993; 37: 43-46.
- Sydenham EW, Shephard GS, Thiel PG, Marasas WFO, Stockenström S. Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1991; 39: 2014-2018.
- Verger P, Fabiansson S. Recent progress in exposure assessment and its interaction with the risk analysis process. *Trends in Food Science & Technology* 2008; 19: 92-98.
- Visconti A, Minervini F, Lucivero G, Gambatesa V. Cytotoxic and immunotoxic effects of *Fusarium* mycotoxins using a rapid colorimetric bioassay. *Mycopathologia* 1991; 113: 181-186.
- Visconti A. Problems associated with *Fusarium* mycotoxins in cereals. *Bulletin of the Institute for Comprehensive Agricultural Sciences Kinki University* 2001; 9: 39-55.
- Wang J-S, Tang L. Epidemiology of aflatoxin exposure and human liver cancer. *Journal of Toxicology. Toxin reviews* 2004; 23: 249-271.

Wood GE. Mycotoxins in foods and feeds in the United States. *Journal of Animal Science* 1992; 70: 3941-3949.

World Health Organization (WHO). 44th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO. Technical Report Series 1995; 859: 36.

World Health Organization (WHO). Aflatoxins. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Geneva: WHO. Report of the 49th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additive Series 1998; No. 40: 359-468.

World Health Organization (WHO). Fumonisin. Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. Geneva: WHO. WHO Food Additives Series 2001; No. 47: 103-279.

World Health Organization (WHO). Dietary exposure assessment of chemicals in food. Report of a joint FAO/WHO consultation. 2005 may 2-6; Annapolis, Maryland, USA.

Yoshizawa T, Yamashita A, Luo Y. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Applied and Environmental Microbiology* 1994; 60: 1626-1629.