Artículo de Revisión

MICOTOXINAS DETECTADAS EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS EN PORTUGAL: REVISIÓN

SCREENING OF MYCOTOXINS IN FOOD AND FEED IN PORTUGAL: A REVIEW

Abrunhosa L[1], Morales H[1], Soares C[1], Calado T[1],.
Vila-Chã AS[1], Pereira M[1,2], Venâncio A[1].*

[1]IBB, Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal.
[2]College of Technology, Polytechnic Institute of Cávado and Ave, Campus do IPCA, Lugar do Aldão, 4750-810, Barcelos, Portugal.

Recibido: 22 de febrero de 2012.
Aceptado: 20 de abril de 2012.

Resumen

Las micotoxinas son metabolitos tóxicos producidos por hongos filamentosos que aparecen de forma natural en productos agroalimentarios en todo el mundo. Las aflatoxinas, ocratoxina A, patulina, fumonisinas, zearalenona, tricotecenos y alcaloides del ergot son actualmente las más relevantes. Estas micotoxinas pueden ser producidas por especies que pertenecen a los géneros *Aspergillus* spp*, Penicillium* spp*, Fusarium* spp y *Claviceps* spp*;* y pueden ser carcinogénicas, mutagénicas, teratogénicas, citotóxicas, neurotóxicas, nefrotóxicas, estrogénicas e inmunosupresoras. La evaluación de la exposición de los seres humanos y animales a las micotoxinas se realiza sobre todo teniendo en cuenta los datos sobre su aparición en los productos alimenticios y sobre los hábitos de consumo. Esta evaluación es fundamental y sirve de soporte para la aplicación de medidas dirigidas a reducir la exposición de los consumidores a las micotoxinas. Este artículo intenta hacer una revisión sobre la aparición de micotoxinas y de los niveles de éstas encontrados en productos alimenticios portugueses para así contribuir a una visión global sobre esta problemática en Portugal.

Palabras clave: Alimentos; micotoxinas; piensos; Portugal.

Abstract

Mycotoxins are toxic metabolites produced by filamentous fungi that appear naturally in agri-food products around the world. Aflatoxins, ochratoxin A, patulin, fumonisins, zearalenone, trichothecenes and ergot alkaloids are currently the most relevant. These mycotoxins may be produced by species belonging to the *Aspergillus* spp*, Penicillium* spp*, Fusarium* spp*,* and *Claviceps* spp*,* genera; and they can be carcinogenic, mutagenic, teratogenic, cytotoxic, neurotoxic, nephrotoxic, estrogenic and immunosuppressant. The assesment of animal and human's exposure to these mycotoxins takes into account the data on their appearance in food and feedstuffs and consumer's eating habits. This evaluation is fundamental and serves as support for the implementation of measures to reduce consumer's exposure to the already above mentioned mycotoxins. The aim of this article is to make

Autor Corresponsal:
A. Venancio, IBB, Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal. Tel. +351-253604413; Fax: +351-253604429, Correo Electrónico: avenan@deb.uminho.pt.

a review about the occurrence of mycotoxins and their levels in Portuguese food and feed products in order to contribute to a global vision on this issue in Portugal.

Key words: Food; feed; mycotoxins; Portugal.

Introducción

En 1960, tras lo que parecía una intoxicación acompañada por un cuadro de hemorragias internas y necrosis hepática, más de 100,000 aves murieron en Inglaterra. Las investigaciones posteriores (Goldblatt, 1969) revelaron que la causa fue la ingesta de alimentos elaborados con cacahuete fuertemente contaminado por un moho del género *Aspergillus* (*A. flavus*) y de la consecuente acumulación en el alimento de cierto tipo de aflatoxinas (AFs), micotoxinas producida por este moho. Los mohos son hongos filamentosos que crecen en forma de hifas constituyendo colonias o micelios. Los mohos no forman un grupo taxonómico o filogenético, sino que se engloban en dos *filae*: Zigomicetos y Ascomicetos. Existen autores que describen otra *fila*: los Deuteromicetos, destinada a englobar aquéllos hongos de los cuales no se conoce fase sexual (hongos imperfectos). En este artículo nos ocuparemos especialmente de los hongos Ascomicetos, pues comprenden las especies de mohos micotoxigénicas más importantes.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por algunos hongos filamentosos que, incluso en pequeñas cantidades, son tóxicos para animales. Se presentan de forma ubicua en productos agroalimentarios pudiendo ser, por tanto, ingeridas involuntariamente cuando se consumen productos de origen vegetal contaminados. Debido a sus propiedades tóxicas, las micotoxinas representan un riesgo muy elevado para la salud pública, por lo que se recomienda que se reduzca los niveles de éstas en alimentos (Bennett y Klich, 2003).

Además de un riesgo para la salud pública, la contaminación por micotoxinas causa grandes pérdidas económicas en todos los niveles de producción de alimentos y piensos, ya sea en términos de rendimiento de cultivos o en producción animal. Los piensos contaminados por micotoxinas pueden generar rechazo en los animales de granja, lo que se traduce en una pobre conversión alimenticia y por lo tanto una disminución en la ganancia de peso, además de ser causa de inmunosupresión y un deterioro de las capacidades reproductivas. De gran importancia es el hecho de que las micotoxinas que se encuentran en los piensos pueden llegar hasta el producto final, ya sea carne, leche, huevos, etc. Aunque la prevención de la contaminación por micotoxinas en el campo es el objetivo último de la agricultura y las industrias alimentarias, la contaminación de alimentos básicos y piensos con mohos y la consiguiente aparición de micotoxinas es actualmente inevitable bajo ciertas condiciones ambientales (Griessler *et al.*, 2010).

Las micotoxinas pueden ser carcinogénicas, mutagénicas, teratogénicas, citotóxicas, neurotóxicas, nefrotóxicas, inmunosupresoras y estrogénicas. Sin embargo, su toxicidad depende en gran medida de las cantidades ingeridas, del tiempo de exposición y de las posibles sinergias que pueden derivarse de la ingestión de micotoxinas diferentes al mismo tiempo. Se sabe también que diferentes especies tienen distintas sensibilidades a las micotoxinas y que, por lo general, la edad de las personas, el sexo y su estado fisiológico son cruciales en su nivel de toxicidad. Según Bullerman (2000) cuando se ingiere micotoxinas en grandes cantidades estas pueden causar en los animales toxicidad aguda con resultado de muerte de los individuos (micotoxicosis); cuando los animales son expuestos a niveles ligeramente por debajo de los letales causan disminución de peso y de la producción de leche y huevos; cuando se exponen a pequeñas concentraciones provocan supresión de la función inmune y disminución de la resistencia a la infección; y cuando se exponen los animales a bajas aunque prolongadas concentraciones de micotoxinas, favorecen la formación de tumores y el desarrollo de enfermedades crónicas en los órganos vitales.

El problema de las micotoxinas es una preocupación mundial, causando importantes pérdidas humanas y económicas. Aproximadamente el 5-10 % de la producción total mundial de alimentos parece estar irremediablemente perdida por estas causas. Por ejemplo, en los EE.UU., se estima que la presencia de micotoxinas en cultivos tales como maíz, trigo y cacahuete, pueden causar pérdidas directas de alrededor de 932 millones de dólares anuales e indirectas (costo de la regulación y su aplicación, análisis y aplicación de otras medidas de control) de más de 466 millones (CAST, 2003). En países subdesarrollados, extremadamente dependientes de cultivos locales (como en el caso del maíz en África) las micotoxinas provocan, además de perjuicios económicos, una elevada morbilidad y muerte prematura entre la población humana (FAO/IAEA, 2001). Actualmente, entre los países desarrollados los efectos tóxicos más relevantes tienen que ver con la carcinogenicidad de algunas micotoxinas y con su capacidad para debilitar el sistema inmune de los individuos, reduciendo así su resistencia a enfermedades infecciosas (FAO/IAEA, 2001).

Actualmente se conocen cerca de 300 micotoxinas, aunque sólo algunas de ellas se pueden encontrar en los alimentos más o menos frecuentemente y en cantidades suficientes para ser consideradas un verdadero riesgo para la seguridad alimentaria. Las más relevantes son las AFs, la ocratoxina A (OTA), la patulina (PAT), las fumonisinas (FBs), la zearalenona (ZEA), los tricotecenos y los alcaloides del ergot. Estas son producidas por especies que pertenecen a los géneros *Aspergillus* spp*, Penicillium* spp*, Fusarium* spp y *Claviceps* spp.

Las AFs son un grupo de micotoxinas producidas por varias especies del género *Aspergillus* que presentan pequeñas diferencias en sus estructuras químicas. La más abundante y más tóxica es la aflatoxina B_1 (AFB_1), que es el compuesto natural carcinogénico más potente que se conoce. Se encuentran sobre todo en cacahuetes y maíz. La OTA se aisló por primera vez del hongo *Aspergillus ochraceus* (van der Merwe *et al*., 1965a) y se encuentra principalmente en piensos y en trigo, frutos secos, uvas y vino (Jørgensen, 2005). La PAT es una micotoxina producida principalmente por *P. expansum*. Los productos derivados de la manzana son el alimento con mayor incidencia de PAT. Las FBs se dividen en grupos estructurales distintos, la fumonisina B_1 (FB_1) es la más abundante, constituyendo cerca de 70 % del total de las FBs del género *Fusarium* y se encuentra principalmente en el maíz. La ZEA es una micotoxina sintetizada por cepas toxicogénicas de *Fusarium*, incluyendo *F. graminearum* y contamina cultivos de cereales en todo el mundo (Bennett y Klich, 2003). Los tricotecenos constituyen una familia de más de 180 metabolitos producidos principalmente por *Fusarium*. El DON es uno de los tricotecenos más frecuentemente encontrado en cebada, maíz, centeno, semillas de girasol y trigo. El ergot, o cornezuelo del centeno, es la etapa parasitaria de un ascomiceto del género *Claviceps*, que ataca a gramíneas susceptibles, como el centeno. En la Tabla 1 se muestran más especies micotoxigénicas junto con los alimentos susceptibles de ser contaminados y las micotoxinas que producen.

A modo de introducción y para mostrar la incidencia de micotoxinas en alimentos en Portugal, se resume los resultados reportados en un ensayo realizado por Griessler *et al*., (2010) en algunos países del sur de la Unión Europea, entre ellos Portugal. El estudio fue realizado durante los años 2005 a 2009 y se analizaron muestras de alimentos básicos y piensos provenientes de Portugal, España, Italia, Grecia y Chipre para evaluar la existencia de micotoxinas en materias primas y piensos. En este estudió se comprobó que un alto porcentaje de las muestras analizadas estaban contaminadas con algún tipo de micotoxina. Concretamente el 66 % de las muestras contenían tricotecenos del tipo B, el 8 % tricotecenos del tipo A, el 28 % ZEA, el 66 % estaban contaminadas por FBs, el 25 % por AFs y el 22 % por OTA. En el caso del maíz, todas las micotoxinas que se analizaron fueron detectadas en alguna u otra muestra. Por

Tabla 1
Principales especies micotoxigénicas, alimentos afectados y micotoxinas que producen (Varga *et al*., 2003; Frisvad *et al*., 2007).

Especie	Alimento	Micotoxina
Aspergillus carbonarius	Uvas, uvas pasas	OTA
A. clavatus	Cereales de grano pequeño, maíz, pan, frutos secos	PAT
A. flavus	Cacahuete, frutos secos en general, maíz, cereales en general, café, oleaginosas	AFs, Esterigmatocistina
A. ochraceus	Café, frutos secos en general	OTA, dextruxin, ácido penicílico
A. parasiticus	Cacahuetes	AFs
Penicillium brevicompactum	Frutos secos, cereales	Roquefortin
P. carneum	Embutidos, queso, productos cárnicos	PAT, roquefortin, penitrem, ácido penicílico
P. expansum	Manzana, pera, frutas en general	PAT
P. griseofulvum	Cereales	Ácido ciclopiazónico, griseofulvin, PAT, roquefortin
P. roqueforti	Embutidos, queso, productos cárnicos, pastelería	Roquefortin, toxina PR
P. verrucosum	Cereales, pastelería	CIT, OTA, verrucin
Fusarium globosum	Maíz	FBs, BEA, FP
F. graminearum	Maíz, cereales de grano pequeño	DON, ZEA, NIV, FUS
F. proliferatum	Maíz	FBs, MON, BEA, FP
F. pseudograminearum	Cereales de grano pequeño	DON, ZEA
F. subglutinans	Maíz	MON, BEA, FP
F. verticillioides	Maíz	FBs, FUS, MON
Claviceps purpurea	Centeno	Alcaloides del ergot
Alternaria alternata	Frutas, verduras	Alternariol

AFs, aflatoxinas; BEA, beauvericina; CIT, citrinina; DAS, diacetoxyscirpenol; DON, deoxinivalenol y sus derivados; FBs, fumonisina; FP, fusoproliferin P; FUS, fusarin C; MON, moniliformina; NIV, nivalenol; OTA, ocratoxina A; PAT, patulina; ZEA, zearalenona

ejemplo, el 68 % de las muestras de maíz contenían FBs. Los análisis de piensos revelaron que el 73 % de las muestras estaban contaminadas por tricotecenos del tipo B, el 37 % por ZEA y el 40 % por FBs. Además, el 22 % de las muestras contenían más de una micotoxina. El 36 % de las muestras de trigo analizadas dieron resultados positivos en lo que respecta a contaminación por tricotecenos del tipo B. En el caso de la cebada, sólo una muestra de las 22 analizadas resultó contaminada, también por tricotecenos del tipo B.

Con respecto a la incidencia por países, en el estudio anteriormente citado, los autores expusieron que el 65 % de las muestras provenientes de España tenía contaminación con alguna de las micotoxinas analizadas. Los tricotecenos y la ZEA fueron las micotoxinas más veces detectadas. En el caso de Italia, las AFs contaminaban el 48 % de las muestras. Sin embargo, al igual que en el caso de Grecia, la contaminación por micotoxinas producidas por especies del género *Fusarium* fue de mayor incidencia (en torno

73-75 % de las muestras estaban contaminadas por FBs). En el caso de Portugal, se realizaron análisis de 89 muestras, la mayoría (60 %) eran piensos. El 53 % dieron positivas para alguna micotoxina. En el 69 % de los casos la micotoxina detectada fue tricotecenos del tipo B. El porcentaje de muestras con contaminación por ZEA, OTA y FBs fue del 38 %, 50 % y 64 % respectivamente. Los autores advierten, sin embargo, que en el caso de Portugal estos datos podrían no ser representativos debido al método de análisis utilizado.

Sin embargo, en lo que respecta a la incidencia en un país concreto de micotoxinas y sobre todo en lo relativo a materias primas, se debe tener en cuenta la coyuntura del mercado mundial de alimentos básicos, especialmente cereales. Una parte importante del cereal consumido en la Unión Europea proviene de la importación desde terceros países, lo cual puede dar lugar a interpretaciones un tanto erróneas respecto a la acumulación y incidencia de micotoxinas en una determinada región. Cabe suponer, entonces, que la micotoxina de mayor incidencia detectada en cada uno de los países tiene relación con el tipo de micotoxina que más se da en la región exportadora de donde se han obtenido las materias primas.

Para proteger la salud de los consumidores, muchos países han implementado reglamentos que imponen límites a la presencia de las principales micotoxinas en diversos productos agroalimentarios. Estos límites varían dependiendo del país debido a diferencias en la percepción de los límites considerados seguros para la salud, de su nivel de desarrollo o incluso debido a los intereses económicos locales relacionados con la cultura del país (van Egmond y Jonker, 2008). Aún así, estos límites garantizan de una forma más o menos eficiente que los aquéllos productos muy contaminados no puedan ser comercializados y, sobretodo, introducidos en la cadena alimentaria humana. En el caso particular de Portugal, siendo miembro de la Unión Europea, los límites máximos de micotoxinas permitidos en los alimentos respetan los estipulados por la legislación comunitaria en vigor. En lo que respecta a la alimentación humana, la última versión consolidada con fecha de 20/05/2011 de la directiva 1881/2006 fija los contenidos máximos para varios contaminantes en alimentos, entre los que se encuentran las micotoxinas (Unión Europea, 2011). En cuanto a la alimentación animal, la única micotoxina bajo reglamento es la AFB_1, y los valores máximos permitidos se pueden consultar en la directiva 2002/32/EC (Comisión Europea, 2006b). En relación a otras micotoxinas en alimentos para consumo animal, existe una recomendación 2006/576/EC que presenta una compilación de los límites recomendados para DON, ZEA, OTA, T-2 y HT-2 y FBs.

Aflatoxinas

Las AFs son derivados de difuranocumarinas producidas por diversas especies del género *Aspergillus* que presentan pequeñas diferencias en su estructura química. Fueron aisladas y caracterizadas por primera vez del hongo *Aspergillus flavus* en el episodio anteriormente comentado en el que hubo una importante mortandad de pavos de granja en Inglaterra. Las AFs más relevantes son de la serie B y G. Esto es, las AFB_1, aflatoxinas B_2 (AFB_2) y las aflatoxinas G_1 y G_2 (AFG_1 y AFG_2). La aflatoxina M_1 (AFM_1) que aparece en la leche de vaca cuando el animal metaboliza y biotransforma la AFB_1 también es de las más relevantes.

La AFB_1 (Figura 1) es la más abundante y también la más tóxica, es el compuesto natural carcinogénico más potente que se conoce y está clasificada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC por sus siglas en Inglés) en el grupo 1 por existir evidencias comprobadas en humanos.

El órgano más afectado por las AFs es el hígado. Existen varios estudios que relacionan el cáncer de hígado con la presencia de AFs en los alimentos. Además, hay que tener en cuenta otros efectos tóxicos como sus propiedades inmunosupresoras o su capacidad para interferir en factores nutricionales (Williams *et al*., 2004).

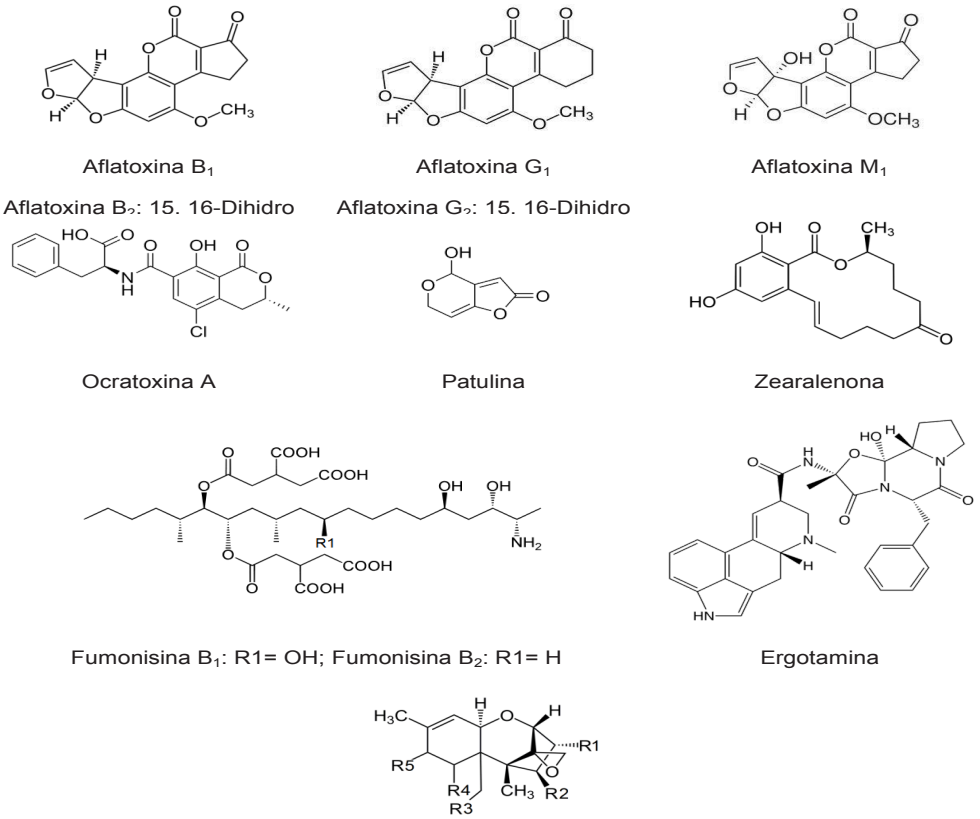


Figura 1. Estructura química de las principales micotoxinas.

Las AFs se encuentran sobre todo en cacahuetes y en maíz así como en una gran diversidad de alimentos producidos a partir de estos. Además, también pueden aparecer en soja, sorgo, pistachos, frutos secos, cerveza, especias y leche (AFM_1). También es muy frecuente la presencia de AFs en piensos para la alimentación de animales de granja.

Ocratoxina A

La ocratoxina A (OTA) fue aislada y caracterizada por primera vez del hongo *A. ochraceus* (van der Merwe *et al.*, 1965a) al verificar que el maíz infectado con este hongo causaba la muerte de animales de laboratorio (van der Merwe *et al.*, 1965b). Esta micotoxina es una dihidroisocumarina constituida por una molécula de 7-carboxi-5-cloro-8-hidroxi-3.4-dihidro-3-R-metilisocumarina (ocratoxina α) y por una molécula de L-β-fenilalanina que están unidas entre sí por una unión amida (Figura 1). La OTA es conocida principalmente por sus propiedades nefrotóxicas y se cree que puede ser la causa etiológica de algunas nefropatías, concretamente del síndrome de nefrotoxicidad en cerdos de Escandinavia, de la nefropatía endémica en humanos de los Balcanes (BEN por

sus siglas en Inglés) y de los tumores uroteliales asociados ésta, y de la nefropatía intersticial crónica (CIN por sus siglas en inglés) del norte de África (Krogh, 1992; Pfohl-Leszkowicz *et al*., 2002; Abid *et al*., 2003). Además es mutagénica, teratogénica, neurotóxica, hepatotóxico e inmunotóxico (Pfohl-Leszkowicz y Manderville, 2007). La OTA también se considera un compuesto posiblemente carcinogénico para los seres humanos y está clasificada por el IARC en el grupo 2B por existir evidencias comprobadas en animales de laboratorio aunque no en seres humanos (IARC, 1993). Esta micotoxina se encuentra frecuentemente en piensos para alimentación animal y en alimentos para humanos como trigo, centeno, café, frutos secos, uvas pasas, vino o en productos derivados de la carne de cerdo (Jørgensen, 2005). Dada su presencia generalizada en diversos productos, se ha comprobado que los animales y los humanos están expuestos a la ingestión de dicha micotoxina, habiendo sido detectada en sangre (Thuvander *et al*., 2001) y leche materna (Skaug *et al*., 1998). En Portugal también ha sido detectada en sangre (Lino *et al*., 2008) y en orina (Pena *et al*., 2006) de individuos. Como existe un riesgo significativo de exposición, su presencia en determinados productos alimentarios está regulada por la Unión Europea en la directiva 1881/2006 (Unión Europea, 2011).

Patulina

La patulina (PAT) es una lactona del grupo de los policétidos (Figura 1). Fue descubierta en 1940 cuando se realizaban estudios relacionados con los antibióticos e incluso se llegó a estudiar su uso como medicamento debido a sus propiedades antifúngicas y antibacterianas, sin embargo, el descubrimiento de sus efectos tóxicos causó el abandono de esta posibilidad. La producen algunas especies pertenecientes a los géneros *Aspergillus, Penicillium* y *Byssochlamys*. Los hongos productores de patulina están sobre todo asociados a frutos frescos como manzanas, peras, albaricoques, melocotones y uvas, aunque también lo están a vegetales frescos. La principal fuente dietética de la PAT son las manzanas y los productos alimentarios derivados de éstas, tales como zumos y purés. En este caso, el principal agente de deterioro y fuente de PAT es *P. expansum*. La ingestión de PAT puede provocar, entre otros síntomas, convulsiones, agitación, hemorragias intestinales, edemas y vómitos. Además, los riesgos crónicos para la salud asociados a esta micotoxina incluyen efectos neurotóxicos, inmunotóxicos, inmunosupresores, genotóxicos, tetogénicos y carcinogénicos (Moake *et al*., 2005). En la actualidad, la PAT está clasificada por el IARC en el grupo 3, es decir, no clasificable por su carcinogenicidad para los seres humanos.

Fumonisinas

Las FBs son compuestos que tienen una estructura linear de 20 átomos de carbono con grupos metilo y hidroxilo, un grupo amina y dos moléculas de ácido tricarboxílico esterificadas en C14 y C15. Las FBs están divididas en grupos estructurales distintos designados por las series A, B, C y P. Las más importantes desde el punto de vista de seguridad alimentaria son la FB_1 y la FB_2 (Figura 1) pues aparecen con frecuencia en productos agrícolas de todo el mundo, principalmente el maíz. Los principales hongos productores de estas FBs son *Fusarium verticillioides, Fusarium proliferatum* y otras especies del género *Fusarium*, aunque recientemente se ha descubierto que la FB_2 también puede ser producida por el hongo *Aspergillus niger* (Frisvad *et al*., 2007). Su toxicidad tiene que ver esencialmente con la interrupción del metabolismo de los esfingolípidos y con las consecuentes alteraciones que provoca en el crecimiento, diferenciación, morfología, permeabilidad y apoptosis celular (Voss *et al*., 2007). Además, se ha demostrado que la FB_1 promueve el cáncer de esófago y de hígado en humanos (Michael, 1996). Por existir evidencias comprobadas en animales de laboratorio pero no en seres humanos, la FB_1 y la FB_2 están clasificadas en el grupo 2B por el IARC. Existe también una comprobada relación entre la exposición a las FBs y la leucoencefalomalacia en caballos, además de edemas en cerdo.

Zearalenona

La zearalenona (ZEA) es una 6-[10-hidróxi-6-oxo-trans-1-undecenil]-β-ácido resorcíclico lactona (Figura 1) producida esencialmente por hongos pertenecientes al género *Fusarium* y que aparece con relativa abundancia en varios tipos de cereales, especialmente el maíz. La ZEA presenta una baja toxicidad de tipo agudo pero interfiere fuertemente con los receptores de estrógenos y, como consecuencia, afecta el aparato reproductor de los individuos. Entre otros efectos provoca disminución de la fertilidad, pubertad precoz, alteración del peso de las glándulas tiroidea, adrenal y pituitaria, cambios en los niveles de progesterona y estradiol en suero, fibrosis de útero, cáncer de mama, carcinoma de endometrio e hiperplasia de útero (Zinedine *et al*., 2007). Se sospecha que pueda provocar también lesiones hepáticas que pueden degenerar en cáncer de hígado. De acuerdo con los estudios toxicológicos disponibles, la ZEA está clasificada en el grupo 3 por la IARC.

Tricotecenos

Los tricotecenos son un grupo de metabolitos secundarios producidos por una gran diversidad de hongos filamentosos. Sin embargo, desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, las especies productoras más relevantes pertenecen al género *Fusarium*. Este compuesto se divide en tricotecenos del tipo A, B, C y D en función de pequeñas diferencias que presentan en su estructura química. Los más relevantes son los del tipo A y B. Los del tipo A incluyen la toxina T-2, la toxina HT-2 y el diacetoxiscirpenol (DAS). Los del tipo B agrupan el deoxinivalenol (DON), 3-acetil-deoxinivalenol y 15-acetil-deoxinivalenol, nivalenol (NIV) y fusarenona X (FusX) (Figura 1) (Foroud y Eudes, 2009). Los tricotecenos se encuentran sobretodo en diversos tipos de cereales como trigo, centeno, avena y maíz. Su toxicidad, causada sobre todo por el grupo epoxi de sus estructuras químicas, provoca la llamada aleucía tóxica alimentaria (ATA), un cuadro clínico que incluye irritación del tracto intestinal, vómitos, diarreas y en los casos más graves aleucemia, anemia y hasta la muerte de los individuos (Rotter, 1996). Han ocurrido varios episodios de ATA a lo largo de la historia. Estos compuestos son extremadamente tóxicos para las células eucariotas pues provocan, a nivel celular, inhibición de la síntesis de DNA, RNA y de proteínas, desestabilizan el funcionamiento mitocondrial, la integridad de la membrana celular y afectan a la división celular (Foroud y Eudes, 2009). Además tiene efecto inmunosupresores e inmunoestimulantes, lo que se traduce en una disminución de la resistencia a infecciones y neoplasias o en el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

Alcaloides del ergot

Los alcaloides del ergot son metabolitos secundarios producidos por hongos que pertenecen al género *Claviceps* y que infectan plantas de cereal y otras gramíneas que se usan para pasto. La avena, trigo, cebada y sorgo pueden verse infectados por estos hongos aunque el centeno es el cultivo más sensible. Estos hongos producen una mezcla de alcaloides tóxicos entre los que se encuentra la ergotamina (Figura 1). Estos alcaloides se acumulan en una estructura macroscópica llamada esclerocio y que crece en las semillas contaminadas. Actualmente estos esclerocios pueden ser retirados de los cereales gracias a las modernas técnicas de limpieza del cereal, lo que elimina en gran parte la incidencia de los alcaloides del ergot en los alimentos para consumo humano. Sin embargo, su presencia en alimentos destinados al consumo animal sigue siendo un tema de preocupación (Bennett y Klich, 2003). Desde el punto de vista toxicológico, cuando estas micotoxinas son ingeridas producen dolores abdominales, vómitos, sensación de quemazón en la piel, insomnio y alucinaciones. Además de esto último puede producir convulsiones violentas, ya que ejercen un potente efecto en el sistema nervioso central y, debido a su poder vasoconstrictor, pueden provocar gangrena de las extremidades (Krska y Crews, 2008). A lo largo de la historia se han registrado varios

episodios de envenenamiento mortal causado por los alcaloides del ergot a los que se les ha llamado ergotismo o "fuego de San Antonio", actualmente poco frecuente.

Presencia de micotoxinas en alimentos disponibles en el mercado portugués

Portugal está situado en el extremo sudoeste de Europa. Su clima es parecido al clima mediterráneo, aunque según la clasificación de Köpen-Geiger se pueda definir como clima templado del tipo Csb en el Norte y del tipo Csa en el Sur. Es decir, en el Norte el invierno es lluvioso y el verano seco y moderadamente cálido mientras que en el Sur el invierno es poco lluvioso y el verano seco y cálido. Su clima está, además, influido por el relieve geológico que crea, especialmente en el Norte, varios microclimas por todo el territorio. Estas características climáticas influyen en la distribución geográfica de los cultivos agrícolas producidos localmente pero también en el tipo de micoflora que se encuentra asociada a éstos y, por lo tanto en la distribución de la presencia de micotoxinas. Además de todo esto, la globalización del comercio de alimentos también ha influido de forma importante en los tipos y niveles de micotoxinas que se pueden encontrar en Portugal. Actualmente, gran parte de los alimentos consumidos se importan (Tabla 2). Como media, se importan aproximadamente el 52 % de los alimentos que se consumen en Portugal, llegando a tener una dependencia del 70 % en algunos alimentos (por ejemplo, los cereales). Así pues, los niveles de micotoxinas en el mercado portugués expresan, en algunas situaciones, mucho más los niveles detectados en alimentos importados que los de los alimentos producidos localmente. Se pretende, a partir de ahora, hacer una revisión y compilación de los niveles de micotoxinas encontrados hasta la fecha en productos alimentarios comercializados en el mercado portugués y así contribuir al establecimiento de una visión amplia sobre esta problemática en Portugal.

Tabla 2.
Productos importados (INE, 2011)

Productos	Porcentaje importado
Cereales	79.4 %
Leguminosas	85.7 %
Frutas frescas	25.2 %
Carne y derivados	27.8 %
Óleos vegetales	83.9 %
Frutos secos	55 %
Lácteos	4.3 %

Alimentos para el consumo humano

Con respecto a la alimentación humana y las micotoxinas, los alimentos para bebé y niños de corta edad se encuentran entre los más protegidos por los límites máximos de la reglamentación. En el caso concreto de la reglamentación europea, la directiva 1881/2006 establece para alimentos infantiles el límite máximo de 0.10 μg kg^{-1} para AFB_1, de 0.025 μg kg^{-1} para AFM_1, de 0.50 μg kg^{-1} para OTA, de 10.0 μg kg^{-1} para PAT, de 200 μg kg^{-1} para DON y FBs, y de 20 μg kg^{-1} para ZEA. En Portugal, las referencias sobre la presencia de micotoxinas en este tipo de alimentos no es muy abundante. Se encuentra en la bibliografía el trabajo de Alvito *et al*., (2010) en el que se evaluó la presencia de AFB_1, AFM_1 y OTA en muestras de papillas instantáneas a base de cereales y en muestras de leche en polvo para niños. Por otro lado, los trabajos de Barreira *et al*., (2010) y de Cunha *et al*., (2009) en los

Tabla 3
Micotoxinas detectadas en alimentos para bebés y niños.

Micotoxina/ Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (μg kg^{-1})	Media (μg kg^{-1})	>Límite UE [c]	Referencias
AFB_1/papillas	20/6 (30 %)	0.002 – 0.009	0.013	0	(Alvito *et al*., 2010)
AFM_1/ papillas	20/4 (20 %)	0.008 – 0.023	0.017	0	(Alvito *et al*., 2010)
AFM_1/leche	7/6 (86 %)	0.005 – 0.041	0014	1	(Alvito *et al*., 2010)
OTA/ papillas	20/13 (65 %)	0.01 – 0.212	0.065	0	(Alvito *et al*., 2010)
OTA/leche	7/3 (43 %)	0.011 – 0.136	0.094	0	(Alvito *et al*., 2010)
PAT/puré de manzana	2/1 (50 %)	9.1	9.1	0	(Cunha *et al*., 2009)
PAT/puré de manzana	76/5 (7 %)	0.82 – 5.7	n.d.	0	(Barreira *et al*., 2010)
Total	152/38 (25 %)			1 (0.7 %)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

que se evaluó la presencia de PAT en purés de manzana para niños. En la Tabla 3 se muestran en resumen los niveles e incidencias encontrados. De un total de 152 análisis, 38 presentaron contaminación con al menos, una de estas micotoxinas lo que representa una incidencia global del 25 %. Las micotoxinas con mayores incidencias junto con los alimentos en los que se encontraron fueron AFM_1 en la leche y OTA en papillas instantáneas con un 86 y un 65 % respectivamente. A pesar de esto, sólo una de las muestras presentó una concentración por encima del límite establecido por la Unión Europea. Se trataba de una muestra de leche en polvo en la que se detectó una concentración de AFM_1 de 0.041 μg kg^{-1}, muy por encima del límite establecido de 0.025 μg kg^{-1}. Es importante recalcar que las concentraciones detectadas son relativamente bajas, como se puede deducir de las medias presentadas en la Tabla 3. A pesar de eso, en 5 de las muestras de papillas instantáneas se detectaron dos o más toxinas simultáneamente, lo que puede constituir un factor adicional de preocupación debido a los efectos tóxicos sinérgicos que pudieran darse.

La AFs son de las micotoxinas más buscadas en los alimentos, por su gran toxicidad aunque también porque son las que más reglamentación tienen en el Mundo. En la Unión Europea, los límites legales establecidos varían de acuerdo con la naturaleza del producto alimentario: entre 2 a 12 μg kg^{-1} para a AFB_1 o entre 4 y 15 μg kg^{-1} para el total de varias AFs. En cuanto a la AFM_1, existe un límite de 0.5 μg kg^{-1} para la leche. La Tabla 4 resume los trabajos que se realizaron sobre la presencia de AFM_1 en productos lácteos en Portugal, de los que se dedujo que el 52 % de las muestras analizadas estaba contaminadas con esta micotoxina. En el 66 % de las muestras de leche se detectó AFM_1 en niveles que variaban entre 0.005 y 0.08 μg kg^{-1}, aunque sólo 80 muestras (9 %) presentaron valores por encima del límite legal. También fueron detectadas muestras de yogur y de queso con AFM_1, cuyo 6 % presentaron valores superiores al límite legal establecido para la leche. Hay que recalcar, en el caso de los yogures, que las muestras contaminadas eran prácticamente en su mayoría de yogures con pedazos de fruta. En el caso de los lácteos, los datos traducen en esencia el grado de contaminación de los productos locales, pues Portugal es prácticamente autosuficiente en este tipo de productos alimentarios, como se puede deducir de la Tabla 2.

Tabla 4
Aflatoxina M_1 encontrada en productos lácteos.

Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (µg kg^{-1})	Media (µg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
Leche	74/29 (39 %)	0.060 – 0.065	0.062	29	(Ouakinin y Martins, 1982)
Leche	101/85 (84 %)	0.005 – 0.061	n.d.	2	(Martins y Martins, 2000)
Leche	68/60 (88 %)	0.010 – 0.024	n.d.	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Leche	598/394 (66 %)	<0.005 – 0.08	n.d.	49	(Martins *et al*., 2005)
Leche en polvo	25/0 (0 %)	0	0	0	(Martins *et al*., 2005)
Yogur	96/18 (19 %)	0.019 – 0.098	0.048	6	(Martins y Martins, 2004)
Queso fresco	42/0 (0 %)	0	0	0	(Martins *et al*., 2005)
Queso	128/8 (6 %)	>0.050	n.d.	8	(Martins *et al*., 2007b)
Total	1,132/594 (52%)			94 (8 %)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

En cuanto al resto de AFs, se puede encontrar en la bibliografía una gran variedad de productos analizados, a pesar de que el número de análisis puede no ser muy elevado en algunos casos. En la Tabla 5 se presenta un resumen de los datos disponibles. Entre los productos más frecuentemente analizados están los cacahuetes, el maíz, higos secos y especias que son los productos conocidos por su alta susceptibilidad a la contaminación por AFs. La mayor incidencia se registra en los higos secos, con 82 % de las muestras positivas para AFs. Aunque el número de muestras por encima del límite le-

Tabla 5
Aflatoxinas detectadas en productos alimenticios.

Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (µg kg^{-1})	Media (µg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
Especias	79/34 (43 %)	1.25 – 58.0	8.8	9	(Martins *et al*., 2001a)
Especias	83/70 (84 %)	0.1 – 11.9	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Miel	80/0 (0 %)	0	0	0	(Martins *et al*., 2003a)
Almendras	56/8 (14 %)	0.3 – 147.0	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Cacahuetes	745/134 (18 %)	0.2 – 777.3	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Cacahuetes	12/6 (50 %)	0.199 – 1.506	0.781	0	(Alves, 2009)
Avellanas	22/3 (14 %)	<0.6 – 4.1	n.d.	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Anacardo	23/5 (22 %)	0.1 – 0.8	n.d.	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Higos secos	303/247 (82 %)	0.3 – 172.6	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Nueces	15/1 (7 %)	2.5	2.5	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Piñones	3/0 (0 %)	0	0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Pistachos	58/37 (64 %)	0.3 – 323.5	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Uvas pasas	17/0 (0 %)	0	0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Hígado de cerdo	37/0 (0 %)	0	0	0	(Martins y Magalhães, 2007)
Maíz	95/5 (5 %)	0.10 – 0.50	n.d.	0	(Soares y Venâncio, 2011)
Total	1,628/553 (34%)			9 (0.6 %)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

gal no está disponible, la concentración máxima registrada fue de 172.6 µg kg^{-1}, un valor bastante por encima de lo permitido en Europa para los frutos secos (4 µg kg^{-1}). Inmediatamente después de las especias, los pistachos presentan la segunda mayor incidencia (64 %). En el caso de las especias, los valores detectados varían entre 0.1 y 58.0 µg kg^{-1}, con 9 muestras con valores por encima de lo permitido por la Unión Europea (5 µg kg^{-1}). En los pistachos, las concentraciones detectadas son todavía más altas, habiéndose registrado un máximo de 323.5 µg kg^{-1}, un valor que sobrepasa en 32 veces el límite legal establecido para este producto. Contrariamente, la incidencia de AFs en los cacahuetes no sobrepasa el 18 %, a pesar de ser uno de los productos más susceptibles a micotoxinas. Aún así, la concentración máxima detectada (777.3 µg kg^{-1}) es bastante elevada y rebasa en cerca de 200 veces el límite legal establecido de 4 µg kg^{-1}. En productos como la miel, los piñones, uvas pasas e hígado de cerdo no se detectó la presencia de AFs.

La OTA, a su vez, se encuentra sobretodo en cereales y sus derivados, a pesar de ser también frecuente en el café, especias, uvas pasas y vino tinto. Los límites legales impuestos por la Unión Europea también varían de acuerdo con el tipo de alimento (Unión Europea, 2011). A título de ejemplo, los cereales no transformados tienen un límite de 5 µg kg^{-1} y los alimentos procesados hechos a base de éstos de 3 µg kg^{-1}. Por cuanto a productos como uvas pasas y café soluble, éstos tienen un límite de 10 µg kg^{-1} y las especias no debe contener más de 15 µg kg^{-1}. En la Tabla 6 se presente resumida la incidencia de OTA en productos del mercado portugués.

Tabla 6
Ocratoxina A encontrada en productos alimenticios.

Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (µg kg^{-1})	Media (µg kg^{-1})	>Limite UE[c]	Referencias
Trigo	34/2 (6 %)	<0.5	0.19	0	(Miraglia y Brera, 2002)
Arroz	42/6 (14 %)	0.09 – 3.52	n.d.	0	(Pena *et al*., 2005)
Cereales	38/6 (16 %)	0.27 – 7.97	0.64	2	(Juan *et al*., 2008a)
Cereales para desayuno	15/9 (60 %)	<0.3 – 0.7	n.d.	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Harina de trigo	8/2 (25 %)	<0.5	0.25	0	(Miraglia y Brera, 2002)
Pan de maíz	15/9 (60 %)	n.d. – 2.65	0.43	0	(Juan *et al*., 2007)
Pan	61/25 (41 %)	0.033 – 5.86	0.23	1	(Juan *et al*., 2008b)
Pan	50/28 (56 %)	0.02 – 0.490	0.14	0	(Bento *et al*., 2009)
Pan	274/215 (78 %)	0.10 – 3.848	0.232	1	(Duarte *et al*., 2010)
Café	38/6 (16 %)	0.3 – 2.7	1.54	0	(Miraglia y Brera, 2002)
Café	60/20 (33 %)	0.2 – 7.3	2.38	4	(Martins *et al*., 2003c)
Café	323/268 (83 %)	<0.3 – 30.1	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Especias	9/6 (67 %)	0.2 – 8.5	4.0	0	(Miraglia y Brera, 2002)
Especias	25/22 (88 %)	<0.3 – 52.8	n.d.	1	(Peito y Venâncio, 2004)
Cilantro	10/0 (0 %)	0	0	0	(Lino *et al*., 2006a)
Carne	38/5 (13 %)	0.01 – 0.12	0.07	n.d.	(Guillamont *et al*., 2005)
Cacahuetes	12/1 (8 %)	1.072	1.072	n.d.	(Alves, 2009)
Materias primas para cerveza	10/10 (100 %)	0.121 – 0.204	n.d.	0	(Vicente *et al*., 2001)
Cerveza	2/2 (100 %)	0.006 – 0.0069	0.0065	n.d.	(Nakajima *et al*., 1999)
Cerveza	17/2 (12 %)	0.043 – 0.064	n.d.	0	(Vicente *et al*., 2001)
Cerveza	7/3 (43 %)	0.002 – 0.006	0.004	0	(Miraglia y Brera, 2002)
Cerveza	28/10 (36 %)	0.002 – 0.064	n.d.	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Cerveza	5/1 (20 %)	0.0044	0.0044	n.d.	(Mably *et al*., 2005)
Uvas pasas	9/8 (89 %)	<0.3 – 13.9	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Total	1,130/666 (59%)			9 (0.8%)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

En el caso de los cereales y sus derivados, el 56 % de las 537 muestras analizadas estaban contaminadas por OTA. Las concentraciones detectadas varían entre 0.02 y 7.97 μg kg^{-1} con apenas 4 de la muestras con valores superiores a los respectivos límites legales. En el café, se observa una incidencia mayor: 70 % de las 421 muestras analizadas presentaron contaminación por OTA. En este caso, las concentraciones varían en <0.3 y 30.1 μg kg^{-1}. En los trabajos de Martins *et al*., (2003c), apenas 4 muestras de café (6 %) presentaron valores superiores al límite legal establecido en la Unión Europea. En Portugal, las mayores incidencias de OTA se observaron en las especias, con un 80 % de las muestras positivas. En este caso, las concentraciones oscilaban entre 0.2 y 52.8 μg kg^{-1} y apenas una de las muestras presentó un valor por encima del límite legal. En el caso de la cerveza, la incidencia de OTA rondó el 31 %. Aun así, las concentraciones detectadas son relativamente bajas, pues están entre 0.002 y 0.064 μg kg^{-1}.

Hoy día se sabe que la OTA se encuentra con relativa frecuencia en vinos, principalmente en los vinos tintos. Esta problemática tiene una particular importancia para Portugal, ya que el vino es uno de los productos alimenticios con mayor peso económico de nuestro país. En la Tabla 7 se muestra un resumen de los niveles de OTA encontrados en vinos portugueses y uvas para vinificación. De un total de 612 vinos analizados, 124 (el 20 %) contenía OTA, aunque las concentraciones detectadas fueron relativamente bajas −entre 0.002 y 2.4 μg kg^{-1}. Sólo 2 vinos (0.3% de las muestras analizadas) presentaron niveles de OTA por encima del límite legal de 2 μg kg^{-1} impuesto por la Unión Europea.

Recientemente se reveló la problemática de la presencia de FB_2 en vinos debido a que Frisvad *et al*., (2007) informó que esta micotoxina podía ser también producida por *Aspergillus niger*, una especie encontrada con frecuencia en las uvas. Hasta el momento, la única referencia encontrada sobre los niveles del FB_2 en vinos portugueses fue publicada por Mogensen *et al*., (2010). Estos autores analizaron 7 vinos portugueses provenientes de diferentes regiones y se encontró FB_2 en tan sólo una de las muestras, a una concentración de 2.8 μg kg^{-1}. Actualmente no existe límite legal para esta micotoxina en vinos. Además, la dosis diaria tolerable (TDI por sus siglas en inglés) recomendada para la FB_2 (2 μg kg^{-1} de peso corporal/día) es 400 veces superior a la de la OTA (5 μg kg^{-1} de peso corporal/día). Se puede llegar a la conclusión de que su límite legal en el vino va a ser bastante superior al establecido para la

Tabla 7
Ocratoxina A detectada en vino y uvas para vinificación

Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (μg kg^{-1})	Media (μg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
Vino	6/6 (100 %)	<0.003 – 0.017	0.011	0	(Zimmerli y Dick, 1996)
Vino	2/2 (100 %)	0.30 – 0.34	0.32	0	(Majerus y Otteneder, 1996)
Vino	12/8 (67 %)	0.003 – 0.017	n.d.	n.d.	(Burdaspal y Legarda, 1999)
Vino	66/3 (5 %)	0.02 – 0.08	n.d.	0	(Festas *et al*., 2000)
Vino	61/0 (0 %)	<LOD	0.01	0	(Miraglia y Brera, 2002)
Vino	37/5 (14 %)	>0.05 – n.d.	n.d.	0	(Soleas *et al*., 2001)
Vino	340/69 (20 %)	0.084 – 2.1	n.d.	1	(Ratola *et al*., 2004)
Vino	5/5 (100 %)	0.03 – 0.25	n.d.	0	(Shundo *et al*., 2006)
Vino	9/8 (89 %)	0.010 – 0.139	0.060	0	(Burdaspal y Legarda, 2007)
Vino	12/4 (33 %)	0.028 – 0.057	0.037	0	(Rosa *et al*., 2004)
Vino	60/12 (20 %)	0 – 2.4	n.d.	1	(Pena *et al*., 2010)
Vino	2/2 (100 %)	0.002 – 0.014	0.008	0	(Mikulíková *et al*., 2012)
Uvas	11/3 (27 %)	0.035 – 0.061	0.051	n.d.	(Serra *et al*., 2004)
Uvas	4/3 (75 %)	0.01 – 0.116	0.073	n.d.	(Serra *et al*., 2006a)
Uvas	60/26 (43 %)	0.008 – 1.64	0.149	n.d.	(Serra *et al*., 2006b)
Total	687/156 (23 %)			2 (0.3%)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

OTA (2 μg kg^{-1}). Datos recientes demuestran que en Portugal tan sólo el 29 % de las cepas aisladas de uvas pertenecientes al agregado *A. niger* son productoras de FB_2 (Abrunhosa, 2011). Además, sólo el 6 % produce FB_2 en concentraciones por encima de 1 mg kg^{-1}. Estas incidencias y niveles de producción son comparables a la producción de OTA por parte de las cepas de *A. carbonarius* también aisladas de uvas portuguesas.

En cuanto a la PAT, como ya fue referido anteriormente, esta micotoxina está asociada principalmente a los frutos frescos, principalmente manzanas y productos procesados derivados de éstas como zumos y purés. El límite legal en la Unión Europea para zumos y sidras es 50 μg kg^{-1}, para el caso de compotas o purés es de 25 μg kg^{-1}. En la Tabla 8 se presenta un resumen de los niveles encontrados por algunos investigadores en este tipo de productos en Portugal. En las manzanas, el 68 % de las muestras estaban contaminadas con esta micotoxina con concentraciones entre 3.0 y 1,500.0 μg kg^{-1}. A pesar de esto, sólo 2 muestras sobrepasaban el límite de 25 μg kg^{-1} para los purés. Se debe remarcar que el 99 % de las manzanas analizadas en estos estudios tenían signos evidentes de podredumbre. De acuerdo con Cunha *et al*., (2009), existe una correlación entre podredumbre y niveles de patulina. Los autores verificaron que las manzanas con podredumbre en el 25, 50 y 75 % de su superficie presentaban concentraciones crecientes de PAT, que en el caso más extremo llegaron a 1,500.0 μg kg^{-1}. Por otro lado, en las muestras sin podredumbre aparente no fue detectada PAT.

Con respecto a los zumos, el 41 % de las 135 muestras analizadas presentaron concentraciones de PAT entre 2.1 y 42.0 μg kg^{-1} y en ninguno de los casos de detectó una concentración por encima del límite legal de la Unión Europea. Es importante detallar los niveles de PAT encontrados en el dulce de membrillo, un tipo de compota localmente muy apreciada. En estas compotas se detectó una incidencia del 40 % con concentraciones entre 9.7 y 28.7 μg kg^{-1}, con dos muestras sobrepasando el límite. Este es un producto sobre el que no existe reglamentación, ya que la legislación europea se refiere, casi exclusivamente, a los derivados de manzana aunque está comprobado que este producto suele ser una fuente de PAT.

Tabla 8
Patulina detectada en alimentos

Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (μg kg^{-1})	Media (μg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
Lotes de manzanas	3/1 (33 %)	740.0	740.0	1	(Nunes *et al*., 2001)
Manzanas	351/241 (69 %)	3.0 – 80.5	20.5	n.d.	(Martins, 2002)
Manzanas	4/3 (75 %)	3.2 – 1500.0	505.0	1	(Cunha *et al*., 2009)
Zumos de frutas	38/9 (24 %)	5.0 – 25.2	13.9	0	(Majerus y Kapp, 2002)
Zumo de manzana	29/18 (62 %)	2.1 – 12.6	5.6	0	(Cunha *et al*., 2009)
Zumo de manzana	68/28 (41 %)	3.9 – 42.0	n.d.	0	(Barreira *et al*., 2010)
Purés de frutas	5/0 (0 %)	0	0	0	(Majerus y Kapp, 2002)
Membrillos	4/3 (75 %)	4.9 – 118.3	56.9	2	(Cunha *et al*., 2009)
Dulce de membrillos	10/4 (40 %)	9.7 – 28.7	21.4	2	(Cunha *et al*., 2009)
Total	512/307 (60 %)			6 (1%)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

La incidencia de FBs se da esencialmente en el maíz y en productos alimentarios derivados de éste. De hecho, la legislación de la Unión Europea tan sólo contempla este tipo de productos. Los límites impuestos varían entre los 800 μg kg^{-1} para cereales de desayuno y los 4,000 μg kg^{-1} para maíz sin procesar. De acuerdo con los datos bibliográficos disponibles (Tabla 9), el 65 % de las muestras de maíz presentaban FBs en concentraciones entre 0.10 y 1,162.0 μg kg^{-1}, con una muestra por encima del límite propuesto por la Unión Europea. Ya en los productos elaborados a base de maíz, la incidencia de positivos es de 60 %, con concentraciones entre los 20 y los 2,026 μg kg^{-1}. En este caso, apenas 4 muestras sobrepasaron el límite legal actualmente en vigor. Martins *et al*., (2001b) investigó la presencia de FBs en té negro y en plantas para infusiones. Hubo incidencias particularmente elevadas en el 80 al 89 %, respectivamente. Las concentraciones variaron entre los 20 y los 700 μg kg^{-1}. Estos productos no se encuentran actualmente regulados por la legislación Europea, sin embargo existe una clara necesidad de dicha regulación ya que algunos estudios demostraron la presencia de micotoxinas en estos productos (Sewram *et al*., 2006; Santos *et al*., 2009).

La ZEA se presenta, además de en el maíz, en diversos tipos de cereales, estando reglamentada también por la Unión Europea. Los límites varían entre las 50 μg kg^{-1} para el pan, productos de panificación y cereales para el desayuno, y los 400 μg kg^{-1} para el aceite refinado de maíz. En Portugal, se han analizado varios tipos de productos, aunque en algunos casos el número de muestras no sea muy alto (Tabla 10). El trabajo más completo es el de Marques *et al*., (2008) que analizó muestras de maíz, harina de maíz, trigo y productos a base de trigo, cebada, semillas de girasol, soja y alfalfa. Se detectó ZEA en el 56 % de las muestras a concentraciones de entre 5.0 y 930.0 μg kg^{-1}, con 13 muestras sobrepasando el límite legal establecido. En cereales para el desayuno, las incidencias observadas son ligeramente superiores (66 %). En estos productos las concentraciones variaron entre 2.5 y 69.0 μg kg^{-1}. Cunha y Fernandes (2010) detectaron dos muestras por encima del límite legal de 50 μg·kg^{-1} existente en la Unión Europea.

Los tricotecenos, como se comentó más arriba, se dividen en tricotecenos de tipo A y B. Entre los más relevantes están la toxina T-2 y HT-2 (Tipo A) y el DON, ADON y NIV (tipo B). Actualmente sólo el DON se encuentra bajo regulación en la Unión Europea. Los

Tabla 9
Fumonisinas detectadas en productos alimenticios

Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (μg kg^{-1})	Media (μg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
Té negro	18/16 (89 %)	80.0 – 280.0	n.d.	n.d.	(Martins *et al*., 2001b)
Plantas para infusiones	69/55 (80 %)	20.0 – 700.0	n.d.	n.d.	(Martins *et al*., 2001b)
Maíz	11/8 (73 %)	113.0 – 1,162.0	638.0	1	(Lino *et al*., 2006b)
Maíz	95/61(64 %)	0.10 – 100.0	n.d.	0	(Soares y Venâncio, 2011)
Derivados del maíz	20/6 (30 %)	183.0 – 2,026.0	392.3	1	(Lino *et al*., 2006b)
Derivados del maíz	96/77 (80 %)	50.0 – 1,300.0	314.1	3	(Martins *et al*., 2008b)
Cereales de desayuno	20/0 (0 %)	0	0	0	(Silva *et al*., 2007)
Aperitivos de maíz	16/1 (6 %)	260.0	260.0	0	(Silva *et al*., 2007)
Pan de maíz	30/25 (83 %)	142.0 – 550.0	274.0	0	(Lino *et al*., 2007)
Total	375/249 (66 %)			5 (1 %)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

Tabla 10
Zearalenona encontrada en alimentos

Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (µg kg^{-1})	Media (µg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
Trigo y derivados	4/2 (50 %)	11.0 – 15.0	13.0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Cereales y maíz	307/171 (56%)	5.0 – 930.0	70.0	13	(Marques *et al*., 2008)
Cereales de desayuno	11/7 (64 %)	2.5 – 11.0	5.1	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Cereales de desayuno	18/12 (67 %)	28.0 – 69.0	42.7	2	(Cunha y Fernandes, 2010)
Harina de trigo	7/1 (14 %)	27.0	27.0	0	(Cunha y Fernandes, 2010)
Harina de maíz	5/0 (0 %)	0	0	0	(Cunha y Fernandes, 2010)
Harina de mandioca	1/1 (100 %)	14.0	14.0	0	(Cunha y Fernandes, 2010)
Total	353/194 (55%)			15 (4 %)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

límites existentes varían entre 500.0 µg kg^{-1} para el pan, otros productos de panificación y cereales para el desayuno, y 1,750.0 µg kg^{-1} para trigo, avena y maíz no transformados. En la Tabla 11 se presenta un resumen de los niveles encontrados en productos alimenticios en Portugal. En cereales y sus derivados, el 22 % de las 445 muestras analizadas estaban contaminadas con DON. De estas, apenas 6 presentaban una concentración por encima del

Tabla 11
Tricotecenos encontrados en alimentos

Micotoxina/ Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (µg kg^{-1})	Media (µg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
DON/					
Cereales y derivados	307/83 (27%)	96.0 – 1,790.0	170.0	1	(Marques *et al*., 2008)
Trigo y derivados	10/4 (40 %)	333.0 – 1,821.0	378.7	4	(Peito y Venâncio, 2004)
Derivados de maíz	105/0 (0 %)	0	0	0	(Martins *et al*., 2008b)
Harina de trigo	10/8 (80 %)	20.0 – 77.0	n.d.	1	(Moura *et al*., 1998)
Harina de trigo	7/3 (43 %)	205.0 – 434.0	322.0	0	(Cunha y Fernandes, 2010)
Harina de maíz	5/1 (20 %)	>8.0 – <25.0	n.d.	0	(Cunha y Fernandes, 2010)
Harina de mandioca	1/1 (100 %)	48.0	48.0	0	(Cunha y Fernandes, 2010)
Cereales de desayuno	10/10 (100%)	25.0 – 426.0	161.0	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Cereales de desayuno	88/64 (73 %)	103.0 – 6,040.0	754.0	16	(Martins y Martins, 2001a)
Cereales de desayuno	18/10 (56 %)	46.0 – 525.0	194.2	0	(Cunha y Fernandes, 2010)
Total	561/184 (33%)			22 (4%)	
Toxina T-2/					
Trigo	9/0 (0%)	0	0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Maíz	10/0 (0%)	0	0	0	(Peito y Venâncio, 2004)

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

respectivo límite legal de la Unión Europea. Las concentraciones halladas variaron entre 8.0 y 1,821.0 µg kg^{-1}. En los cereales para desayuno, el 72 % de las muestras presentaron concentraciones de DON entre 25.0 y 6,040.0 µg kg^{-1} con 16 muestras sobrepasando el límite de 500 µg kg^{-1} existente en la Unión Europea. No hay disponibilidad de datos sobre la presencia de ADON y NIV en este tipo de productos alimenticios en Portugal. Con respecto a los tricotecenos de tipo A, también existen pocos datos disponibles en Portugal. La única referencia se refiere a la toxina T-2 que no se encontró en ninguna de las muestras de trigo y maíz analizadas (Peito y Venâncio, 2004).

Alimentos para animales de granja

En la alimentación animal, la única micotoxina actualmente bajo regulación en la Unión Europea es la AFB_1 (Comisión Europea, 2006b). Los límites varían entre 5 µg kg^{-1} para piensos compuesto para ganado bovino y 20 µg kg^{-1} para materias primas y otros piensos preparados. Con respecto al resto de micotoxinas, existe la recomendación 2006/576/EC que presenta una compilación de los límites recomendados para DON, ZEA, OTA, toxina T-2 y HT-2 y FBs (Comisión Europea, 2006a). Las concentraciones más bajas son de 100 µg kg^{-1} para ZEA en piensos para lechones y para OTA en piensos para aves. Las concentraciones más altas recomendadas son para las FBs, cuya concentración aceptable puede llegar a los 60 mg kg^{-1} en maíz para la elaboración de pienso. En Portugal los datos sobre micotoxinas en este tipo de productos es más abundante (Tabla 12), con la única excepción de la toxina T-2 y HT-2. Con respecto a las AFs, un total de 3,535 muestras fueron analizadas entre 1999 y 2011. Una media de 22 % de las muestras presentaron AFs aunque tan sólo un 3 % de las muestras (98 muestras) por encima del límite legal establecido por la Unión Europea para los productos en cuestión. El valor más elevado fue de 7,470 µg kg^{-1}. Hay que destacar que las incidencias de concentraciones más elevadas se registraron en los análisis más antiguos, entre 1999 y 2001.

En cuanto a la OTA (Tabla 12), tan sólo el 10 % de las muestras analizadas contenían esta micotoxina, presentando sólo una muestra valores por encima de lo recomendado. Las concentraciones encontradas variaron entre 1.0 y 130.0 µg kg^{-1}. Las mayores incidencias se encontraron en materias primas y piensos para caballos.

Con respecto a las micotoxinas llamadas de *Fusarium,* se muestra en la Tabla 13 un resumen de la información disponible. Las FBs están entre las más analizadas. Se detectaron concentraciones de entre 10.0 y 32,200.0 µg kg^{-1} en una gran variedad de productos con maíz, que tenían los valores más elevados (una media de 6,721.3 µg kg^{-1}). Aun así, a incidencia de FBs es de aproximadamente el 12 %. Aunque los valores detectados fueron en algunos casos bastante elevados si se comparan con otras micotoxinas, ninguna de las micotoxinas analizadas superó el límite recomendado por la Unión Europea. Por otro lado, la ZEA se encuentra en un 25 % de las muestras. En este caso, las concentraciones encontradas son significativamente más bajas (entre 5.0 y 356.0 µg kg^{-1}). Sin embargo, los límites recomendados son a su vez más bajos (entre 100.0 y 2,000.0 µg kg^{-1}), de ahí que en este caso una de las muestras haya sobrepasado el límite. Los valores más altos fueron detectados en pienso para cerdos y en maíz utilizado como materia prima. La DON, de una forma global, presenta una incidencia del 14 %. Las concentraciones más altas se encuentran principalmente en el maíz (entre 110.0 y 3,793.0 µg kg^{-1}). A pesar de esto, tan sólo una muestra de pienso para cerdos sobrepasó el límite recomendado por la Unión Europea de 900.0 µg kg^{-1}. Como ya fue comentado anteriormente, la información sobre toxinas T-2 y HT-2 no es abundante. Tan sólo existe el trabajo de Griessler *et al*., (2010) y de Monbaliu *et al*., (2010) que informan sobre las muestras de materias primas originarias de Portugal. En el primer caso, 3 muestras de 9 analizadas presentaban una contaminación con valores entre 35.0 y 40.0 µg kg^{-1}. En el segundo caso, en ninguna de las muestras de maíz se detectaron estas micotoxinas.

Tabla 12
Aflatoxinas y OTA detectadas en piensos y materias primas

Micotoxina/ Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (μg kg^{-1})	Media (μg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
AFLs/					
Pienso	80/36 (45%)	1.0 – 16.0	n.d.	0	(Martins y Martins, 1999)
Pienso para cerdos	106/19 (18%)	1.0 – 7,470.0	n.d.	2	(Martins y Martins, 2001b)
Pienso para bovinos	189/92 (49%)	1.0 – 740.0	n.d.	29	(Martins y Martins, 2001b)
Pienso para aves	117/23 (20%)	1.0 – 68.0	n.d.	1	(Martins y Martins, 2001b)
Materias primas	104/34 (33%)	1.0 – 166.0	15.0	n.d.	(Novo *et al*., 2001)
Pienso para bovinos	57/26 (46%)	1.0 – 16.0	4.0	n.d.	(Novo *et al*., 2001)
Pienso para mascotas	60/0 (0%)	0	0	0	(Martins *et al*., 2003b)
Pienso para bovinos	399/34 (9%)	5.0 – 15.0	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Pienso para aves	85/16 (19%)	1.0 – 20.0	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Pienso para cerdos	74/7 (9%)	1.0 – 2.0	n.d.	n.d.	(Peito y Venâncio, 2004)
Pienso para bovinos	1,001/374 (37%)	1.0 – 74.0	18.1	62	(Martins *et al*., 2007a)
Pienso para ratones de laboratorio	31/0 (0%)	0	0	0	(Guerra *et al*., 2007)
Materias primas	513/63 (12%)	1.0 – 45.0	n.d.	n.d.	(Martins *et al*., 2008a)
Pienso	583/62 (11%)	1.0 – 21.0	n.d.	4	(Martins *et al*., 2008a)
Avena en grano	45/0 (0%)	0	0	0	(Almeida *et al*., 2008)
Materias primas	4/1 (25%)	2.0	2.0	0	(Griessler *et al*., 2010)
Pienso para pescado	87/0 (0%)	0	0	0	(Almeida *et al*., 2011b)
Total	3,535/787 (22%)			98 (3%)	
OTA/					
Pienso para mascotas	60/5 (8%)	2.0 – 3.6	2.8	0	(Martins *et al*., 2003b)
Pienso para caballos	50/30 (60%)	2.0 – 3.2	n.d.	0	(Guerra *et al*., 2005)
Avena en grano	45/9 (20%)	1.0 – 1.61	n.d.	0	(Almeida *et al*., 2008)
Pienso para ratones de laboratorio	31/0 (0%)	0	0	0	(Almeida *et al*., 2010)
Materias primas	4/2 (50%)	3.0 – 4.0	3.5	0	(Griessler *et al*., 2010)
Pienso para cerdos	478/31 (7%)	2.0 – 130.0	11.0	1	(Martins *et al*., 2011)
Pienso para aves	186/12 (7%)	2.0 – 10.9	5.7	0	(Martins *et al*., 2011)
Pienso para cerdos	277/21 (8%)	2.0 – 6.8	3.9	0	(Almeida *et al*., 2011a)
Total	1,131/110 (10%)			1 (0.1%)	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestras positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectadas; [c]nº de muestras con concentración por encima del respectivo límite legal vigente en la Unión Europea; n.d. no disponible.

Tabla 13
Micotoxinas de *Fusarium* encontradas en piensos para animales y materias primas

Micotoxina/ Producto	Nº muestras[a]	Concentración[b] (μg kg^{-1})	Media (μg kg^{-1})	>Límite UE[c]	Referencias
FBs/					
Pienso para aves	12/3 (25%)	24.0 – 253.0	103.7	0	(Martins y Martins, 2001b)
Pienso para mascotas	60/3 (5%)	12.0 – 24.0	17.3	0	(Martins *et al*., 2003b)
Maíz	12/8 (67%)	25.0 – 32,200.0	11,900.0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Avena	5/2 (40%)	132.0 – 421.0	277.0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Pienso para aves	22/20 (91%)	31.0 – 7,437.0	1,177.0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Pienso para caballos	7/6 (86%)	60.0 – 500.0	307.0	0	(Peito y Venâncio, 2004)
Pienso para aves	52/10 (19%)	50.0 – 109.0	73.6	0	(Martins *et al*., 2006)
Pienso	357/6 (2%)	12.0 – 34.0	n.d.	0	(Martins *et al*., 2008a)
Materias primas	208/19 (9%)	10.0 – 40.0	n.d.	0	(Martins *et al*., 2008a)
Avena en grano	45/0 (0%)	0	0	0	(Almeida *et al*., 2008)
Maíz	11/11 (100%)	225.0 – 4,607.0	1,542.6	0	(Monbaliu *et al*., 2010)
Materias primas	11/7 (64%)	99.0 – 3,093.0	631.0	0	(Griessler *et al*., 2010)
Pienso para cerdos	127/11 (9%)	50.0 – 390.0	163.7	0	(Almeida *et al*., 2011a)
Pienso para cerdos	358/51 (14%)	53.7 – 3,815.5	247.9	0	(Martins *et al*., 2012)
Pienso para caballos	31/2 (6%)	79.6 – 138.8	109.2	0	(Martins *et al*., 2012)
Total	1,318/159 (12%)			0	
ZEA/					
Pienso para aves	52/16 (31%)	5.1 – 61.3	25.3	0	(Martins *et al*., 2006)
Pienso para cerdos	30/4 (13%)	104.0 – 356.0	n.d.	1	(Martins *et al*., 2008a)
Pienso para caballos	50/0 (0%)	0	0	0	(Martins *et al*., 2008a)
Maíz	11/5 (45%)	73.0 – 281.0	127.2	0	(Monbaliu *et al*., 2010)
Materias primas	26/10 (38%)	11.0 – 57.0	33.5	0	(Griessler *et al*., 2010)
Pienso para cerdos	404/107 (26%)	5.0 – 73.0	19.2	0	(Almeida *et al*., 2011a)
Total	573/142 (25%)			1 (0.2%)	
DON/					
Pienso para mascotas	60/3 (5%)	100.0 – 130.0	116.0	0	(Martins *et al*., 2003b)
Pienso para aves	52/7 (13%)	100.0 – 226.5	118.1	0	(Martins *et al*., 2006)
Materias primas	224/24 (11%)	100.0 – 500.0	n.d.	0	(Martins *et al*., 2008a)
Pienso para cerdos	291/9 (3%)	100.0 – 1,649.0	n.d.	1	(Martins *et al*., 2008a)
Pienso para caballos	50/15 (30%)	100.0 – 320.0	n.d.	0	(Martins *et al*., 2008a)
Pienso para mascotas	20/3 (15%)	100.0 – 130.0	n.d.	0	(Martins *et al*., 2008a)
Avena en grano	45/2 (4%)	309.5 – 715.4	512.5	0	(Almeida *et al*., 2008)
Maíz[d]	11/10 (91%)	110.0 – 3,793.0	874.1	0	(Monbaliu *et al*., 2010)
Materias primas[e]	35/24 (69%)	59.0 – 1,010.0	399.5	0	(Griessler *et al*., 2010)
Pienso para cerdos	277/47 (17%)	100.0 – 864.0	223.2	0	(Almeida *et al*., 2011a)
Total	1,065/144 (14%)			1 (0.1%)	
T-2, HT-2/					
Materias primas	9/3 (33%)	35.0 – 40.0	14.0	n.d.	(Griessler *et al*., 2010)
Maíz	11/0 (0%)	0	0	0	(Monbaliu *et al*., 2010)
Total	20/3 (15%)			0	

[a]nº de muestras analizadas/nº de muestra positivas (% de muestras contaminadas); [b]concentración mínima – concentración máxima detectada; [c]nº de muestras con concentraciones por encima del respectivo límite recomendado por la Unión Europea; d sumatorio de DON, NIV, ADON; e sumatorio de DON y ADON; n.d. no disponible.

Conclusiones

En conclusión, esta recopilación de información disponible sobre la aparición e incidencia de micotoxinas en Portugal muestra que éstas se dan en una gran variedad de productos, como también ocurre en otros países europeos (Logrieco y Visconti, 2004) así como en otros países del mundo (Murphy *et al*., 2006). Permite además sacar algunas conclusiones generales sobre la incidencia de las principales micotoxinas así como sobre las concentraciones medias detectadas en diferentes productos. Por ejemplo, las mayores incidencias de muestras positivas se encuentran en alimentos destinados al consumo humano, principalmente en el caso de las fumonisinas (66 %), patulina (60 %), ocratoxina A (59 %), zearalenona (55%) y aflatoxina M_1 (52 %). En el caso de los alimentos para animales de granja, éstas no sobrepasan el 25 % (incidencia de ZEA). Con respecto a las concentraciones medias se observa una tendencia contraria. Éstas son, en general, tres veces superiores en los alimentos para animales. Las mayores diferencias se registran para OTA y FBs, con concentraciones de entre 7 a 4 veces superiores, respectivamente. En los alimentos para humanos, el 3 % de las muestras sobrepasaron el límite legal establecido por la Unión Europea y en el caso de los alimentos para animales, apenas un 1 % sobrepasa los límites recomendados. Es necesario recalcar que estos últimos límites son substancialmente superiores a los establecidos en los alimentos para humanos.

El control permanente de los productos alimenticios constituyen una herramienta importante para poder extraer información útil que pueda contribuir en el refuerzo de la seguridad de los productos alimenticios. Mediante un control continuo se puede determinar la exposición de los seres humanos y animales a las micotoxinas, cuando se contrastan con las informaciones existentes sobre hábitos de consumo. Además, son un soporte para determinar las medidas a aplicar para reducir la exposición de los consumidores a las micotoxinas.

Agradecimientos

Luís Abrunhosa, Héctor Morales, Célia Soaresy Thalita Calado, recibieron apoyo a través de las becas SFRH/BPD/43922/2008, SFRH/BPD/38011/2007, SFRH/BD/37264/2007 y SFRH/BD/79364/2011 de la Fundação paraa CiênciaeTecnologia-FCT, Portugal.

Literatura Citada

Abid S, Hassen W, Achour A, Skhiri H, Maaroufi K, Ellouz F, *et al.* Ochratoxin A and human chronic nephropathy in Tunisia: Is the situation endemic? Human and Experimental Toxicology 2003; 22: 77-84.

Abrunhosa L, Calado T, Venâncio A. Incidence of Fumonisin B2 Production by *Aspergillus niger* in Portuguese wine regions. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2011; 59: 7514-7518.

Almeida I, Martins H, Guerra M, Bernardo F. Fungi and mycotoxins in unprocessed oats grains for animal feed use. IV Veterinary Sciences Congress of SPCV. Santarém, Portugal 2008; 137.

Almeida I, Martins H, Santos S, Costa J, Bernardo F. Co-occurrence of mycotoxins in swine feed produced in Portugal. Mycotoxin Research 2011a; 27: 177-181.

Almeida I, Martins HM, Marques MF, Magalhães S, Bernardo F. Mycobiota and ochratoxin A in laboratory mice feed: preliminary study. Veterinary Research Communications 2010; 34: 381-386.

Almeida IF, Martins HM, Santos SM, Freitas MS, Nunes da Costa JMG, Bernardo F. Mycobiota and aflatoxin B_1 in feed for farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Toxins 2011b; 3: 163-171.

Alves S. Quality of peanuts consumed in Portugal: fungal flora and mycotoxin research. (Master's thesis). Lisbon: Faculty of Medicine, University of Lisbon, 2009.

Alvito PC, Sizoo EA, Almeida CMM, van Egmond HP. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in baby foods in Portugal. Food Analytical Methods 2010; 3: 22-30.

Barreira MJ, Alvito PC, Almeida CMM. Occurrence of patulin in apple-based-foods in Portugal. Food Chemistry 2010; 121: 653-658.

Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. Clinical Microbiology Reviews 2003; 16: 497-516.

Bento JMV, Pena A, Lino CM, Pereira JA. Determination of ochratoxin A content in wheat bread samples collected from the Algarve and Braganca regions, Portugal: Winter 2007. Microchemical Journal 2009; 91: 165-169.

Bullerman LB. Mycotoxins/Classification. En: Encyclopedia of food microbiology. (Eds) Robinson RK, Batt CA, Patel PD. Academic Press, London, UK 2000; 1512-1519.

Burdaspal P, Legarda T. Occurrence of ochratoxin A in sweet wines produced in Spain and other countries. Food additives & contaminants 2007; 24: 976-986.

Burdaspal P, Legarda TM. Ochratoxin A in wines and grape musts and juices produced in Spain and other European countries. Alimentaria 1999; 299: 107-113.

CAST. Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems. Council for Agriculture Science and Technology, CAST, Ames, Iowa, USA 2003; 10.

Comisión Europea. Commission recommendation nº 2006/576/EC on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. Official Journal of the European Union. 2006a; L229-7-L229/9. Disponible en: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:229:0007:0009:EN:PDF

Comisión Europea. Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed. 2006b. Disponible en: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002L0032:20110701:EN:PDF

Cunha SC, Faria MA, Fernandes JO. Determination of patulin in apple and quince products by GC-MS using 13C5-7 patulin as internal standard. Food Chemistry 2009; 115: 352-359.

Cunha SC, Fernandes JO. Development and validation of a method based on a QuEChERS procedure and heart-cutting GC-MS for determination of five mycotoxins in cereal products. Journal of Separation Science 2010; 33: 600-609.

Duarte SC, Bento J, Pena A, Lino CM, erue-Matos C, Oliveira MBPP, *et al*. Influencing factors on bread-derived exposure to ochratoxin A: Type, origin and composition. Food and Chemical Toxicology 2010; 48: 2139-2147.

FAO/IAEA. Manual on the application of the HACCP system in mycotoxin prevention and control. En: FAO Food and Nutrition Paper. Vol 73. Food and Nutrition Division, FAO, Rome, Italy 2001; 2.

Festas I, Herbert P, Santos L, Cabral M, Barros P, Alves A. Ochratoxin A in some portuguese wines: method validation and screening in port wine and vinho verde. American Journal of Enology and Viticulture 2000; 51: 150-154.

Foroud NA, Eudes F. Trichothecenes in Cereal Grains. International Journal of Molecular Sciences 2009; 10: 147-173.

Frisvad JC, Smedsgaard J, Samson RA, Larsen TO, Thrane U. Fumonisin B_2 Production by *Aspergillus niger.* Journal of Agricultural and Food Chemistry 2007; 55: 9727-9732.

Goldblatt LA. Aflatoxin: scientific background, control, and implications. Academic Press, New York, EE.UU 1969; 35.

Griessler K, Rodrigues I, Handl J, Hofstetter U. Occurrence of mycotoxins in Southern Europe. World Mycotoxin Journal 2010; 3: 301-309.

Guerra M, Martins HM, Ferreira S, Esquivel M, Bernardo F. Screening of aflatoxin B_1 in laboratory rat feed. Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science 2007; 34: 109-113.

Guerra MM, Martins HM, Gouveia MF, Bernardo F. Aspectos da segurança sanitária dos alimentos compostos para cavalos. Revista Portuguesa de Zootecnia 2005; 2: 63-75.

Guillamont EM, Lino CM, Baeta ML, Pena AS, Silveira MIN, Vinuesa JM. A comparative study of extraction apparatus in HPLC analysis of ochratoxin A in muscle. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2005; 383: 570-575.

IARC. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. En: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to Humans. Vol 56. WHO Press, Lyon, France 1993; 489-521.

INE. Agricultural Statistics of 2010. National Institute of Statistics, Portugal 2011; Disponible en: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=123297571&PUBLICACOEStema=00&PUBLICACOESmodo=2.

Jørgensen K. Occurrence of ochratoxin A in commodities and processed food: A review of EU occurrence data. Food additives & contaminants 2005; 22: 26-30.

Juan C, Lino CM, Pena A, Molto JC, Manes J, Silveira I. Determination of ochratoxin A in maize bread samples by LC with fluorescence detection. Talanta 2007; 73: 246-250.

Juan C, Molto JC, Lino CM, Manes J. Determination of ochratoxin A in organic and non-organic cereals and cereal products from Spain and Portugal. Food Chemistry 2008a; 107: 525-530.

Juan C, Pena A, Lino C, Molto JC, Manes J. Levels of ochratoxin A in wheat and maize bread from the central zone of Portugal. International Journal of Food Microbiology 2008b; 127: 284-289.

Krogh P. Role of ochratoxin in disease causation. Food and Chemical Toxicology 1992; 30: 213-224.

Krska R, Crews C. Significance, chemistry and determination of ergot alkaloids: A review. Food Additives & Contaminants: Part A 2008; 25: 722-731.

Lino CM, Baeta L, Pena AS, Silveira IN: Determination of ochratoxin A in coriander (*Coriandrum sativum* L.) by HPLC/fluorescence detection. Quimica Nova 2006a; 29: 436-439.

Lino CM, Baeta ML, Henri M, Dints AMP, Pena AS, Silveira MIN. Levels of ochratoxin A in serum from urban and rural Portuguese populations and estimation of exposure degree. Food and Chemical Toxicology 2008; 46: 879-885.

Lino CM, Silva LJG, Pena A, Fernandez M, Manes J. Occurrence of fumonisins B_1 and B_2 in broa, typical portuguese maize bread. International Journal of Food Microbiology 2007; 118: 79-82.

Lino CM, Silva LJG, Pena ALS, Silveira MI. Determination of fumonisins B_1 and B_2 in portuguese maize and maize-based samples by HPLC with fluorescence detection. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2006b; 384: 1214-1220.

Logrieco A, Visconti A. An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands 2004.

Mably M, Mankotia M, Cavlovic P, Tam J, Wong L, Pantazopoulos P, *et al*. Survey of aflatoxins in beer sold in Canada. Food Additives and Contaminants 2005; 22: 1252-1257.

Majerus P, Kapp K. Reports on tasks for scientific cooperation, task 3.2.8. Assessment of dietary intake of patulin by the population of EU Member States. SCOOP Report 2002, Brussels 2002. Disponible en: http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/index_en.print.html

Majerus P, Otteneder H. Detection and occurrence of ochratoxin A in wine and grapejuice. Deutsche Lebensmittel-Rundschau 1996; 92: 388-390.

Marques MF, Martins HM, Costa JM, Bernardo F. Co-occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in crops marketed in Portugal. Food Additives and Contaminants: Part B 2008; 1: 130-133.

Martins H, Guerra M, Bernardo F. A six year survey (1999-2004) of the ocurrence of aflatoxin M_1 in daily products produced in Portugal. Mycotoxin Research 2005; 21: 192-195.

Martins H, Guerra M, Bernardo F. Zearalenone, deoxynivalenol and fumonisins in mixed-feed for laying hens. Mycotoxin Research 2006; 22: 206-210.

Martins H, Marques M, Almeida I, Guerra M, Bernardo F. Mycotoxins in feedstuffs in Portugal: an overview. Mycotoxin Research 2008a; 24: 19-23.

Martins HM, Almeida I, Marques MF, Guerra MM. Fumonisins and deoxynivalenol in corn-based food products in Portugal. Food and Chemical Toxicology 2008b; 46: 2585-2587.

Martins HM, Almeida IF, Camacho C, Costa J, Bernardo F. A survey on the occurrence of ochratoxin A in feeds for swine and laying hens. Mycotoxin Research 2012; 28: 107-110.

Martins HM, Almeida IFM, Camacho CRL, Santos SMO, Costa JM, Bernardo FMA. Occurrence of fumonisins in feed for swine and horses. Revista Iberoamericana de Micología 2012; 29: 175-177.

Martins HM, Guerra MMM, Bernardo FMA. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow's feed over 10 years in Portugal (1995-2004). Revista Iberoamericana de Micología 2007a; 24: 69-71.

Martins HM, Magalhães SA. Determination of aflatoxins B1 and M1 in swine liver by high-performance liquid chromatography. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 2007; 102: 315-319.

Martins HM, Magalhães SA, Almeida I, Marques M, Guerra MM, Bernardo F. Aflatoxin M1 determination in cheese by immunoaffinity column clean-up coupled to high-performance liquid chromatography. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 2007b; 102: 321-325.

Martins HM, Martins ML, Bernardo F. Bacillaceae spores, fungi and aflatoxins determination in honey. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 2003a; 98: 85-88.

Martins ML, Martins HM. Natural and in vitro coproduction of cyclopiazonic acid and aflatoxins. Journal of Food Protection 1999; 62: 292-294.

Martins ML, Martins HM. Determination of deoxynivalenol in wheat-based breakfast cereals marketed in Portugal. Journal of Food Protection 2001a; 64: 1848-1850.

Martins ML, Martins HM. Moulds and aflatoxins contamination in swine bovines and poultry feeds in Portugal. En: Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in plants, food and feed in Europe. (Ed) Logrieco A. Office for official publications of the European Communities, Luxembourg 2001b; 131-146.

Martins ML, Martins HM, Bernardo F. Aflatoxins in spices marketed in Portugal. Food additives & contaminants 2001a; 18: 315-319.

Martins ML, Martins HM, Bernardo F. Fumonisins B1 and B2 in black tea and medicinal plants. Journal of Food Protection 2001b; 64: 1268-1270.

Martins ML, Martins HM, Bernardo F. Fungal flora and mycotoxins determination in commercial pet food. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias 2003b; 98: 179-183.

Martins ML, Martins HM, Gimeno A. Incidence of Microflora and of Ochratoxin A in Green Coffee Beans (*Coffea arabica*). Food additives & contaminants 2003c; 20: 1127-1131.

Martins MLG. Co-occurrence of patulin and citrinin in Portuguese apples with rotten spots. Food additives & contaminants 2002; 19: 568-574.

Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M1 in yoghurts in Portugal. International Journal of Food Microbiology 2004; 91: 315-317.

Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. Food additives & contaminants 2000; 17: 871-874.

Michael F. Fumonisins, mycotoxins of increasing importance: Their nature and their effects. Pharmacology & Therapeutics 1996; 70: 137-161.

Mikulíková R, Bìláková S, Benešová K, Svoboda Z. Study of ochratoxin A content in South Moravian and foreign wines by the UPLC method with fluorescence detection. Food Chemistry 2012; in press.

Miraglia E, Brera C. Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states. Scientific Cooperation Task 3.2.7 of the European Commission 2002. Disponible en: http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/index_en.print.html

Moake MM, Padilla-Zakour OI, Worobo RW. Comprehensive review of patulin control methods in foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 2005; 4: 8-21.

Mogensen JM, Larsen TO, Nielsen KF. Widespread occurrence of the mycotoxin fumonisin B2 in wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2010; 58: 4853-4857.

Monbaliu S, Van Poucke C, Detavernier C, Dumoulin F, Van De Velde M, Schoeters E, *et al*. Occurrence of mycotoxins in feed as analyzed by a multi-mycotoxin LC-MS/MS method. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2010; 58: 66-71.

Moura AM, Batoréu MC, Felgueiras MI. A research of deoxynivalenol in wheat flour traded in Portugal. European Journal of Pharmaceutical Sciences 1998; 6: S44.

Murphy PA, Hendrich S, Landgren C, Bryant CM. Food mycotoxins: An update. Journal of Food Science 2006; 71: R51-R65.

Nakajima M, Tsubouchi H, Miyabe M. A survey of ochratoxin A and aflatoxins in domestic and imported beers in Japan by immunoaffinity and liquid chromatography. Journal of AOAC International 1999; 82: 897-902.

Novo R, Fernandes A, Felgueiras I. Ocorrência de aflatoxina B1 em matérias primas e alimentos compostos para bovinos leiteiros. Qualidade, Segurança & Inovação. Porto, Portugal 2001; 223-225.

Nunes J, Peito MA, Novo R, Felgueiras I. Pesquisa de patulina em maçãs “Bravo Esmolfe” e “Golden Delicious”. Qualidade, Segurança & Inovação. Porto, Portugal 2001; 229-231.

Ouakinin J, Martins ML. Occurrence of aflatoxin M1 in milk. Repositorio de Trabalhos Instituto Nacional de Veterinaria XIV. 1982; 75-78.

Peito A, Venâncio A. An overview of mycotoxins and toxigenic fungi in Portugal. En: Overview on Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Europe. (Eds) Logrieco A, Visconti A. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands 2004; 173-184.

Pena A, Cerejo F, Lino C, Silveira I. Determination of ochratoxin A in Portuguese rice samples by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2005; 382: 1288-1293.

Pena A, Cerejo F, Silva LJG, Lino CM. Ochratoxin A survey in Portuguese wine by LC-FD with direct injection. Talanta 2010; 82: 1556-1561.

Pena A, Seifrtova M, Lino C, Silveira I, Solich P. Estimation of ochratoxin A in portuguese population: New data on the occurrence in human urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Food and Chemical Toxicology 2006; 44: 1449-1454

Pfohl-Leszkowicz A, Manderville RA. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Molecular Nutrition & Food Research 2007; 51: 61-99.

Pfohl-Leszkowicz A, Petkova-Bocharova T, Chernozemsky IN, Castegnaro M. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. Food additives & contaminants 2002; 19: 282-302.

Ratola N, Martins L, Alves A. Ochratoxin A in wines-assessing global uncertainty associated with the results. Analytica Chimica Acta 2004; 513: 319-324.

Rosa CAR, Magnoli CE, Fraga ME, Dalcero AM, Santana DMN. Occurrence of ochratoxin A in wine and grape juice marketed in Rio de Janeiro, Brazil. Food additives & contaminants 2004; 21: 358-364.

Rotter BA. Invited Review: Toxicology of deoxynivalenol (Vomitoxin). Journal of Toxicology and Environmental Health 1996; 48: 1-34.

Santos L, Marín S, Sanchis V, Ramos AJ. Screening of mycotoxin multicontamination in medicinal and aromatic herbs sampled in Spain. Journal of the Science of Food and Agriculture 2009; 89: 1802-1807.

Serra R, Mendonça C, Abrunhosa L, Pietri A, Venâncio A. Determination of ochratoxin A in wine grapes: comparison of extraction procedures and method validation. Analytica Chimica Acta 2004; 513: 41-47.

Serra R, Mendonca C, Venâncio A. Fungi and ochratoxin A detected in healthy grapes for wine production. Letters in Applied Microbiology 2006a; 42: 42-47.

Serra R, Mendonca C, Venancio A. Ochratoxin A occurrence and formation in portuguese wine grapes at various stages of maturation. International Journal of Food Microbiology 2006b; 111: S35-S39.

Sewram V, Shephard GS, van der Merwe L, Jacobs TV. Mycotoxin contamination of dietary and medicinal wild plants in the Eastern Cape province of South Africa. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2006; 54: 5688-5693.

Shundo L, de Almeida AP, Alaburda J, Ruvieri V, Navas SA, Lamardo LCA, *et al*. Ochratoxin A in wines and grape juices commercialized in the city of Sao Paulo, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology 2006; 37: 533-537.

Silva LJG, Lino CM, Pena A, Moltó JC. Occurrence of fumonisins B_1 and B_2 in portuguese maize and maize-based foods intended for human consumption. Food Additives and Contaminants 2007; 24: 381-390.

Skaug MA, Stormer FC, Saugstad OD. Ochratoxin A: a naturally occurring mycotoxin found in human milk samples from Norway. Acta Paediatrica 1998; 87: 1275-1278.

Soares C, Venâncio A. Mycotoxins in post-harvest maize in three portuguese regions. Mendoza, Argentina 2011; 160.

Soleas GJ, Yan J, Goldberg DM. Assay of Ochratoxin A in wine and beer by high-pressure liquid chromatography photodiode array and gas chromatography mass selective detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2001; 49: 2733-2740.

Thuvander A, Paulsen JE, Axberg K, Johansson N, Vidnes A, Enghardt-Barbieri H, *et al*. Levels of ochratoxin A in blood from Norwegian and Swedish blood donors and their possible correlation with food consumption. Food and Chemical Toxicology 2001; 39: 1145-1151.

Unión Europea. Commission Regulation nº 1881/2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union. 2011; L364-5-L364/24. Disponible en: eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20110520:EN:PDF.

van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L. Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. Journal of Chemical Society 1965a; 7083-7088.

van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L, Scott DB, Theron JJ. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. Nature 1965b; 205: 1112-1113.

van Egmond HP, Jonker MA. Regulations and limits for mycotoxins in fruits and vegetables. En: Mycotoxins in Fruits and Vegetables. (Eds) Barkai-Golan R, Paster N. Academic Press Publications, San Diego, USA 2008; 45-74.

Varga J, Rigó K, Toth B, Téren J, Kozakiewicz Z. Evolutionary relationships among *Aspergillus species* producing economically important mycotoxins. Food Technology and Biotechnology 2003; 41: 29-36.

Vicente D, Felgueiras I, Peito A, Catarino M. Determinação de ocratoxina A em cerveja. Qualidade, Segurança & Inovação. Porto, Portugal 2001; 276-278.

Voss KA, Smith GW, Haschek WM. Fumonisins: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. Animal Feed Science and Technology 2007; 137: 299-325.

Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. The American Journal of Clinical Nutrition 2004; 80: 1106-1122.

Zimmerli B, Dick R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. Food additives & contaminants 1996; 13: 655-668.

Zinedine A, Soriano JM, Moltó JC, Mañes J. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. Food and Chemical Toxicology 2007; 45: 1-18.