



“Huellas digitales” espectrales para detectar micotoxinas

Alejandro Rosales Lavielle. Science & Technology Manager, Innovació i Recerca Industrial i Sostenible, S.L.

Ante la complejidad de la determinación de micotoxinas en granos de cereal, tarea que implica técnicas analíticas sofisticadas, de elevado coste, el Proyecto Mycospec se centra en la mejora de la técnica de la espectroscopía infrarroja, para desarrollar un método alternativo a los tradicionales más preciso y eficaz



Spectral “Fingerprints” for Detecting Mycotoxins

Faced with the complexity of establishing mycotoxins in cereal grains, a task that involves sophisticated and costly analytic techniques, the Mycospec Project is focusing on improving the infrared spectroscopy technique to develop an alternative method that is more accurate and effective

Básicamente, las micotoxinas son sustancias tóxicas producidas por diversos hongos y pueden estar presentes en cualquier alimento susceptible de ser hábitat para dichas especies. Las aflatoxinas, por ejemplo, tienen potentes efectos carcinogénicos y mutagénicos y, a dosis muy elevadas, producen aflatoxicosis con consecuencias letales

en humanos, como se demostró en 2004 en Kenia, cuando 125 personas murieron víctimas de un brote. También los animales destinados a alimentación humana son muy sensibles a la toxicidad mortal de las micotoxinas, por lo que, desde el punto de vista económico, la contaminación de los piensos con estas sustancias produce importantísimas pérdidas a escala global. Se ha llegado a afir-

mar que casi el 20% de todos los cereales que se consumen en el mundo están contaminados con micotoxinas.

La peligrosidad de las micotoxinas ha sido reconocida por las autoridades sanitarias de la mayoría de los países y existen marcos regulatorios definidos en cuanto a los niveles permitidos y a los procedimientos para la detección de las más frecuentes y dañinas. En particular,

en Europa, los niveles máximos para las micotoxinas en los alimentos se establecen en el Reglamento (CE) 1881/2006, mientras que las disposiciones aplicables a los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de las micotoxinas se detallan en el Reglamento (CE) 401/2006.

La toxicidad varía mucho de una sustancia a otra, pero en todos los casos las concentraciones peligrosas son extraordinariamente bajas. Por ejemplo, la concentración máxima permitida de deoxinilavenol (DON) en trigo no elaborado es de 1750 µg/kg, mientras que este límite es tan bajo como 0.1 µg/kg para el caso de la aflatoxina B1 en cereales destinados a elaborar preparados alimenticios para bebés.

La determinación de micotoxinas en granos de cereal con concentraciones en el rango de µg/kg (ppb) es generalmente una tarea difícil e implica técnicas analíticas sofisticadas, caras y notablemente lentas [Pittet, 2005]. El enfoque recomendado consiste en obtener una muestra primaria, relativamente grande, que se acepta como representativa del contenido de todo el lote, procesarla hasta conseguir un tamaño de partícula que facilite la homogenización y la extracción y, finalmente, realizar el análisis sobre una pequeña porción.

El método analítico idóneo depende del tipo de micotoxina buscado y del grado de detalle con que se desea saber la concentración. El método formal más común es la cromatografía, en particular, HPLC y LC-MSMS, [Rai, 2012] aunque también existen kits ELISA que permiten determinaciones relativamente rápidas y económicas en ciertos casos. No obstante, por un lado, el muestreo por lotes no garantiza que se detecten altas concentraciones muy localizadas dentro de un silo -lo cual puede ser frecuente- y, por el otro, las técnicas tradicionales de análisis no son implementables *online* ni en tiempo real y requieren de personal especializado y una cuidadosa preparación y manipulación de las muestras. Por todo ello, interesa disponer de un método más eficaz, expeditivo y económico que los tradicionales.

La espectroscopía infrarroja es una técnica analítica muy polivalente cuyo uso ha experimentado un extraordinario crecimiento en las últimas décadas. A diferencia de las técnicas analíticas tradicionales -basadas casi siempre en métodos de "química húmeda" diseñados *ad hoc* para cada analito en particular-, la espectroscopía infrarroja -asistida por métodos quimiométricos- consiste en extraer información sobre la composición química de muestras complejas en base al procesamiento matemático de los espectros

La implementación conjunta de un espectrofotómetro construido a partir de novedosos QCL y de modelos quimiométricos basados en las huellas espectrales derivadas de la contaminación por micotoxinas es el objetivo del proyecto MycoSpec

de absorción de la radiación infrarroja por parte de dichas muestras. En consecuencia, es una técnica muy rápida -tiempo real-, no destructiva, pues requiere poca o ninguna preparación de las muestras -puede ser usada *online*-, no involucra consumibles -o sea, no necesita reactivos- y, por su propia naturaleza, es fácilmente automatizable.

Un hecho relevante es que el primer uso industrial de la espectroscopía infrarroja -desarrollado por Karl Norris hace más de 50 años- fue justo el análisis de cereales. Hoy en día la espectroscopía infrarroja es ampliamente utilizada tanto en laboratorios como en sondas *online* colocadas directamente en las líneas de producción, sobre todo en las industrias petroquímica, farmacéutica y alimentaria.

Limitaciones de la espectroscopía infrarroja

La espectroscopía infrarroja no está exenta de inconvenientes o limitaciones: Puesto que toda la información espectral se procesa globalmente, su uso está limitado a la cuantificación de componentes mayoritarios, o sea, con tenores superiores a 0.1% en peso. Asimismo, debido a que su selectividad está asociada a lo que podríamos llamar una "separación matemática" de cada analito de interés, los métodos matemáticos de procesamiento -o modelos quimiométricos- son específicos a "familias" de muestra particulares, o sea, es una técnica muy sensible al efecto matriz. Por último, dado que los modelos quimiométricos se basan en la correlación entre espectros y la concentración de los analitos, para la elaboración de dichos modelos es necesario disponer de una gran variedad de muestras reales -casi nunca pueden ser sintéticas- y conocer la concentración de los analitos de interés a partir de análisis tradicionales.

Por todas estas razones, la aplicación de la espectroscopía infrarroja en la determinación de micotoxinas ha estado muy limitada a unos pocos casos de éxito, como se entenderá de inmediato:

En primer lugar, los rangos de interés práctico están bien por debajo del límite de detección típico, que suele estar en las decenas de ppm; por ejemplo, los niveles permitidos

de aflatoxinas están unos 3 ó 4 órdenes de magnitud por debajo de dicho límite. La huella espectral directa de la micotoxina estará siempre oculta por la contribución de componentes mayoritarios -agua, proteínas, grasas- y por el ruido instrumental.

En segundo lugar, bajo el concepto colectivo de micotoxinas se agrupa una amplia variedad de sustancias muy diferentes, sin más características comunes que ser producidas por algún tipo de hongo y resultar nocivas para la salud humana o animal. O sea, habría que elaborar modelos quimiométricos para cada tipo de micotoxina y cada tipo de cereal a fin de reducir el indeseable "efecto matriz".

Proyecto Mycospec

En los últimos años se han introducido importantes mejoras tecnológicas en la espectroscopía infrarroja, derivadas del imparable desarrollo de la fotónica, disciplina tecnológica considerada por la Comisión Europea como una de las principales *key enabling technologies* (KET).

En particular, una de las mejoras más prometedoras es el uso de fuentes de luz intensísimas y espectralmente sintonizables, los QCL (*quantum cascade lasers*) para los rangos espectrales MWIR y LWIR, que permiten alcanzar relaciones señal/ruido muchas veces mayores que las de los mejores espectrofotómetros tradicionales basados en lámparas y en separadores espectrales dispersivos. Los QCL son sistemas más robustos y estables que los espectrofotómetros por transformada de Fourier (FTIR) que habitualmente se han venido empleando para este fin, lo cual facilitaría su integración en sondas *atline* y *online*. Aunque su precio actual es elevado, es muy probable que la rápida evolución de esta tecnología nos permita disponer en muy pocos años de dispositivos económicamente accesibles para el mercado del control de calidad en la industria alimentaria.

Por otro lado, la propia naturaleza de los métodos espectroscópicos asistidos mediante la quimiometría [IA5] permite que la presencia de micotoxinas en los alimentos se pueda inferir, no ya de la huella espectral de la sustancia buscada -o sea, el enfoque directo-, sino de las huellas espectrales asociadas a los

cambios y la historia de la propia matriz, como consecuencia de la actividad de los hongos precursores y de los efectos colaterales producidos por las micotoxinas.

La implementación conjunta de un espectrofotómetro construido a partir de novedosos QCL, por un lado, y de modelos quimiométricos basados en las huellas espectrales derivadas de la contaminación por micotoxinas, por el otro, es el objetivo del proyecto MycoSpec.

MycoSpec es el acrónimo del proyecto "Novel infrared spectroscopic tools for mycotoxins determination in foodstuffs for increased food safety", financiado por la Unión Europea -según el esquema "Research for SME" del VII Programa Marco- con el acuerdo N° 314018. El Consorcio beneficiario de la financiación está formado por ocho miembros de distintos Estados europeos y comprende tanto universidades como pymes. La ejecución del proyecto está a cargo de tres RDT: la Universidad de Ulm (Alemania), la Universidad de Recursos Naturales y Ciencias de la Vida (Austria) y la empresa Innovació i Recerca Industrial i Sostenible, S.L., IRIS (España), entidad coordinadora del Consorcio. IRIS es una empresa de ingeniería avanzada -con sedes en Castelldefels (Barcelona) y Dublín (Irlanda)- que brinda servicios y soluciones en los campos de la monitorización, automatización, activación de superficies, descontaminación microbiológica, formulación de bio-materiales y valorización de residuos. IRIS ha participado exitosamente en más de 40 proyectos europeos del VII Programa Marco, la mayoría relacionados con el uso de técnicas ópticas (fotónica) para la monitorización de procesos industriales.

MycoSpec es un proyecto a ser ejecutado en dos años que comenzó en noviembre de 2013, por lo que se encuentra justo en el ecuador de su ejecución. Los resultados parciales obtenidos hasta el momento son muy prometedores y en breve comenzarán a publicarse en revistas especializadas. Se invita a los lectores interesados a seguir la evolución del Proyecto a través de su sitio web: <http://mycospec.eu/>.

La solución que pretende generar el proyecto MycoSpec está relacionada muy de cerca con lo que se conoce como métodos microbiológicos rápidos (RMM, rapid microbiological methods), un campo del conocimiento relativamente reciente y de importancia estratégica para alcanzar los máximos estándares de salud basados en la prevención. La detección precoz e in situ de posibles riesgos microbiológicos y tóxicos es un paradigma cada vez más necesario en una sociedad orientada al desarrollo sostenible y MycoSpec abrirá nuevos caminos para conseguirlo. □

Referencias:

- "Mycotoxins Factsheet", JRC Technical Notes. 2011. Donata Lerda: https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/Factsheet%20Mycotoxins_2.pdf
- "Mycotoxin: rapid detection, differentiation and safety", Mahendra K. Rai et al, J Pharm Educ Res Vol. 3, Issue No. 1, June 2012
- "Modern methods and trends in mycotoxin analysis", A. Pittet, Mitt. Lebensm. Hyg. 96, 424-444 (2005)



INGREDIENTES A SU GUSTO

Brenntag Alimentación y Nutrición Iberia tiene un compromiso con sus clientes y proveedores: impulsar la creatividad e innovación que les permitan aprovechar al máximo las nuevas tendencias y desarrollos del mercado.

Gama de productos
 ■ **Diseño de Alimentos:** una amplia gama de colorantes, aromas y saborizantes, para producir alimentos atractivos.

■ **Tecnología Alimentaria:** almidones, espesantes, estabilizantes y emulsionantes para obtener la estructura deseada.

■ **Salud y Nutrición:** minerales, fibras, azúcares y edulcorantes, así como aditivos funcionales, le ayudarán a conseguir una alimentación sana.

■ **Seguridad Alimentaria:** antioxidantes y conservantes que garantizan la calidad a lo largo de toda la vida útil del producto.

Lo que Brenntag ofrece: Ampleo conocimiento en el desarrollo y la elaboración de productos, asistencia técnica por parte de nuestro equipo comercial, solvencia y calidad en las marcas de nuestros proveedores, así como innovadoras soluciones logísticas, son algunos de los numerosos servicios personalizados que Brenntag le ofrece para mejorar su competitividad.

El mejor ingrediente, su confianza en nosotros.

Brenntag Iberia
 C/ Tuset 8, 08006 Barcelona, España
 Tel: +34 93 218 44 04
 Fax: +34 93 218 15 90
 Email: alimentacion@brenntag.es
www.brenntag.es