

Natàlia Sotoca Fuguet

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

TREBALL DE FI DE GRAU



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Dirigit pel Dr. José Francisco Cano Lira

Departament CMB

Grau de Nutrició Humana i Dietètica

Curs 2015-2016

RESUM

Les micotoxines són metabòlits secundaris dels fongs que causen efectes tòxics i cancerígens en els éssers humans i animals que s'hi exposin. Les poblacions amb més risc d'intoxicació són les de les àrees subdesenvolupades. L'Ocratoxina-A (OTA) es produeix com a metabòlit secundari per espècies dels gèneres *Aspergillus* (sobretot *A. carbonarius*, *A. niger* i en menys quantitat *A. ochraceus*), i *Penicillium* (*P. verrucosum*). Pot contaminar una àmplia varietat d'aliments i begudes i també es pot bioacumular a la sang i llet dels animals exposats. Les matèries primeres afectades inclouen: grans de cereals i els seus productes acabats, fruits secs, espècies, carn, llet, vi, cervesa, fórmules per lactants, menjar per nadons, llegums, cafè, suc de raïm, panses i cacau. Tot i no haver-hi prou evidència en estudis amb humans, degut a l'evidència provada en estudis amb animals, l'OTA s'ha classificat com un possible carcinogen humà (grup 2B) per la agència internacional de recerca del càncer.

La presència d'OTA en el vi està relacionada amb el creixement de fongs en el raïm sobretot *A.carbonarius*. Els vins negres en general tenen nivells més alts que els vins blancs, a causa de l'augment del temps de contacte entre les pells de les baies i el most durant l'etapa de maceració. La contaminació per OTA és més gran en vins dolços i especials. La Comissió Europea (CE) n'ha establert un límit màxim de 2 ng/mL.

Els nivells d'OTA en el vi depenen de diferents factors com: la localització de la vinya (latitud), el clima (pluja, temperatura, humitat relativa), l'activitat de l'aigua, el període de collita, els tractaments amb pesticides, i la tècnica d'elaboració del vi. Al sud d'Europa i més concretament a la regió Mediterrània, predomina un clima humit i temperatures elevades. En aquesta zona es troben més vins contaminats amb OTA que no pas a altres regions, aquest fet és degut a que els fongs productors d'OTA actuen favorablement en aquestes condicions.

Hi ha diverses tècniques per prevenir o eliminar la contaminació d'OTA a les vinyes o al vi: estratègies de prevenció, descontaminació física, ús d'absorbents inorgànics, mètodes microbiològics, etc.

La present revisió vol actualitzar coneixements sobre la presència d'OTA en el vi, ja que és una beguda de consum freqüent a la dieta mediterrània i, avui en dia la seva contaminació amb OTA es podria considerar un perill per la salut humana. Per fer aquesta revisió s'han utilitzat bases de dades com *Pubmed* i *Science Direct* a més d'altres documents oficials.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ	
1.1 Micotoxines	4
1.2 Ocratoxina-A en els aliments	4
1.2.1 Toxicitat de l'OTA	6
1.2.2 Reglamentació actual	7
1.3 Ocratoxina-A en el vi	9
1.3.1 Contingut d'OTA als vins	9
1.3.2 Límits legals en el vi i raïm	10
1.3.3 Factors implicats en la presència d'OTA en el vi	10
1.3.4 Factors determinants en la cadena de producció del raïm	11
1.3.5 Mesures d'anàlisi i reducció d'OTA. Qualitat sanitària	12
2. OBJECTIUS I INTERÈS DEL TREBALL	
2.1 Justificació del treball	15
2.2 Objectius del treball	18
3. METODOLOGIA	
3.1 Criteris d'inclusió	19
3.2 Fonts d'informació	19
4. CONCLUSIONS	22
5. REFLEXIÓ PERSONAL	25
6. BIBLIOGRAFIA	26

1 INTRODUCCIÓ

1.1. MICOTOXINES

Segons Wu, et al. (2014) les micotoxines són metabòlits secundaris dels fongs que causen efectes tòxics i cancerígens en els éssers humans i animals que s'hi exposin. Les principals micotoxines transmises pels aliments d'interès en la salut pública són les aflatoxines, fumonisines, tricotecens i l'ocratoxina-A (OTA). Aquestes són produïdes principalment per fongs dels gèneres *Aspergillus*, *Fusarium* i *Penicillium*, els quals infecten cultius d'aliments. En la **taula 1** s'enumeren les principals micotoxines que afecten la salut humana a tot el món, els fongs que les produeixen, i els productes agrícoles dels que són comuns contaminants. Les poblacions amb més risc són àrees amb poca o cap aplicació de la reglamentació, ni estratègies de prevenció primària per reduir el risc de contaminació. A més, aquestes poblacions, són consumidores dels productes i aliments més comunament contaminats per micotoxines.

Taula 1: Principals micotoxines d'interès per la salut pública, fongs associats i cultius o aliments amb risc de ser contaminats

Micotoxines	Fong productor	Menjar i cultius associats
Ocratoxina A	<i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>A. carbonarius</i> <i>A. niger</i>	Blat de moro, blat, ordi, civada, carns i fruits secs, cafè, vi
Aflatoxines	<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Blat de moro, cacauets, nous, copra, espècies, llavors de cotó
Fumonisines	<i>Fusarium verticillioides</i> <i>F. proliferatum</i> <i>A. niger</i>	Blat de moro
Tricotecens	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i>	Blat de moro, blat, ordi, civada

(Wu, et al. 2014)

La majoria de micotoxines són termostables i poden romandre presents en els cultius, fins i tot després de tenir tots els signes de que el fong s'ha eliminat del sostrat (Petruzzi, et al. 2014).

1.2. OCRATOXINA-A EN ELS ALIMENTS

L'ocratoxina-A es va descobrir l'any 1965 com un metabòlit d'*Aspergillus ochraceus* durant estudis realitzats per trobar noves molècules de micotoxines (Bezerra, et al. 2014). La seva estructura química es pot veure en la **figura 1**. Segons l'Agència Internacional per a la Investigació sobre el Càncer (IARC), l'OTA és una nefrotoxina amb propietats immunosupressores, teratogèniques i cancerígenes (IARC, 1993). Es produeix com a metabòlit secundari pels mateixos fongs anomenats a

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

la taula 1 durant l'emmagatzematge dels aliments (Duarte, et al. 2012). Segons la Comissió Europea (CE) la producció d'OTA depèn tant de les condicions ambientals com de les de processament (condicions climàtiques, emmagatzematge anormalment prolongat, transport, molta humida o seca, procediments de torrat, fermentació, etc.) (CE, 2002). Els fongs productors d'OTA poden sintetitzar-la en un ampli rang de temperatures (0-37°C) i en múltiples cultius agrícoles (Wu, et al. 2014). Per aquest motiu l'OTA pot contaminar una àmplia varietat d'aliments i begudes i també es pot bioacumular a la sang i llet dels animals exposats. Les matèries primes afectades inclouen: grans de cereals i els seus productes acabats, fruits secs, espècies, carn, llet, vi, cervesa, fórmules per lactants i menjar per nadons. Altres fonts poden ser els llegums, cafè, suc de raïm, panses i cacau (*European Food Safety Authority: EFSA, 2006*).

Dos estudis citats per la revisió de Wu, et al. (2014) parlen de l'absorció d'OTA a l'organisme. Es veu que la seva solubilitat en l'aigua és limitada, per tant l'OTA que s'absorbeix al tracte gastrointestinal s'uneix fortament amb proteïnes plasmàtiques. Això dóna lloc a la seva reabsorció al ronyó i a la recirculació enterohepàtica. És per aquest motiu que la biotransformació o filtrat renal es retarda significativament, resultant en un allargament de la seva vida mitjana en l'organisme d'aproximadament 35 dies.

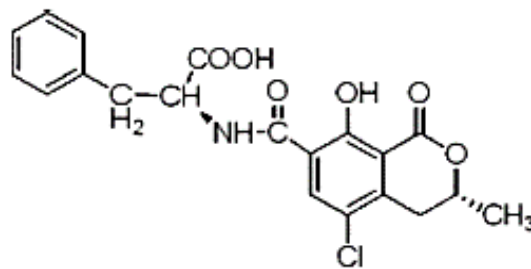


Figura 1: Estructura química de l'Ocratoxina-A. (Bellver, et al. 2014)

S'ha posat de manifest que hi poden haver diverses matèries primeres de baixa qualitat amb creixement de floridura visible o amb nivells d'OTA no aptes per a l'ingrés a la cadena alimentària humana que poden anar a parar a pinsos per a animals. Això planteja preocupacions pel que fa a la salut dels animals, incloent una major susceptibilitat a infeccions secundàries i una disminució de la productivitat. Molts aliments per a animals de granja es basen en grans i subproductes de cereals, que són el substrat preferit per al creixement de *Penicillium* i *Aspergillus* spp. Els brots d'intoxicació per l'OTA s'han vist en les aus de corral, porcs i conills. El consum de productes derivats d'animals que estan contaminats amb OTA també ha generat preocupacions de salut pública (Duarte, et al. 2012).

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

L'EFSA indica que la contaminació dels pinsos per animals amb OTA pot donar lloc a la presència de residus en les freixures comestibles i el sèrum sanguini, mentre que la contaminació per OTA en carn, llet i ous és insignificant. Però tot i així considera que el risc general associat amb el consum d'aliments derivats d'animals alimentats amb pinsos contaminats d'OTA és insignificant. (EFSA, 2006)

1.2.1. TOXICITAT DE L'OTA

Segons diversos estudis citats en la revisió de Wu, et al. (2014), s'ha vist que L'OTA és un potent carcinogen renal en diverses espècies animals. Concretament en rates i truges. En rates s'ha vist que l'exposició d'OTA pot induir adenomes o carcinomes renals (en un 39% de rates a una quantitat de 70 µg/kg/dia). En truges pot causar disminució de la funció renal i de les concentracions enzimàtiques (amb una quantitat de 8 µg/kg/dia).

Al revisar la bibliografia podem observar que hi ha varis estudis que mostren els efectes adversos de la toxicitat de l'OTA en animals, però alhora de parlar dels efectes adversos en humans l'evidència i documentació queda molt més reduïda. Diversos estudis citats per la mateixa revisió, van examinar l'OTA com la causa potencial de la nefropatia endèmica dels Balcans, una malaltia renal crònica associada amb una alta incidència de tumors del tracte urinari a Europa de l'Est.

Tot i així, segons varis estudis citats per la revisió de Wu, et al. (2014) hi ha evidència creixent que l'agent etiològic de la nefropatia endèmica dels Balcans és probable que sigui l'àcid aristolòquico. Segons l'institut nacional del càncer¹ l'àcid aristolòquico pertany a un grup d'àcids que es troben en estat natural en molts tipus de plantes del gènere *Aristolochia* i en alguns tipus del gènere *Asarum*. Aquestes plantes s'usen en alguns productes preparats amb herbes que tenen com a fi tractar símptomes i malalties diferents, els quals no estan aprovats per l'Administració de Medicaments i Aliments d'EE.UU. (FDA), i sovint es comercialitzen com a complements alimentaris o "remeis tradicionals". A causa del consum dels productes anomenats anteriorment, s'ha vist un efecte cancerigen d'aquests compostos en les vies urinàries i bufeta.

Tot i no haver-hi prou evidència en estudis amb humans, degut als resultats obtinguts en estudis amb animals, l'OTA s'ha classificat com un possible carcinogen humà (grup 2B) per la agència internacional de recerca del càncer (IARC, 1993). La majoria d'estudis consultats, corroboren aquesta dada. A la **taula 2** seguint la llegenda es poden veure les diferents

¹ Disponible en línia a: <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/sustancias/acidos-aristolocicos>.
Publicat el 20 de Març de 2015

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ
micotoxines i el seu grau d'evidència de carcinogenicitat en animals i humans, com també
l'avaluació de carcinogenicitat per als humans.

Taula 2: Grau d'evidència de carcinogenicitat de diferents micotoxines en humans i animals.
Avaluació de la carcinogenicitat en humans.

Agent	Grau d'evidència de carcinogenicitat		Avaluació general de carcinogenicitat en humans
	Humans	Animals	
Aflatoxines d'origen natural	S	S*	1
Aflatoxina B ₁	S	S	
Aflatoxina B ₂		L	
Aflatoxina G ₁		S	
Aflatoxina G ₂		I	
Aflatoxina M ₁	I	S	2B
Toxines derivades de <i>Fusarium moniliforme</i> (ara s'anomena <i>F.verticillioides</i>)	I	S	2B
Fumonisina B ₁		L	
Fumonisina B ₂		I	
Fusarin C		L	
Ocratoxina A	I	S	2B
Toxines derivades de <i>Fusarium graminearum</i> i <i>F.culmorum</i>	I		3
Zeralenona		L	
Deoxynivalenol		I	
Nivalenol		I	

S* → Suficient evidència de carcinogenicitat; L → Limitada evidència de carcinogenicitat; I → Inadeguada evidència de carcinogenicitat. Grup 1 → cancerigen pels humans; Grup 2B → Possible cancerigen pels humans; Grup 3 → No classificable pel que fa a carcinogenicitat en éssers humans. (IARC, 1993)

El grup de població més vulnerable a la toxicitat de l'OTA el formen els nadons i nens pel seu major consum de cereals. D'altra banda, els fetus estan exposats a efectes teratogènics (malformacions congènites) causats per l'OTA (Elika, 2013).

1.2.2. REGLAMENTACIÓ ACTUAL

Pel que fa als productes animals contaminats amb OTA, segons Duarte, et al. (2012) la Comissió Europea (CE) no ha establert els límits màxims permesos d'OTA en la carn o altres productes animals. No obstant això, alguns països han establert els límits màxims (LM) de concentracions d'OTA, per exemple Dinamarca (ronyó de porc 10 µg/kg), Estònia (fetge de porc 10 µg/kg), Romania (ronyó, fetge i carn de porc 5 µg/kg) i Eslovàquia (carn i llet 5 µg/kg). D'altres han desenvolupat guies per als nivells màxims recomanats d'OTA, per exemple Itàlia (carn de porc i productes derivats 1 µg/kg).

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ
Segons el Reglament (CE) No 1881/2006 aquests són els límits màxims d'OTA en aliments
(taula 3).

Taula 3: Límits màxims d'OTA en aliments (CE, 2006).

ALIMENTS	OTA (µg/kg)
Cereals no elaborats	5.0
Tots els productes derivats de cereals no elaborats, inclosos els productes transformats a base de cereals i els cereals destinats al consum humà directe a excepció dels productes alimentosos enumerats en els punts 5, 6 i 9	3.0
Cafè torrat en gra i cafè torrat molt, exclòs el cafè soluble	5.0
Cafè soluble (cafè instantani)	10.0
Aliments elaborats a base de cereals i aliments infantils per lactants i nens de baixa edat ²	0.50
Aliments dietètics destinats a usos mèdics especials dirigits específicament a lactants ³	0.50
Espècies, incloses espècies dessecades	
<i>Piper</i> spp. (fruits d'aquest gènere, amb inclusió del pebre blanc i negre)	
<i>Myristica fragrans</i> (nou moscada)	
<i>Zingiber officinale</i> (gingebre)	
<i>Curcuma longa</i> (cúrcuma)	15
<i>Capsicum</i> spp. (fruits d'aquest gènere dessecats, sencers o polvoritzats, inclosos els bitxos, bitxos en pols, la caiena i el pimentó)	
Mescles d'espècies que continguin una d'aquestes espècies	
Regalèssia (<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>Glycyrrhiza inflata</i> i altres espècies)	
Arrel de regalèssia, ingredient per infusions	20
Extracte de regalèssia, per us alimentari, especialment en begudes i confiteria ⁴	80
Gluten de blat no destinat a la venda directa al consumidor	8.0

² Productes alimentaris enumerats en aquesta categoria tal com es defineixen a la Directiva 2006/125/CE de la Comissió, de 5 de desembre de 2006, relativa als aliments elaborats a base de cereals i aliments infantils per a lactants i nens petits (DO L 339 de 6.12.2006, pàg. 16) .El contingut màxim fa referència a la matèria seca, que es determina de conformitat amb el que estableix el Reglament (CE) no 401/2006 .

³ Productes alimentaris enumerats en aquesta categoria tal com es defineixen a la Directiva 1999/21/CE de la Comissió, de 25 de març de 1999, sobre aliments dietètics destinats a usos mèdics especials (DO L 91 de 7.4.1999, pàg. 29). En el cas de la llet i els productes lactis, el contingut màxim fa referència als productes llestos per al consum (comercialitzats com a tals o reconstituïts d'acord amb les instruccions del fabricant) i, en el cas de productes diferents de la llet i els productes lactis, la matèria seca es determina de conformitat amb el que estableix el Reglament (CE) no 401/2006

⁴ El contingut màxim s'aplica a l'extracte pur i no diluït, obtingut a raó de 1 kg d'extracte per cada 3 a 4 kg d'arrel de regalèssia

1.3. OCRATOXINA-A EN EL VI

1.3.1. CONTINGUT D'OTA ALS VINS

La presència d'OTA en el vi està relacionada amb el creixement de fongs en el raïm (Quintela, et al. 2013). Encara que *P. verrucosum* i *A. ochraceus* es consideren els principals productors d'OTA, l'*A. carbonarius* presenta una forta evidència de ser el principal responsable de la presència d'OTA en el raïm utilitzat en la producció de vi.

Segons Pitt, et al. (2013) les espècies d'*Aspergillus* evolutivament relacionats amb *A. ochraceus* (que dona nom a la micotoxina) generalment produeixen OTA durant emmagatzematges de llarga durada. L'estudi ens cita a diverses investigacions que conclouen que l'espècie més comuna es creu que és *Aspergillus westerdijkiae*. S'ha demostrat que *A. ochraceus* és només un productor menor. *Aspergillus westerdijkiae* es va segregar a partir d'*A. ochraceus*, juntament amb *Aspergillus steynii*. Aquestes tres espècies estan molt estretament relacionats, i sovint són considerats sinònims amb *A. ochraceus*.

El mateix estudi, corroborat per altres autors, indica que l'*A. niger* és una espècie que es troba en fruites fresques, especialment raïm i baies; en algunes hortalisses, com la ceba; en grans, especialment blat de moro, i molts altres productes alimentaris. Fins fa menys de deu anys que no es va descobrir que *A. carbonarius* gairebé és responsable de tota la producció d'OTA, poques vegades es diferencia de *A. niger*, per tant, la seva presència en els aliments no està tan ben documentada. Però se sap que és molt menys comú en aliments que *A. niger*.

El nivell d'OTA depèn dels tipus de vi, els productes del vi, les diferents regions i les collites (Petruzzi, et al. 2014). Segons un altre estudi citat per la mateixa revisió, els vins negres en general tenen nivells més alts que els vins blancs, a causa de l'augment del temps de contacte de les pells i grans de raïm amb el most durant l'etapa de maceració. Altres estudis revelen que el contingut de la toxina és més gran en vins dolços i especials, en comparació amb els secs degut a diferents pràctiques enològiques. S'ha comprovat que la presència d'OTA és major en els vins negres, seguit dels rosats i finalment els blancs (Bellver, et al. 2014).

Segons un estudi que va fer la Comissió Europea en 1.470 mostres de vi, el valor mitjà de la toxina era de 0,357µg/kg, tot i que els vins del sud d'Europa van presentar una contaminació més alta (15,6 µg/kg). També es van observar nivells elevats en panses amb un nivell de 3,10 µg/kg com a resultat d'un estudi amb 593 mostres. Entre els diferents tipus de vins el negre i dolç semblen ser els més contaminats. (CE, 2002).

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

Diversos estudis citats per la revisió de Bellver, et al. (2014) parlen de l'elevada incidència de contaminació amb OTA en vins espanyols. Sobretot en vins amb el most fortificat (mistela i moscatell) amb una mitjana de 4,48 ng/mL d'OTA, i un valor màxim de 27,79 ng/mL; i vins com Pedro Ximénez amb una mitjana de 2,77 ng/mL d'OTA i 15.62 ng/mL com a valor màxim. Els dos tipus de vi van mostrar un 91% de presència d'OTA en les mostres estudiades (Bellver, et al. 2014). Aquest fet té una gran importància si considerem que Espanya és el tercer país després de França i Itàlia amb producció més alta de vi (OIV, 2012).

1.3.2. LÍMITS LEGALS EN EL VI I RAÏM

El Reglament (CE) No 1881/2006 estableix un màxim de 10 µg/kg d'OTA en les panses (panses de Corint, sultanes i altres varietats), 2 ng/mL⁵ en el vi (inclosos els vins espumosos i exclosos els vins de licor i els vins amb un grau alcohòlic mínim de 15 % vol.) i vi de fruites⁶, el mateix valor per vins aromatitzats, begudes aromatitzades a base de vi i còctels aromatitzats de productes vitivinícoles⁷; i també pel suc de raïm, suc de raïm concentrat reconstituït, nèctar de raïm, most de raïm i most de raïm concentrat reconstituït, destinats al consum humà directe⁸.

1.3.3. FACTORS IMPLICATS EN LA PRESENCIA D'OTA EN EL VI

Segons Bellver, et al. (2014) la presència d'OTA en el raïm pot aparèixer a partir dels grans de raïm o durant la elaboració del vi. Els nivells d'OTA en el vi depenen de diferents factors com: la localització de la vinya (latitud), el temps (pluja, temperatura, humitat relativa a les vinyes), el període de collita, els tractaments amb pesticides, i la tècnica d'elaboració del vi.

La mateixa revisió cita un estudi que explica perquè hi ha vins (com els de most fortificat o elaborats amb un procés d'assecat de raïm) que tenen nivells més elevats d'OTA. La causa es podria relacionar amb un procés de fermentació més lent, com a conseqüència de l'alt contingut de sucre present en el most, i perquè el procés d'envelliment en aquests vins és

⁵ El contingut màxim s'aplica als productes procedents de la collita de 2005 cap endavant.

⁶ Productes alimentaris enumerats en aquesta categoria tal com es defineixen en el Reglament (CE) n o 1493/1999 del Consell, de 17 de maig de 1999, pel qual s'estableix l'organització comuna del mercat vitivinícola (DO L 179 de 14.7.1999, p. 1). Reglament modificat en últim lloc pel Protocol relatiu a les condicions i al procediment d'admissió de la República de Bulgària i de Romania a la Unió Europea (DO L 157 de 21.6.2005, p. 29).

⁷ Productes alimentaris enumerats en aquesta categoria tal com es defineixen en el Reglament (CEE) No 1601/91 del Consell, de 10 de juny de 1991, pel qual s'estableixen les regles generals relatives a la definició, designació i presentació de vins aromatitzats, de begudes aromatitzades a força de vi i de còctels aromatitzats de productes vitivinícoles (DO L 149 de 14.6.1991, p. 1). Reglament modificat en últim lloc pel Protocol relatiu a les condicions i al procediment d'admissió de la República de Bulgària i de Romania a la UE. El contingut màxim d'OTA aplicable a aquestes begudes és en funció de la proporció de vi i/o most de raïm present en el producte acabat.

⁸ Productes alimentaris enumerats en aquesta categoria tal com es defineixen en la Directiva 2001/112/CE del Consell, de 20 de desembre de 2001, relativa als suc de fruites i altres productes similars destinats a l'alimentació humana (DO L 10 de 12.1.2002, p. 58).

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

realitza en botes de fusta. D'altra banda és habitual que el procés de deshidratació del raïm al sol, que s'utilitza en els vins dolços, es dugui a terme en un ambient obert on les condicions per al creixement d'*A. carbonarius* són favorables.

La formació de la toxina està molt influenciada pels valors d'activitat de l'aigua (aw) i per la temperatura. Així, per la seva formació requereix un valor mínim d'entre 0,83 i 0,90 d'aw, sent l'òptim entre 0,95 i 0,99, i valors d'entre 12 i 37 °C per *Aspergillus* spp. i d'entre 4 i 31 °C per *Penicillium* spp (Blesa, 2011).

El nombre de mostres positives amb OTA en vins de DO Rioja Alavesa va ser superior en zones semiàrides que no en zones seques, això podria explicar-se degut a que a les zones semiàrides hi ha més pluges i temperatures més elevades que a les zones seques (Blesa, 2011). És per aquest motiu que al sud d'Europa i a la regió Mediterrània es troben vins amb altes concentracions d'OTA degut a les seves elevades temperatures i humitat.

1.3.4. FACTORS DETERMINANTS EN LA CADENA DE PRODUCCIÓ DEL RAÏM

Segons Quintela, et al. (2013) hi ha una forta evidència del rol d'*A. carbonarius* en contaminar la cadena de producció del raïm. *A. carbonarius* és un fong sapròfit que es troba en el subsòl de les vinyes, a la capa superior, i creix a les baies que estan malmeses ja bé sigui per agents biòtics com plagues o per agents abiòtics. El corc del raïm o *Lobesia botrana* és la principal causa per la qual espècies d'*Aspergillus* (secció *Nigri*) colonitzen les vinyes, ja que contínuament transporta espores cap a les baies. Segons un estudi citat per Pitt, et al. (2013) la font d'OTA en les panses i el vi són *A. carbonarius* i *A. niger* en menys quantitat. Aquestes dues espècies creixen a 41°C i 45-47°C respectivament. Les vinyes poden créixer en un ampli rang de temperatures, però com que les fonts productores d'OTA creixen a temperatures elevades la seva producció es veu incrementada sobretot a les zones més càlides.

Segons el Comitè de l'Organització de les Nacions Unides per a l'Agricultura i l'Alimentació i l'Organització Mundial de la Salut (FAO/OMS) un cop *A. carbonarius* aconsegueix entrar al raïm a través de la pell danyada, l'elevada combinació de sucre/acidesa proporciona un mitjà perfecte per la producció d'OTA. Les claus per que hi hagi uns nivells baixos d'OTA al vi són la prevenció abans de la collita de la infecció del raïm per patògens, una collita ràpida si la pluja provoca el dany de la pell del raïm, bones pràctiques de collita, incloent el rebuig dels grans de raïm de mala qualitat, i aconseguir el mínim temps entre la collita i la trituració. El control de la formació d'OTA en les panses no és tan fàcil, ja que qualsevol infecció abans de la collita amb *A. carbonarius* es continuarà desenvolupant durant les primeres etapes d'assecat. Però

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

durant l'emmagatzematge no hi ha cap augment de la humitat, això afavoreix la prevenció de la producció d'OTA (Pitt, et al. 2013).

Segons els mateixos autors precedents (Pitt, et al. 2013) les espècies d'*Aspergillus* negre són resistents a la llum solar, als rajos ultraviolats i a les altes temperatures. Per tant, la producció d'OTA és freqüent durant l'assecat del raïm al sol. També són poc xeròfiles, per tant si es redueix l'activitat de l'aigua per sota de 0.8 es pot prevenir la formació d'OTA. La collita de raïm per a la producció de vi pot ser mecànica o manual, i en general es transporta a un celler a certa distància. Els fongs continuen creixent després de la mòlta, fins que la fermentació produeix suficient diòxid de carboni i alcohol per causar la seva inhibició, però això no pot passar fins a un o tres dies després de la collita. L'OTA formada en passos anteriors a la fermentació alcohòlica no es degrada ni durant el procés de vinificació, ni durant l'emmagatzematge posterior del vi (Blesa, 2011).

En la revisió sobre els factors que afecten la presència d'OTA en els vins, Pozo-Bayón, et al. (2012) indiquen que hi ha diferents pràctiques en el cultiu de la vinya i la producció del vi, com ara el tipus de conreu o les condicions i durada d'emmagatzematge del raïm collit, que poden influir en l'acumulació i els nivells de micotoxines. Algunes varietats de raïm poden presentar una susceptibilitat més gran que d'altres a la infecció per *Aspergillus* spp. Tot i això, una vegada infectat, no hi ha diferències entre les varietats de raïm pel que fa a la resistència del creixement de la floridura. La transformació a la que es sotmet el raïm durant la producció de vi és un dels principals factors que influeixen a la presència d'OTA en ell.

1.3.5. MESURES D'ANÀLISIS I REDUCCIÓ DE MICOTOXINES. QUALITAT SANITÀRIA

El concepte d'objectiu de seguretat alimentària (FSO) és la freqüència màxima i/o concentració de perill en un aliment en el moment del consum i està precedit pel PO, que és la màxima freqüència i/o concentració d'un perill en un aliment en un pas específic de la cadena alimentària abans del consum (ICMSF, 2002). Aquest concepte s'ha aplicat sobretot a la comprensió dels efectes de la manipulació i el processament dels nivells de bacteris patògens en aliments, però també és aplicable a la formació i eliminació de micotoxines (Pitt, et al. 2013). En l'estudi realitzat per García-Cela, et al. (2012) creuen que és important aplicar aquests conceptes a micotoxines perilloses i creuen necessari el proporcionar informació més estructurada sobre l'impacte de l'emmagatzemat i les etapes d'elaboració en l'acumulació de micotoxines als aliments de consum humà.

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

Hi ha diverses tècniques per prevenir o eliminar la contaminació d'OTA a les vinyes. En la revisió realitzada per Petruzzi, et al. (2014) es citen diversos estudis que tracten sobre les diferents mesures que es poden emprendre amb tal finalitat. Per una banda, tindriem les estratègies de prevenció (fungicides per *A. carbonarius* i insecticides per *L. botrana*), però aquestes tècniques no poden prevenir el problema del tot, sobretot per segons quines vinyes o varietats de raïm més susceptibles. La descontaminació física consisteix en eliminar el raïm florit abans d'entrar a la cadena de producció de vi. Aquest mètode pot reduir l'OTA en un 98%, però no resulta factible econòmicament. Quintela, et al. (2013) ens parlen de la filtració del vi (amb membrana de 0.45 µm) que redueix l'OTA en un 80%. L'ús d'absorbents inorgànics té la limitació de que disminueix el valor nutritiu i les propietats organolèptiques del vi, i augmenta el cost de productivitat. Els resultats de l'eliminació d'OTA a partir de materials absorbents dependrà del nivell de contaminació, l'agent utilitzat i la seva dosi. L'ús de fragments de fusta de roure també es pot utilitzar, però en algunes regions Europees està prohibit (Quintela, et al. 2013).

La conscienciació del viticultor dels efectes negatius que té la presència d'OTA al vi, es considera també una eina molt important per controlar la toxina. És important que aquest pugui identificar l'*A. carbonarius* a les vinyes i que sàpiga que és un fong d'infecció secundària i oportunista. També és rellevant que conegui com implementar la vinya de forma correcta, quines són les millor tècniques de cultiu i protecció fitosanitària (Gencat, 2006).

Pel que fa als mètodes microbiològics per eliminar l'OTA hi ha pocs estudis en relació amb el vi (Quintela, et al. 2013). La revisió de Petruzzi, et al. (2014) ens cita diversos estudis que exposen les diferents vies microbiològiques per reduir l'OTA. Alguns bacteris, fongs i enzims microbians s'han vist implicats en la degradació de la micotoxina. També s'han observat els efectes absortius d'aquesta micotoxina que té la superfície cel·lular d'algunes espècies de *Lactobacillus*, així com d'altres bacteris acido-làctics del vi.

La mateixa revisió parla de que en els darrers anys, diversos estudis han demostrat l'habilitat dels llevats d'eliminar l'OTA. Els llevats són un adsorbent eficient, utilitzats en l'elaboració del vi per reduir la concentració de substàncies nocives del most que poden afectar a la fermentació alcohòlica o a la qualitat del vi d'una manera negativa. Segons un estudi citat per Quintela, et al. (2013) la degradació d'OTA es deuria a mecanismes d'adsorció de la paret cel·lular dels llevats. Aquesta està formada bàsicament per β-glucans i manoproteïnes, que són parcialment solubles en aigua i són alliberades durant la fermentació alcohòlica, però

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

sobretot al final. Les manoproteïnes es troben en càrrega negativa al pH del vi, així que poden establir interaccions amb l'OTA de forma polar i no polar.

Pizzuti, et al. (2014) proposen un mètode ràpid i senzill per l'anàlisi de 36 micotoxines presents en el vi, basat en una extracció amb acetonitril, seguit d'una separació i una etapa d'assecat posterior amb sulfat de magnesi, i la detecció utilitzant cromatografia líquida i espectrometria de masses en tàndem (LC-MS/MS). Di Stefano, et al. (2012) descriuen que la combinació de cromatografia líquida d'alt rendiment (HPLC) amb espectrometria de masses en tàndem MS/MS ha demostrat ser una eina poderosa per a la determinació simultània de diferents classes de micotoxines. Segons el mateix estudi l'OTA es pot determinar fàcilment per l'anàlisi amb LC/MS dels vins amb una simple dilució de la preparació de la mostra abans de l'anàlisi complet.

Roland, et al. (2014) comparen dos mètodes de quantificació d'OTA en el vi: l'assaig de dilució d'isòtops estables (SIDA) i l'assaig de dilució de diastereoisòmers (DIDA).

Finalment en la revisió de Wu, et al. (2014) es refereixen diferents estratègies per controlar l'aflatoxina que es podrien dividir en diverses intervencions:

- **Abans de la collita:** com podrien ser les bones pràctiques agrícoles; el cultiu convencional o transgènic per tal de resistir sequeres, plagues, infeccions per fongs etc; i el control biològic que es basa en l'ús de soques de fongs no tòxiques per eliminar les tòxiques per competició.
- **Postcollita:** es basen en realitzar una adequada classificació, assecat i emmagatzematge dels cultius per evitar la proliferació de fongs o micotoxines.
- **Intervencions dietètiques:** inclouen l'addició a la dieta d'agents quimiopreventius o agents que puguin absorbir la toxina.

2 OBJECTIUS I INTERÈS DEL TREBALL

2.1. JUSTIFICACIÓ DEL TREBALL

Segons la OMS les malalties transmeses pels aliments suposen una important càrrega per a la salut. Milions de persones emmalalteixen i moltes moren per consumir aliments insalubres. Els Estats Membres, seriosament preocupats per aquesta problemàtica, van adoptar l'any 2000 una resolució en la qual es reconeix el paper fonamental de la innocuïtat alimentària per a la salut pública.

L'accés a aliments innocus i nutritius en quantitat suficient és fonamental per mantenir la vida i fomentar la bona salut. Segons dades epidemiològiques de la OMS els aliments insalubres que contenen bacteris, virus, paràsits o substàncies químiques nocives causen més de 200 malalties, que van des de la diarrea fins al càncer. S'estima que cada any emmalalteixen al món uns 600 milions de persones per ingerir aliments contaminats i que 420 000 moren per aquesta mateixa causa. Els nens menors de 5 anys suporten un 40% de la càrrega atribuïble a les malalties de transmissió alimentària, que provoquen cada any 125.000 defuncions en aquest grup d'edat.

La innocuïtat dels aliments, la nutrició i la seguretat alimentària estan fortament relacionades. Els aliments insalubres generen un cercle viciós de malaltia i malnutrició, que afecta especialment als lactants, els nens petits, els ancians i els malalts.

La Segona Conferència Internacional FAO/OMS sobre Nutrició, celebrada a Roma al novembre de 2014, va reiterar la importància de la innocuïtat dels aliments per aconseguir una millor nutrició humana a través d'una alimentació sana i nutritiva.

Les malalties transmeses pels aliments són normalment de caire infecciosos o tòxic i poden ser causades, en major freqüència, per:

- **Bacteris:** *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Listeria* spp., *Vibrio cholerae*.
- **Virus:** norovirus, hepatitis A.
- **Paràsits:** trematodes, *Echinococcus* spp., *Taenia solium*, *Ascaris*, *Cryptosporidium*...
- **Prions:** agents infecciosos constituïts per proteïnes que es caracteritzen per estar associats a determinats tipus de malalties neurodegeneratives. L'encefalopatia espongiforme bovina (EEB o "malaltia de les vaques boges") és una malaltia per prions que afecta al bestiar i que es relaciona amb la variant de la malaltia de Creutzfeldt-Jakob en l'home.
- **Substàncies químiques:**
 - o Les **toxines naturals** abasten les micotoxines, les biotoxines marines, els glucòsids cianogènics i les toxines presents en els bolets verinosos. Els aliments bàsics com el blat de moro, cereals, cafè o vi poden contenir elevats nivells de micotoxines, com la

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

aflatoxina i la **ocratoxina**. Una exposició perllongada a aquestes toxines pot afectar al sistema immunitari i al desenvolupament normal, o causar càncer.

- Els **contaminants orgànics persistents** són composts que s'acumulen en el medi ambient i en l'organisme humà. Els exemples més coneguts són les dioxines i els bifenils policlorats.
- Els **metalls pesats** com el plom, el cadmi i el mercuri causen danys neurològics i renals. La presència de metalls pesats en els aliments es deu principalment a la contaminació de l'aire, de l'aigua i del sòl.

La Comissió del *Codex Alimentarius* (CCA), és un òrgan establert conjuntament per l'Organització de les Nacions Unides per a l'Agricultura i l'Alimentació (FAO) i l'Organització Mundial de la Salut (OMS). És reuneix anualment per tractar diversos temes relacionats amb la innocuïtat alimentària. En totes aquestes reunions, es parla de la importància de la interrelació entre l'OTA i la contaminació d'aliments d'ús humà. A continuació exposaré algunes referències dels últims anys on s'ha parlat d'aquest tema.

- *Avaluació de certs additius alimentaris i contaminants dels aliments, 1991. Comitè mixt FAO/OMS d'experts en additius alimentaris.* Es parla que referent a l'OTA s'ha de fer tot el possible per obtenir informació sobre la possibilitat de que passi dels pinsos a teixits animals i sobre els inconvenients que es puguin derivar en l'alimentació humana. Per tant ja s'inicia la preocupació de que aquesta micotoxina pugui afectar la salut humana.
- *Avaluació de certs additius alimentaris i contaminants dels aliments, 1996. Comitè mixt FAO/OMS d'experts en additius alimentaris.* S'avaluen, entre d'altres, dos contaminants: l'OTA i la patulina. S'estableix una ingesta setmanal tolerable provisional (ISTP) per l'OTA de 0,1 mg/kg (equivalent a 14 ng/kg/dia)
- **2007.** *Comitè mixt FAO/OMS.* S'elabora un projecte que permetrà prevenir o reduir la presència d'OTA en el vi. El codi abordaria totes les mesures d'eficàcia demostrada per prevenir i reduir la contaminació del vi en les diferents etapes de la cadena de producció.
- **2009.** *Comitè mixt FAO/OMS.* La Comissió va adoptar directrius que permetin als països productors de cafè desenvolupar i implementar els seus propis programes nacionals per a la prevenció i reducció de la contaminació per la OTA.
- **2013.** *Comitè mixt FAO/OMS.* La Comissió va adoptar un codi sobre la prevenció i reducció dels nivells d'OTA en el cacau.

Segons la FAO un 25% de la totalitat dels cultius estan contaminats amb micotoxines, per tant, la suma de la ingesta de la totalitat de micotoxines en una dieta equilibrada rica en productes vegetals, unida al consum de productes animals contaminats, com a conseqüència del pinso amb presència de

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

micotoxines, representa una exposició considerable de l'ésser humà a aquestes toxines (FAO, 1996). Actualment aquest 25% probablement sigui més elevat. A més, la presència de micotoxines a les collites s'ha relacionat amb una pèrdua econòmica (FAO, 2003).

El vi és una beguda fermentada a partir de most del raïm i normalment conté entre 10-15% de graduació d'alcohol. Segons una estimació realitzada per la Organització Internacional del vi i la vinya (OIV, 2012) la producció mundial de vi l'any 2011 va ser de 265,8 milions d'hectolitres (sense comptar el suc de raïm o most), 600.000 hectolitres més que l'any 2010. Espanya va aportar el 12,9% d'aquesta producció amb 34,3 milions d'hectolitres (OEMV, 2012).

Segons la Comissió Europea el vi suposa aproximadament un 13% de la ingesta diària total en els estats membres d'Europa. La **figura 2** mostra un gràfic amb els percentatges de la ingesta dels aliments que poden estar contaminats per l'OTA en els europeus. La presència d'OTA es troba contínuament en extraccions de sang d'humans sans (Pozó-Bayón, et al. 2012). Aquesta alta incidència és probablement per la importància del vi en el dieta i també per la importància dels cereals que ocupen un 50% de la ingesta total (CE, 2002).

Contribution of each food commodity to the mean European total dietary intake of OA*
*Consumption data related to consumers only were employed for France Norway and Sweden

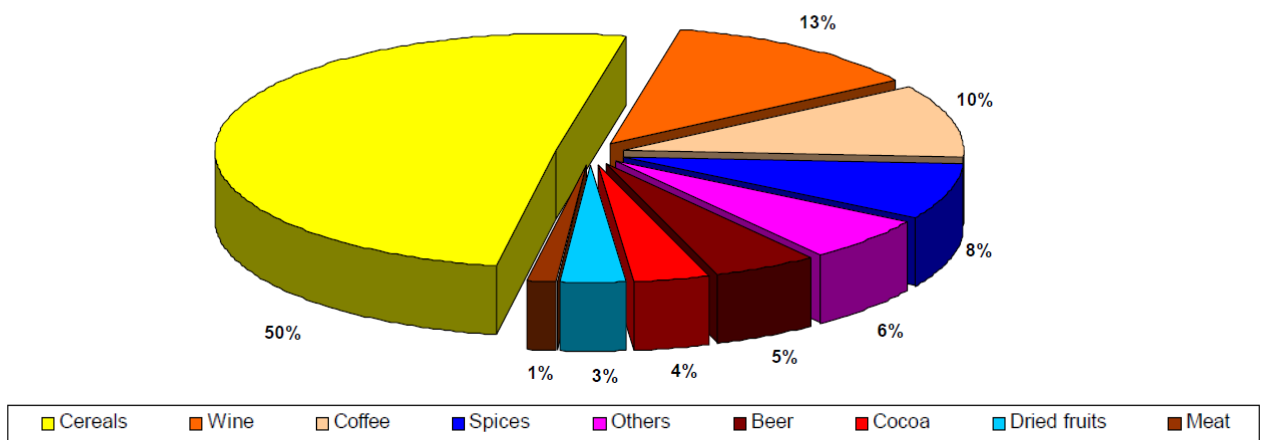


Figura 2: contribució de cada producte alimentari a la ingesta dietètica total europea mitjana d'OTA. (CE, 2002)

La quantitat de mostres per estimar la ingesta de vi es va realitzar en deu països, ja que no tots els estats membres disposaven de la informació necessària. Com que gairebé tots els països no van proporcionar informació per a alguns productes alimentaris, es va realitzar un càlcul provisional de la ingesta total de tots els productes alimentaris susceptibles d'OTA mitjançant la inclusió de valors de substitució. La **figura 3** mostra el mateix gràfic d'abans però amb el càlcul provisional.

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

Contribution of each food commodity to the mean European total dietary intake of OA*
(Surrogate values)

*Consumption data related to consumers only were employed for France Norway and Sweden

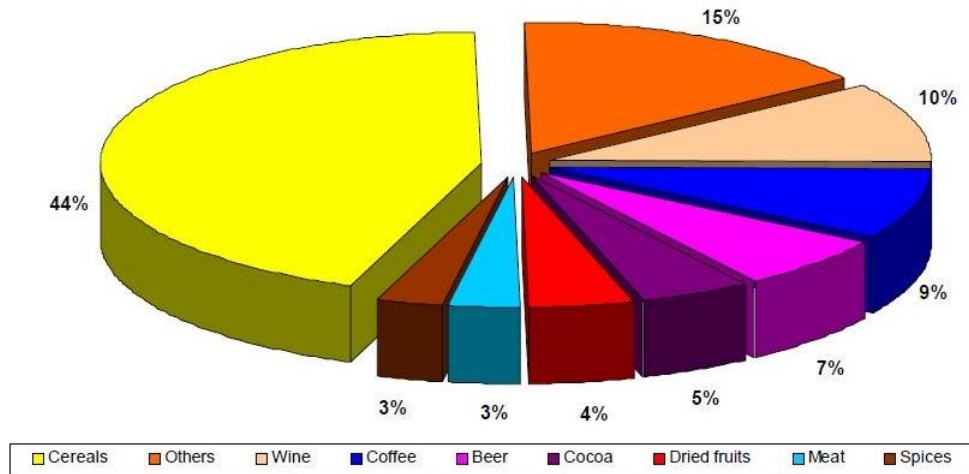


Figura 3: contribució de cada producte alimentari a la ingesta dietètica total europea mitjana d'OTA. Valors de substitució. (CE, 2002)

La present revisió vol contrastar informació sobre l'exposició humana a l'OTA, entre altres aspectes, concretament a partir del vi, ja que és una beguda alcohòlica freqüent en el consum de la dieta mediterrània. Segons la revisió de Pozo-Bayón, et al. (2012) en la dieta europea, el vi i especialment el vi negre, ha estat identificat com la segona font principal d'exposició humana a l'OTA, després dels cereals.

2.2. OBJECTIUS DEL TREBALL

- Actualitzar coneixements sobre la presència d'ocratoxina-A en vins
- Actualitzar coneixements sobre la seva legislació i toxicitat
- Actualitzar coneixements sobre els mètodes d'anàlisi i reducció de l'OTA en el vi

3 METODOLOGIA

3.1. CRITERIS D'INCLUSIÓ

Per tal d'escollir la informació per fer la present revisió he triat diferents bases de dades. Entre elles *Pubmed* i *Science Direct*, a ambdues si aplica un filtre dels cinc últims anys de publicació, però la resta de paràmetres i criteris d'inclusió varia d'una a l'altre ja que tenen metodologies de cerca diferents. Per tant, m'he basat en anar disminuint la cerca i catalogant-la segons les diferents paraules clau que he anat posant: "*Ochratoxin A*", "*food*", "*wine*" i "*mycotoxin*". He intentat escollir estudis amb un elevat grau de fiabilitat, com revisions i assajos clínics, però també he trobat altres articles interessants que no es troben en aquesta categoria i també els he seleccionat.

L'altre criteri important d'inclusió és que tots els articles seleccionats es troben dins del primer quartil, és a dir el seu factor d'impacte és dels més elevats dins de la categoria de cada revista en concret.

D'altra banda he consultat informació de la revista *Acenologia*, informació de la fundació basca per la seguretat agroalimentària *Elika*, informació del gencat, dades publicades per el BOE, DOUE-CE, OMS, FAO, IARC, Codex alimentarius, EFSA etc.

3.2. FONTS D'INFORMACIÓ

- *Pubmed*

El primer que he fet per realitzar la meua cerca ha estat anar a l'apartat de paraules MeSH, és a dir, el vocabulari controlat per poder fer les recerques a *pubmed*. Primer he posat "*ochratoxin A*" i el concepte surt així: *ochratoxin A [Supplementary Concept]*, després d'afegir aquest concepte a la cerca, he afegit la paraula "*wine*" i m'han sortit 181 resultats.

Paral·lelament he fet la mateixa cerca però canviant "*wine*" per "*food*" amb vocabulari MeSH i m'han sortit 530 resultats.

Per seguir acotant la cerca he utilitzat diferents filtres els quals són: estudis dels últims cinc anys, text disponible, assajos clínics i revisions i estudis que es trobin en el quartil més alt per la seva categoria, és a dir el primer quartil, aquest filtre s'ha revisat mitjançant el *Journal Citation Reports*. El motiu pel qual he seleccionat només revisions i assajos clínics és perquè tenen un grau de fiabilitat molt alt i també perquè el resultat de la cerca hagués estat massa elevat en quant al nombre d'articles. Finalment he seleccionat cinc revisions. La **figura 4** mostra un diagrama on es resumeix la cerca a *Pubmed*.

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

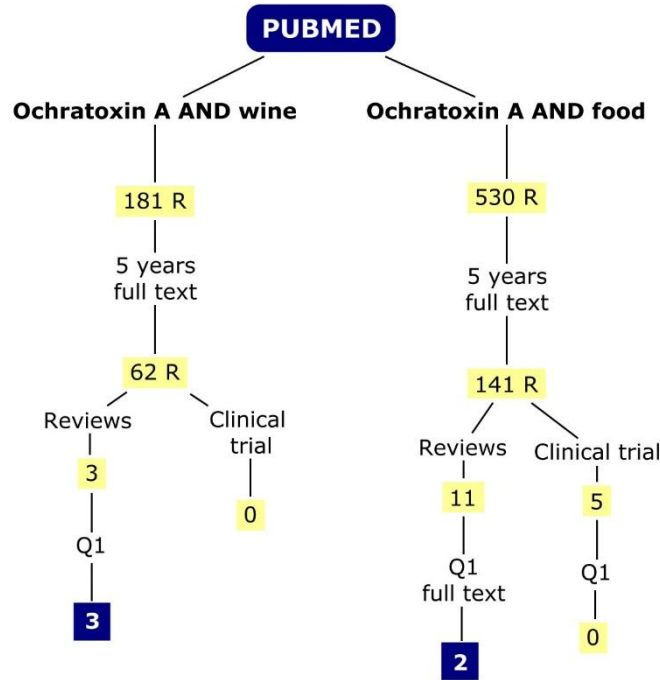


Figura 4: Diagrama de flux de la cerca bibliogràfica a Pubmed

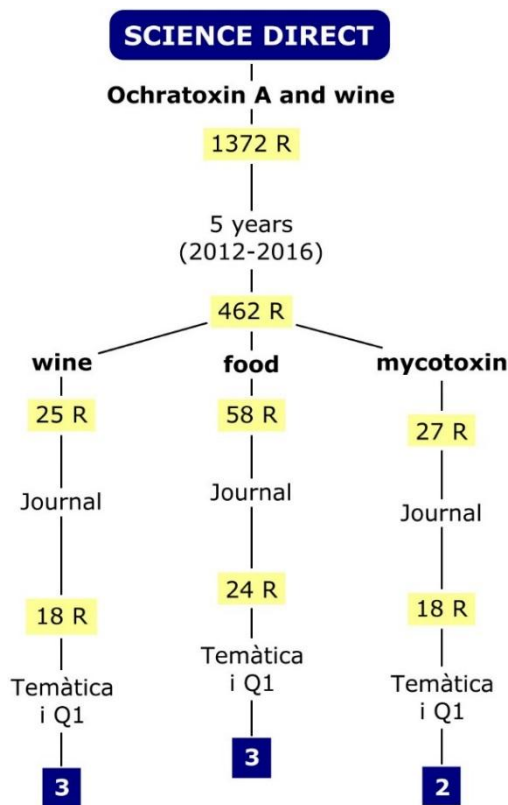


Figura 5: Diagrama de flux de la cerca bibliogràfica a Science direct

- *Science direct*

Per tal de realitzar la cerca a *Science direct* he escrit "Ochratoxin A and wine" a la cerca de tots els arxius. M'han sortit 1372 resultats, he agafat només els últims cinc anys (2012-2016) i la cerca s'ha reduït a 462 resultats. A continuació he desglossat la cerca en tres blocs diferents segons el tema: "wine", "food" i "mycotoxin". De cada bloc he seleccionat la categoria de revista pel que fa al tipus de contingut. Per últim he seleccionat els diversos articles en funció de que es trobessin al primer quartil i també de la temàtica. Finalment he seleccionat vuit articles. La figura 5 mostra un diagrama on es resumeix la cerca a *Science direct*.

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

- **Google**

També he cercat documents a partir de google en pàgines de referència i confiança. Aquests documents no són dels últims cinc anys, però al tractar-se de reglamentació i resolucions són els més recents.

- BOE i DOUE (CE): Reglamentació
- EFSA
- OMS/FAO
- IARC
- Comissió del Codex Alimentarius
- Elika: Fundació basca per la seguretat agroalimentària
- Revista Acenologia
- Gencat
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods)
- OIV. International Organisation of Vine and Wine.
- OEMV. Observatorio Español del Mercado del Vino.

En total, per realitzar la present revisió he seleccionat **tretze articles científics** , i varis documents extrets de pàgines oficials.

4 CONCLUSIONS

Segons la revisió de Wu, et al. (2014) les micotoxines es troben entre els contaminants alimentaris més importants, i s'han de controlar amb la finalitat de protegir la salut pública arreu del món. Les seves malalties associades van des de càncers i toxicitats agudes fins a efectes en el desenvolupament. Normalment aquests efectes adversos solen afectar desproporcionadament a poblacions amb baixos ingressos on els aliments bàsics es troben freqüentment contaminats i les mesures de control són escasses. La contaminació alimentària per micotoxines suposa a més un obstacle econòmic a Àfrica, Àsia i Amèrica Llatina on el seu comerç es basa en l'exportació de matèries primes (Bezerra, et al. 2014).

L'exposició a micotoxines en les poblacions humanes té efectes interactius amb nutrients, factors dietètics i ambientals que agreugen els riscos de salut, com el deteriorament en el creixement de les poblacions vulnerables. Atès que múltiples factors de risc de la dieta i ambientals estan presents de forma conjunta en llocs de baixos ingressos arreu del món, l'exposició a micotoxines es considera un problema important per a la salut humana sobretot en aquestes poblacions (Wu, et al. 2014).

Dins de les micotoxines, la majoria d'autors consultats mostren més informació sobre els efectes tòxics de l'aflatoxina que no pas d'altres micotoxines com l'OTA. L'exposició a l'aflatoxina és un dels factors de risc més importants que causa un dels càncers més mortals a tot el món –el càncer de fetge– la seva eradicació en els aliments és crítica. D'altra banda, es troba la relació entre l'aflatoxina i el retard en el creixement infantil, possiblement encara més crítica des del punt de vista de salut pública mundial, aquest fet pot conduir a una varietat d'efectes adversos que perduren més enllà de la infància. No obstant això, de moment no hi ha suficient evidència per fer una avaluació quantitativa del risc i avaluar les dosis d'aflatoxina que conduirien a determinats nivells de risc en poblacions infantils (Wu, et al. 2014).

Pel que fa a l'OTA no hi ha prou evidència dels seus efectes tòxics en estudis amb humans, tot i així, alguns estudis parlen de la nefropatia endèmica dels Balcans com una de les patologies més freqüent arrel de l'exposició prolongada a la micotoxina. A partir dels resultats obtinguts en estudis amb animals s'ha demostrat la toxicitat de l'OTA, i s'ha classificat com un possible carcinogen humà (grup 2B) per la agència internacional de recerca del càncer (IARC, 1993). La majoria d'estudis consultats, corroboren aquesta dada.

S'ha treballat molt poc en l'estimació del percentatge de malalties humanes causades per l'exposició de l'OTA. En part, això és degut a la falta de certesa sobre la relació entre malalties humanes

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

concretes i l'exposició de les micotoxines en qüestió. Actualment s'han establert biomarcadors de l'exposició de fumonisines, deoxinivalenol i OTA. Tots ells es troben en diferents etapes de validació (Wu, et al. 2014).

La gran majoria d'organitzacions i autoritats com: OMS, EFSA o FAO es preocupen any rere any d'augmentar la seguretat alimentària arreu del món, ja sigui a nivell d'innocuitat d'aliments com d'accessibilitat a aquests. És important eliminar de la cadena alimentària tots els aliments que no siguin segurs per a la salut humana. En aquest cas, concretament, els que estiguin contaminats amb OTA. Per aconseguir això s'han de millorar les avaluacions de riscos existents i les normes reguladores de la micotoxina, per tal de garantir l'accés segur a aliments essencials com poden ser els cereals, sobretot en les poblacions de baixos ingressos, on com he dit anteriorment, hi ha més risc de contaminació. També és important encoratjar als productors, manipuladors d'aliments, i els consumidors a adoptar intervencions que redueixin el risc de micotoxines en els seus aliments. Però, malgrat els esforços, aquests mètodes no tindran els beneficis esperats tret que s'adoptin per les poblacions de major risc d'exposició de micotoxines (Wu, et al. 2014).

Segons la revisió Duarte, et al. (2012) l'OTA és un contaminant generalitzat de productes d'origen animal, en particular la carn, la sang i la llet. No obstant això, la ingesta d'OTA a partir de productes d'origen animal sembla ser de limitada importància per a la població general en comparació amb la ingesta potencial d'aquesta micotoxina a base de cereals i els seus productes derivats. El vi suposa un 13% de la ingesta total diària dels europeus, precedida del 50% que suposen els cereals.

Segons Bellver, et al. (2014) es pot observar que la ingesta d'OTA a través de vins espanyols està per sota de 0,1 ng/kg/dia, que representa un 1,31% de la ingesta diària total. Els nivells d'exposició, ja sigui per a la població en general o per als consumidors de vi dolç, són inferiors a la ingesta total diària establerta per l'EFSA (EFSA, 2006). Aquests valors estan per sobre dels reportats a la CE, on la ingesta d'OTA per al vi a Espanya va ser de 0,07 ng/kg/dia (CE, 2002). Varis estudis estan d'acord a que la ingesta d'OTA a partir del vi, dependrà de la quantitat diària que es begui; del pes de la persona, si és menor a 60 kg; i de si el vi consumit té nivells elevats d'OTA. Per tant, tot i que la majoria d'estudis mostren que els vins estudiats tenen nivells per sota dels 2µg/kg d'OTA establerts pel reglament, el vi, no deix de ser una font d'OTA per als éssers humans, i és necessari adoptar una actitud d'alerta per evitar el consum d' OTA.

Pel que fa a l'agricultura ecològica, en un estudi realitzat per Comuzzo, et al. (2013) es va dur a terme un anàlisi en un miler de vins de viticultura ecològica de diferents països europeus, on es va comprovar que l'OTA no suposava un problema generalitzat per a les produccions de vi ecològic i les

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

seves concentracions es trobaven per sota del límit legal europeu, en el 95% de les mostres analitzades. Però es va veure que el risc de contaminació per OTA semblava més gran en determinades regions del sud d'Europa.

Cal destacar que la majoria d'estudis conclouen que les espècies que produeixen més OTA en el raïm, i per tant, més contaminació al vi són, *A. carbonarius* i en menys quantitat *A. niger*, ambdues creixen de forma favorable a elevades temperatures i humitat, a part són residents a la llum solar. Per tant, a les zones més càlides i humides, com la zona mediterrània, la contaminació del vi per OTA és més elevada que no pas en altres regions.

Els vins negres i dolços són més susceptibles de patir contaminació per OTA, fet contrastat per la majoria d'estudis consultats.

Pel que fa a l'eliminació o reducció de l'OTA en el vi, hem pogut veure diverses tècniques utilitzades (químiques, físiques i microbiològiques). Segons la revisió de Petruzzi, et al. (2014) una d'elles depenia de la soca del llevat o l'ús de productes derivats del llevat. No obstant això, la toxina podria ser alliberada de nou després de la seva adsorció i aquest tret depèn de la soca. Calen més investigacions, ja que l'ús de productes derivats dels llevats podrien afectar negativament la qualitat del vi. Hi ha controvèrsia entre diferents estudis, sobre si els llevats absorbeixen l'OTA o la degraden. La revisió conclou que els nivells d'OTA es poden reduir fins a 2µg/kg tan si els llevats són considerats com a eines adsorbtives o com a potencials soques iniciadores. Tot i així, cultius iniciadors com *Saccharomyces cerevisiae* amb altes capacitats d'adsorció poden representar una meta important. Tot i els mètodes físics i químics aplicats per eliminar la toxina, l'eliminació biològica es considera una solució prometedora, ja que és possible aconseguir la descontaminació sense utilitzar productes químics nocius i sense pèrdues en valor nutritiu o sabor. En general calen més estudis per poder trobar mètodes factibles a nivell econòmic i ecològic.

Pel que fa a la detecció d'OTA en el vi varis estudis parlen de cromatografia líquida d'alt rendiment combinada amb espectrometria de masses en tàndem (HPLC-MS/MS). Aquest mètode serveix per detectar un nombre elevat de micotoxines (fins a 35), en canvi, altres mètodes només en poden detectar entre deu i quinze. Molts dels autors remarquen que, degut a la toxicitat de l'OTA, és un objectiu prioritari millorar els mètodes d'anàlisi i fer que siguin fiables i sensibles.

5 REFLEXIÓ PERSONAL

En la realització d'aquest treball he pogut trobar algunes limitacions i també he pogut aprendre moltes coses. Per una banda, tot i que hem pensava que ja sabia fer treballs, mai havia fet una revisió, i això ha comportat aprendre la importància de saber sintetitzar el més important de cada article, i de saber citar-los correctament. D'altra banda he pogut trobar limitacions alhora de cercar la informació, ja que alguns articles no estaven disponibles, però finalment els he pogut aconseguir. També me n'he adonat de la importància de la constància en aquest tipus de treball, ja que al realitzar-lo sola és necessari avançar de forma periòdica.

Pel que fa als coneixements teòrics adquirits durant la realització del treball, puc dir que estic satisfeta amb el resultat, ja que he pogut assolir els meus objectius i he après moltes coses que no sabia i que em semblen molt interessants. Crec que encara queda molt de camí en l'estudi de l'Ocratoxina-A i el vi, ja que hi ha molts punts que no estan regulats. Pel que fa a les micotoxines en general també queda un llarg curs en la implementació de mesures de control en els aliments i en el vi. A la UE només està regulat el contingut d'OTA en el vi, però no de la resta de micotoxines. Però a Espanya es regula també l'aflatoxina. També penso que avui en dia és important tenir en compte el risc que suposa la contaminació alimentària a partir de micotoxines com l'OTA, i que són necessaris més estudis en humans per tal de determinar la seva toxicitat.

Per últim m'agradaria agrair a la meva família, amics i tutor del treball el seu suport constant i motivació brindada per realitzar-lo.

6 BIBLIOGRAFIA

Articles científics:

- Bellver J, Fernández-Franzón M, Ruiz MJ, Juan-García A. Presence of ochratoxin a (OTA) mycotoxin in alcoholic drinks from southern european countries: Wine and beer. *J Agric Food Chem.* 2014;62(31):7643–51.
- Comuzzo P, Rauhut D, Werner M, Lagazio C, Zironi R. A survey on wines from organic viticulture from different European countries. *Food Control* 2013;34(2):274–82.
- Di Stefano V, Avellone G, Bongiorno D, Cunsolo V, Muccilli V, Sforza S, et al. Applications of liquid chromatography-mass spectrometry for food analysis. *J Chromatogr A* 2012;1259:74–85.
- Duarte SC, Lino CM, Pena A. Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products. *Vet J* 2012;192(3):286–92.
- Bezerra ME, Oliveiera F, Feitosa FE, Florindo MI, Rondina D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control* 2014;36(1):159–65.
- García-Cela E, Ramos AJ, Sanchis V, Marin S. Emerging risk management metrics in food safety: FSO, PO. How do they apply to the mycotoxin hazard? *Food Control* 2012;25(2):797–808.
- Petruzzi L, Sinigaglia M, Corbo MR, Campaniello D, Speranza B, Bevilacqua A. Decontamination of ochratoxin A by yeasts: Possible approaches and factors leading to toxin removal in wine. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2014;98(15):6555–67.
- Pitt JI, Taniwaki MH, Cole MB. Mycotoxin production in major crops as influenced by growing, harvesting, storage and processing, with emphasis on the achievement of Food Safety Objectives. *Food Control* 2013;32(1):205–15.
- Pizzutti IR, De Kok A, Scholten J, Righi LW, Cardoso CD, Necchi Rohers G, et al. Development, optimization and validation of a multimethod for the determination of 36 mycotoxins in wines by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 2014;129:352–63.
- Pozo-Bayón MÁ, Monagas M, Bartolomé B, Moreno-Arribas MV. Wine features related to safety and consumer health: an integrated perspective. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2012; 52(1):31–54.
- Quintela S, Villarán MC, López de Armentia I, Elejalde E. Ochratoxin A removal in wine: A review. *Food Control* 2013;30(2):439–45.
- Roland A, Bros P, Bouisseau A, Cavellier F, Schneider R. Analysis of ochratoxin A in grapes, musts and wines by LC-MS/MS: First comparison of stable isotope dilution assay and diastereomeric dilution assay methods. *Anal Chim Acta* 2014;818:39–45.
- Wu F, Groopman JD, Pestka JJ. Public health impacts of foodborne mycotoxins. *Annu Rev Food Sci Technol* 2014;5:351–72.

Altres:

- Codex Alimentarius. Prevención y Reducción de la Contaminación de los Alimentos y Piensos. 1ª edición. Roma, 2012.
- EFSA. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. The EFSA Journal (2006) 365, 1 – 56
- Elika. Fundació basca per la seguretat agroalimentària. Ocratoxina A. Març 2013.
- European Commission (2002) Reports on tasks for scientific cooperation. Report of experts participating in Task 3.2.7. Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states. Directorate-General Health and Consumer Protection, January 2002.
- Evaluation of certain food additives and contaminants sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2007).
- FAO. Basic facts on the world cereal situation. *Food Outlook* 1996, 5/6.
- FAO. *Manual sobre la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas*, No. 73; Estudio FAO Alimentación y Nutrición: Rome, Italy, 2003.
- FAO. Prevención y Reducción de la Contaminación de los Alimentos y Piensos. 2012.
- Gencat. Guia de bones practiques vinícoles. Quaderns tècnics de l'incanvi. Febrer, 2006.
- IARC (1993) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 56, Some Naturally Occurring Substances: Food Item and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, Lyon, IARCPress
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). (2002). Microbiological testing in food safety management In Microorganisms in foods, Vol. 7. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- OEMV. Observatorio Español del Mercado del Vino. El vino en cifras, estudio elaborado para vinos de España – ICEX, edición actualizada 30-03-2012; disponible a www.winesfromspain.com.
- OIV. International Organisation of Vine and Wine. Organización Intergubernamental. Análisis de la coyuntura mundial, 2012; disponible a <http://www.oiv.int/oiv/cms/index>.
- REGLAMENT (CE) No 1881/2006 DE LA COMISSIÓ de 19 de Desembre de 2006 pel qual es fixa el contingut màxim de determinats contaminants en els productes alimentaris.

LA PRESENCIA D'OCRATOXINA-A EN ELS VINS. REVISIÓ

- Blesa J, Soriano JM, Moltó JC Mañes J. Factores determinantes de ocratoxina A en vino. ACE enologia. 2011;10-2.
- Innocuïtat dels aliments. Nota descriptiva N°399. Desembre de 2015. World Health Organisation.