

Prevençió i reducció de micotoxines al llarg de la cadena alimentària

Informe aprovat pel Comitè Científic Assessor de Seguretat Alimentària en la reunió d' 1 de juny de 2016

Resum

Els agricultors, els ramaders, els operadors d'empresa alimentària i de fabricació de pinsos necessiten tenir a l'abast els coneixements necessaris per prevenir, reduir o evitar la contaminació per micotoxines dels seus productes.

Les micotoxines són substàncies molt estables i és molt difícil eliminar-les de l'aliment. Resisteixen pràcticament tots els processos de la indústria alimentària i, en tot cas, alguns d'aquests processos només aconsegueixen reduir-ne la concentració. Per això és tan important la prevençió del desenvolupament dels fongs en les matèries primeres.

La política de seguretat alimentària de la Unió Europea sempre ha apostat per aplicar mesures preventives per afrontar els perills alimentaris. Però, atès la magnitud del problema de les micotoxines, recentment s'ha obert la via d'aplicar tractaments de destoxicació per a matèries primeres destinades a pinsos. Aquest document, que va adreçat a l'agricultor i als operadors de la indústria alimentària i dels pinsos, documenta mètodes de prevençió i de reducció que es poden aplicar a Europa, així com altres mètodes que han demostrat ser eficaços experimentalment o estan permesos fora de la Unió Europea.

Paraules clau

Fongs, micotoxines, aliments, pinsos, destoxicació

Comitè Científic: Albert Bosch, Mariano Domingo Álvarez, José L. Domingo Roig, Rosaura Farré Rovira, Margarita Garriga Turón, Juan F. Gutiérrez Galindo, Santiago Lavín, Ramon Leonart Bellfill, Joan M. Llobet Mallafré, José Juan Rodríguez Jerez, Jordi Salas-Salvadó, Vicente Sanchis Almenar, Antonio Velarde Calvo, M. Carmen Vidal Carou i Abel Maríné Font (president).

Grup de treball: Vicente Sanchis Almenar (UdL) i Emilio Vicente Tascón (ACSA)

Membres de l'ACSA: Isabel Timoner Alonso i Victoria Castell i Garralda

Data de publicació: 21de setembre de 2016

Prevencción y reducción de micotoxinas a lo largo de la cadena alimentaria

Resumen

Los agricultores, los ganaderos, los operadores de empresa alimentaria y de fabricación de piensos necesitan tener a su alcance los conocimientos necesarios para prevenir, reducir o evitar la contaminación por micotoxinas de sus productos.

Las micotoxinas son sustancias muy estables y es muy difícil eliminarlas del alimento. Resisten prácticamente todos los procesos de la industria alimentaria y, en todo caso, algunos de dichos procesos solo consiguen reducir su concentración. Por ello es tan importante la prevención del desarrollo de los hongos en las materias primas.

La política de seguridad alimentaria de la Unión Europea siempre ha apostado por aplicar medidas preventivas para afrontar los peligros alimentarios. Sin embargo, vista la magnitud del problema de las micotoxinas, recientemente se ha abierto la vía de aplicar tratamientos de destoxicación para materias primas destinadas a piensos.

El presente documento, que va dirigido al agricultor y a los operadores de la industria alimentaria y de los piensos, documenta métodos de prevención y reducción que pueden aplicarse en Europa, así como otros métodos que han demostrado ser eficaces experimentalmente o están permitidos fuera de la Unión Europea.

Palabras clave

Hongos, micotoxinas, alimentos, piensos, destoxicación

[2]

Prevention and reduction of mycotoxins in the food chain

Summary

Farmers, ranchers, food business and feed manufacturing operators need to have available the necessary knowledge to prevent, reduce or prevent mycotoxin contamination of their products.

Mycotoxins are very stable substances and it is very difficult to remove them from food. They resist practically all food industry processes, and at any rate some of these processes are only capable to reduce its concentration. It is therefore important to prevent fungal growth in raw materials.

The European Union food safety policy has always been committed to implementing preventive measures to address food hazards. However, considering the magnitude of the problem of mycotoxins, recently it opened the way to implement detoxification treatments for raw materials used in feed.

The present document, which is addressed to farmers and operators of food and feed industries, documents methods of prevention and reduction that can be applied in Europe, as well as other methods that have proven to be experimentally effective or are either allowed outside the European Union.

Keywords

Fungi, mycotoxins, food, feed, detoxification

Alguns drets reservats

© 2016, Generalitat de Catalunya. Departament de Salut.

[4]



Aquesta obra està subjecta a una llicència de Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada 4.0 Internacional de Creative Commons

La llicència es pot consultar a: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.ca>

Edita:

Subdirecció General de Seguretat Alimentària (ACSA)

1a edició:

Barcelona, setembre de 2016

Assessorament lingüístic:

Secció de Planificació Lingüística del Departament de Salut

URL:

Index

Introducció	6
Factors que influeixen en el creixement de fongs productors i en la formació de micotoxines...9	
Mesures de prevenció	14
Durant l'emmagatzematge.....	15
Durant la fabricació.....	17
Mesures de destoxicació.....	19
Mesures de prevenció dels efectes de les micotoxines sobre els animals.....	21
Models de predicció per a la prevenció de la presència de micotoxines a les matèries primeres	23
Conclusions.....	24
Bibliografia.....	25

Introducció

Les micotoxines són substàncies químiques contaminants produïdes per fongs. Aquests fongs creixen durant la producció, la collita i l'emmagatzematge de cereals, llegums, tubercles i fruita. Les micotoxines poden causar trastorns de salut greus als animals i les persones que les ingereixen (Marin *et al.*, 2013).

No totes les espècies de fongs produeixen micotoxines, fins i tot podem trobar soques d'una espècie productora que no són capaces de produir-ne. Tampoc es coneixen els factors precisos que determinen quan un fong pot produir la micotoxina. Per tant, atès que no és possible anticipar si un fong que ataca un cultiu pot alliberar la micotoxina, sempre se n'ha d'evitar el creixement.

Els fongs que creixen sobre el producte són, en general, visibles. Sovint tenen un color llampant i afecten l'aparença, l'olor i el gust característics del producte. Les micotoxines no són visibles. Aquests tòxics romanen en el producte atacat, fins i tot quan el fong ha desaparegut. A més, no hi ha una correlació entre la quantitat de fong i la concentració de micotoxina en el producte; per això, l'anàlisi de la quantitat de fong no serveix com a indicador fiable de contaminació per micotoxines, atès que no totes les soques fúngiques són productores d'aquestes micotoxines, i encara sent-ho, s'han de produir les condicions per a aquesta producció. El problema és que les anàlisis són complexes, costoses i no detecten els compostos derivats, anomenats *micotoxines emmascarades*, dels quals se sospita que també tenen efectes tòxics.

Els fongs poden infectar els productes agrícoles durant el cultiu, la collita, l'emmagatzematge en sitges i la fabricació d'aliments. Tant abans de la collita com en l'emmagatzematge, el creixement de les floridures ve determinat per l'entorn, especialment per la disponibilitat d'aigua (activitat d'aigua), la temperatura i la composició gasosa de l'aire; per la interacció amb altres microorganismes i la presència d'artròpodes, i per les mesures adoptades per al control.

Alguns fongs són capaços de produir més d'una micotoxina i algunes micotoxines poden ser elaborades per més d'una espècie de fong. Per exemple, l'ocratoxina A és produïda per *Aspergillus ochraceus* en les regions tropicals i per *Penicillium verrucosum* en les regions temperades. No és infreqüent trobar més d'una micotoxina en un producte, particularment els cereals.

En l'actualitat s'han identificat unes 400 micotoxines elaborades per més de 100 espècies diferents de fongs. En la taula 1 es poden veure algunes

d'aquestes micotoxines i els principals fongs productors. No totes tenen una importància sobre la salut humana o animal i, per tant, econòmica. Entre les més importants hi ha les aflatoxines, la citrinina, les fumonisines, la ocratoxina A, els tricotecens (deoxinivalenol, nivalenol, toxina T2 i toxina HT2), la zearalenona, els alcaloides del sègol banyut i la patulina, per als quals la legislació europea ha establert continguts màxims en determinats aliments. Altres micotoxines d'importància són les toxines d'*Alternaria*, l'esterigmatocistina, l'àcid ciclopiazònic, la moniliformina, l'àcid penicílic i les toxines tremorgèniques.

Taula 1. Tipus de micotoxines, principals fongs productors i principals aliments afectats

Micotoxina	Fong	Aliments
Aflatoxina B₁, B₂, G₁ i G₂ (AF)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i> <i>Aspergillus nomius</i>	Cereals, fruita seca, llet, espècies, cafè
Alcaloides del sègol banyut	<i>Claviceps purpurea</i> (Europa)	Sègol, altres cereals i farratges
Citrinina(CIT)	<i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium camemberti</i> <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Monascus purpureus</i>	Arròs fermentat i cereals
Fumonisines (FUM)	<i>Fusarium verticillioides</i> <i>Fusarium proliferatum</i>	Blat de moro
Patulina(PAT)	<i>Penicillium expansum</i> <i>Byssochlamys fulva</i> <i>Byssochlamys nivea</i> <i>Paecilomyces variotii</i>	Poma, sidra i suc de fruita
Ocratoxina A(OTA)	<i>Aspergillus carbonarius</i> <i>Aspergillus stenyii</i> <i>Aspergillus westerdijkiae</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Penicillium nordicum</i>	Cereals, cafè, vi, panses, suc de raïm, espècies, fruita seca, cacau
Tricotecens del grup A (H2, HT2)	<i>Fusarium langsethiae</i> <i>Fusarium sporotrichioides</i>	Cereals
Tricotecens del grup B (nivalenol(NIV), deoxinivalenol(DON))	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium graminearum</i>	Cereals
Zearalenona(ZEA o ZEN)	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>Fusarium crookwallense</i> <i>Fusarium equiseti</i> <i>Fusarium cerealis</i> <i>Fusarium semisectum</i> <i>Fusarium oxysporum</i>	Cereals

Font: Marin *et al.* (2013)

Factors que influeixen en el creixement de fongs productors i en la formació de micotoxines

Els fongs productors de micotoxines creixen molt bé en determinades condicions ambientals (temperatura, humitat, fotoperíode, radiació solar), biològiques (microbiota competitiva, quantitat inicial d'inòcul, característiques de la soca invasora), edafològiques (tipus de sòl, tècnica d'arada, nutrients, humitat), tecnològiques (sistema de cultiu, tractaments antifúngics, tractaments plaguicides) i intrínseques de la planta (estrès hídric, resistència genètica). D'aquests factors, els agricultors poden incidir sobre alguns eficaçment per prevenir l'atac fúngic (Garcia, 2012):

- Resistència de la planta contra els fongs i les plagues: s'ha demostrat una correlació directa entre infecció fúngica i quantitat de micotoxina; i aquesta infecció és més gran en varietats poc resistents o danyades per l'acció d'una plaga.
- Manca de rotació de conreus: la quantitat d'inòcul present en el sòl és més baixa en el moment de la sembra si el conreu precedent és diferent, particularment, si no és un hoste de fongs productors de micotoxines, com ara el lli, la patata o l'alfals. El conreu continu d'un cereal incrementa la quantitat d'inòculs; amb els anys, arriba a un punt en què la rotació ja no resulta un mètode eficaç per reduir-ne la infecció i calen, per tant, altres tractaments.
- Preparació del sòl: el rostoll de plantes infectades és un reservori del fong; per això, convé enterrar-lo o eliminar-lo del camp per reduir el risc d'infecció del conreu nou.
- Estrès hídric: les plantes que pateixen un estrès hídric són molt susceptibles als atacs fúngics.
- Irrigació excessiva: la irrigació que mulla tota la planta durant l'època de floració i de maduració incrementa el risc i/o la gravetat de la infecció, sobretot si la temperatura ambiental és idònia (20-30 °C).
- Manca de nutrients i excés d'alguns nutrients: les plantes es debiliten si els manca algun nutrient. Per contra, s'ha de tenir en compte que l'excés d'alguns nutrients en el sòl pot ser tòxic per al cultiu.
- Males herbes: els fongs no només infecten plantes cultivables sinó també plantes silvestres i males herbes.
- Data de sembra i collita: la planificació de la sembra i la collita en funció de les condicions climàtiques locals permet obtenir grans amb un contingut d'humitat baix i un grau òptim de maduresa (Jard *et al.*, 2011).

En la sitja

Quan els grans de cereals o la fruita es recol·lecten, es conserven en sitges o magatzems durant un temps llarg fins que s'usen. Els fongs hi creixen perfectament si no es controlen les condicions ambientals (taula 3), temperatura, pH i de composició de l'aire, i el contingut deigua del gra, activitat d'aigua i contingut d'humitat (Magan i Lacey, 1988; Marin *et al.*, 1995).

- Contingut d'aigua

El contingut d'aigua es pot mesurar de dues formes, per mitjà de l'activitat d'aigua (a_w) i del contingut d'humitat (H%). L'activitat d'aigua es pot definir com el contingut d'aigua que està lliure, és a dir, no lligada a cap estructura o substància del gra i, per tant, es troba a disposició dels microorganismes per créixer-hi.

El contingut d'humitat és el contingut total d'aigua present en el gra, tant si està lliure com lligada dintre de les cèl·lules, estructures o substàncies. Aquests paràmetres tenen una relació directa; però és única per cada tipus de cereal i fruita. Per exemple, en la taula 2 es mostra l'equivalència entre el contingut d'humitat i l'activitat d'aigua del gra en el blat de moro.

Taula 2. Equivalència entre percentatge de humitat i activitat d'aigua en el blat de moro

Contingut d'humitat (H%)	Activitat d'aigua (a_w)
50	1
40	0,995
35	0,98
25	0,95
20	0,86
14	0,70

Font: Marin *et al.* (1995)

En la collita, és important assegurar-se que el contingut d'humitat del gra i la fruita seca sigui el més baix possible. Si el gra s'emmagatzema a una temperatura ambient de 20-25 °C, convé un contingut d'humitat inferior al 14,5%, en el cas dels cereals, i un contingut inferior al 7%, en el cas de la fruita seca. A un mateix contingut d'humitat, l'activitat d'aigua del gra s'incrementa quan la temperatura ambient augmenta, i viceversa. Així, un gra amb un 20% d'humitat té una activitat d'aigua de 0,79 a 15 °C, de 0,86 a 25 °C i de 0,89 a 40 °C. Aquest efecte és particularment notori a partir de

continguts d'humitat inferiors al 40% i varia segons l'estructura interna i la composició química de la varietat del gra (Maiorano i Mancini, 2010).

Els grans de cereals i llavors oleaginoses són organismes vius, en els quals es produeixen processos vitals com la respiració i la maduració postcollita. Contenen porus a través dels quals intercanvien oxigen, diòxid de carboni, aigua i energia tèrmica (fruit de la respiració) amb l'ambient (Magan i Lacey, 1988). Aquesta propietat higroscòpica és molt important durant el període d'emmagatzematge i és dependent de la temperatura ambient i de l'activitat d'aigua del gra. En ambients molt secs els grans cedeixen aigua i en ambients molt humits n'absorbeixen. En una sitja, la temperatura i activitat d'aigua del gra està en equilibri amb la temperatura i la humitat relativa de l'aire que envolta els grans. Com més baix siguin la temperatura i/o l'activitat d'aigua, l'absorció serà més lenta i més tard s'arribarà a l'equilibri. Així, si es manté constant la humitat relativa de l'aire per sota de 75%, s'aconsegueix mantenir l'activitat d'aigua del gra per sota de 0,75 al llarg del temps i, per tant, s'evita el creixement de fongs productors de micotoxines. Quan s'aconsegueix un equilibri per sota del 65% d'humitat relativa, no hi ha cap mena de creixement fúngic.

Durant la reacció de respiració es produeix diòxid de carboni, aigua i energia:



És per això que l'ambient de la sitja s'escalfa i s'humiteja durant l'emmagatzematge del gra. S'ha vist que la respiració disminueix a mida que l'activitat de l'aigua del gra s'abaixa. Aquest fenomen també s'esdevé quan la temperatura de l'ambient s'abaixa (Suleiman *et al.*, 2013).

Com a conclusió, és important emmagatzemar el gra quan té una baixa activitat d'aigua o contingut d'humitat, <14,5%, i en condicions de fred per evitar l'atac dels fongs. Quan això no sigui possible, s'ha de controlar la temperatura i la humitat relativa de l'ambient de la sitja i posar-hi mecanismes que les modifiquin (ventilació forçada, deshumidificadors...).

Un indicador de presència de micotoxines és la pèrdua de matèria seca del cereal emmagatzemat. En general, pèrdues entre 0,2 i 0,4% indiquen una baixa contaminació per micotoxines.

La concentració de diòxid de carboni també serveix com a indicador de la qualitat del gra. Una concentració normal, <500 ppm de CO₂ (5%), indica una absència de fongs o insectes i que el gra es va emmagatzemar amb un contingut d'humitat òptim. Concentracions més elevades indiquen la presència de fongs o insectes, així com que el gra emmagatzemat tenia un elevat contingut d'humitat en el moment de la càrrega de la sitja (Maier *et al.*, 2010).

- Temperatura

Els fongs creixen en un ampli interval de temperatura (10-35 °C). En general, la temperatura òptima de producció de les micotoxines és inferior a la del creixement del fong. La producció de diferents micotoxines per una mateixa espècie depèn de la temperatura.

- pH

Els fongs poden créixer en un ampli interval de pH, per la qual cosa no és possible modificar aquest paràmetre per inhibir el creixement del fong sense afectar les característiques de l'aliment. No obstant això, un pH àcid (≤ 4) disminueix marcadament la capacitat de creixement del fong i, si es combina amb una temperatura baixa o una reducció de l'activitat d'aigua de l'aliment, s'aconsegueix un efecte inhibitori més fort.

Taula 3. Factors de creixement per tipus de fong

Fong	Factors de creixement del fong (Factors de producció de micotoxina)							
	Temperatura (°C)			pH			aw	
	Mín.	Òpt.	Màx.	Mín.	Òpt.	Màx.	Mín.	Òpt.
<i>Aspergillus flavus</i>	10-12 (15)	33 (25-37)	43-48	2,1	7,5	11,2	0,78-084	0,97
<i>Aspergillus carbonarius</i>	10 (5)	30 (15-30)	45 (41)	2	5,6	10	0,85 (0,87)	0,96 (0,93)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	8	24-31	41	2,2	5,6	10	0,77 (0,85)	0,95
<i>Aspergillus parasiticus</i>	11	30	42	2	3-8	11	0,85	0,95
<i>Claviceps purpurea</i>		20		—	—	—	—	—
<i>Fusarium culmorum</i>	11	15-28	32				0,92	0,96
<i>Fusarium graminearum</i>	11	15-28	32	2,2	5-9	10,5	0,92	0,96
<i>Fusarium langsethiae</i>	10	15-25	36				0,92	0,98
<i>Fusarium proliferatum</i>	4	12-25	40-45	3,5	5,5	10,5	0,90	0,97
<i>Fusarium sporotrichioides</i>		15-25		3,3	6-9	10,5	0,96	0,99
<i>Fusarium verticillioides</i>	2	20-30	35				0,90	
<i>Penicillium citrinum</i>	5	25	37	2,3	4,4-6,6	10	0,80	0,89

<i>Penicillium expansum</i>	-6	23-27	30-35	2	5,6	10	0,82	0,98
<i>Penicillium verrucosum</i>	0	20	31	2,1	5,6	10	0,8 (0,86)	0,95 (0,92)

Font: Marín *et al.* (1995); Kokkonen *et al.* (2010).

Mesures de prevenció

El creixement fúngic es pot produir en totes les etapes de la cadena alimentària; és per això que tots els operadors han de preveure en els seus sistemes d'autocontrol aquest perill i les mesures que han d'adoptar per evitar, eliminar o reduir-ne el risc.

Durant el cultiu

La invasió del fong està influenciada per la salut de la planta. La invasió principalment es produeix per danys causats per insectes, rosegadors, ocells, pràctiques agrícoles deficientes (manca de nutrients, excés de fertilitzant, llavors contaminades) i condicions climàtiques adverses (sequera, inundacions).

La Comissió Europea (2006) i el Ministeri d'Agricultura (2015) recomanen les següents mesures preventives:

1. Ús de llavors certificades com a garantia d'absència de patògens.
2. Ús de varietats resistents a les malalties més comunes i adaptades a les condicions climàtiques de la zona.
3. Ús de reg, quan sigui possible, per controlar la humitat de la planta. L'estrès hídric afavoreix l'atac del fong. No convé regar per aspersió en el moment de la floració, per reduir el risc d'infecció de les espigues mullades. Tampoc convé un excés de reg per evitar zones entollades.
4. Gestió integrada de plagues per controlar i eradicar malalties i plagues (insectes, males herbes) dels cultius.
5. Enterrament del rostoll després de la collita, per evitar que proliferi el fong i dispersi espores per la superfície del camp. Com més profund, menys risc de contaminació. Aquesta pràctica és convenient sobretot entre dos cultius cerealístics seguits.
6. Rotació de cultius, quan sigui possible. La plantació de cultius consecutius de cereals, com ara panís-blat o blat i un altre cereal de gra petit, solament s'ha de fer després d'una avaluació del risc d'infecció, ja que els cereals comparteixen fongs patògens comuns, particularment fongs del gènere *Fusarium*. Per reduir el risc de contaminació, sobretot en els cereals d'hivern, convé plantar patates, remolatxa, trèvol, alfals o hortalisses entre cultius cerealístics.
7. Fertilització correcta del sòl. Es recomana analitzar la presència de nutrients, perquè no en faltin en cap moment del desenvolupament de la planta i perquè s'utilitzi la quantitat necessària. Tant la manca com l'excés de nutrients debiliten la planta i, per tant, afavoreixen l'atac del fong.

8. Densitat de cultiu adequada. La superpoblació de plantes pot crear un microclima en el cultiu que afavoreixi el creixement de fongs o pot debilitar les plantes per manca de llum, de nutrients o d'aigua.
9. Control de males herbes. Una densitat elevada de males herbes, en especial, les de fulla ampla, incrementa la infecció per *Fusarium*.

Durant la collita

La FAO (2007) i la UE (2006) recomanen aplicar les següents mesures preventives:

1. Per als cereals, la fruita seca i les llavors oleaginoses:
 - a) Recol·lecció ràpida quan el gra és sec. La demora en la collita afavoreix l'atac de plagues, o de fongs si les condicions climàtiques es tornen humides.
 - b) Manteniment adequat de les batedores per evitar trencaments del gra.
 - c) Assecatge ràpid del gra recol·lectat, si té una activitat d'aigua superior a 0,7 o un contingut d'humitat superior al 14,5%, mitjançant aire calent, abans de guardar-lo en les sitges. La collita s'ha de planificar en funció de la capacitat de les assecadores disponibles.
 - d) Rebuig de la recol·lecció de l'ajagut del cereal, sobretot si el gra és humit i hi ha signes de brots fúngics (Yang *et al.*, 2011).
 - e) Tria del cereal. Retirada del cereal petit i rugós ajustant correctament la batedora-recol·lectora.
2. Per a la fruita:
 - a) Recol·lecció ràpida.
 - b) Rebuig de la recol·lecció de la fruita caiguda o atacada.
 - c) Embalatge curós per evitar cops.
 - d) Transport ràpid i conservació frigorífica.

Durant l'emmagatzematge

A Europa les mesures que es poden utilitzar en cereals i altres aliments destinats a consum humà es basen en el control de les condicions ambientals (Chulze, 2010):

1. Control de la temperatura i de la humitat de la sitja de cereals o del magatzem de fruita.
2. Control de plagues: el diòxid de carboni s'utilitza per tractar plagues d'insectes en les sitges. Una concentració superior al 35% durant 15 dies a temperatura ambient elimina els insectes (Champ *et al.*, 1989).

3. Ús d'atmosferes controlades o de buit: la concentració de diòxid de carboni i d'oxigen influeix en el creixement d'*Aspergillus flavus* i en la producció d'aflatoxines. Per exemple, una concentració del 20% de diòxid de carboni disminueix la producció d'aflatoxines i, molt acusadament, el creixement del fong. Una reducció de la concentració d'oxigen fins al 10% en disminueix la producció i el creixement, mentre que una reducció fins a menys de l'1% inhibeix per complet tant el creixement com la producció (Ruiqian *et al.*, 2004). *Penicillium* spp. no creix en atmosferes amb un 55-60% de diòxid de carboni. Una reducció de la concentració d'oxigen per sota de l'1% alenteix el creixement dels fongs presents en el blat i en l'arròs, especialment si tenen, a més, una baixa activitat d'aigua. La producció d'ocratoxina A queda inhibida a partir de concentracions $\geq 30\%$ de diòxid de carboni, mentre que concentracions $\geq 60\%$ inhibeixen parcialment el creixement del fong i concentracions de $\geq 80\%$ l'inhibeixen completament. La formació de patulina disminueix fortament a concentracions de diòxid de carboni $\geq 20\%$ o concentracions d'oxigen $\leq 5\%$. *Fusarium* spp. en disminueix el creixement en atmosferes amb $\geq 60\%$ de diòxid de carboni i també la formació de micotoxina (Champ *et al.*, 1989). La producció de T2 per *Fusarium sporotrichioides* es veu força reduïda en atmosferes amb 50% de diòxid de carboni i 20% d'oxigen o bé 40% de diòxid de carboni i 5% d'oxigen, i completament amb $>60\%$ de diòxid de carboni. La formació de zearalenona per *Fusarium equiseti* queda inhibida en atmosferes amb $>20\%$ de diòxid de carboni i la formació de fumonisines amb $>30\%$ (Magan i Aldred, 2007).

Es necessita un període de temps d'exposició perquè l'ús de diòxid de carboni sigui efectiu contra els insectes (Canadian Grain Commission, 2014). El període depèn de la concentració del gas, de la temperatura del gra, del contingut d'humitat del gra i de les espècies de fong que colonitzen el gra (taula 4).

Taula 4. Condicions de fumigació amb diòxid de carboni per al control d'insectes

Temperatura del gra (°C)	Concentració de CO ₂ (%)	Dies d'exposició
40	60	1
25	60	5
20	60	14
10-20	60	14-56

Font: Canadian Grain Commission (2014).

Mesures no autoritzades a Europa per a aliments de consum humà que han demostrat eficàcia *in vitro* i, en molts casos, *in vivo*, són: l'ús d'acidificants, olis essencials per contacte o per vapor, antioxidants, ozó, hidròxid de sodi, etanol, sulfits, etc., per prevenir el creixement del fong en la sitja o magatzems, i per allargar el període d'emmagatzematge de la fruita destinada a transformació (López Reyes *et al.*, 2010; Dao i Dantigny, 2011; Stoev, 2013; Velázquez-Nuñez *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2014). A més de l'eficàcia, s'ha de tenir en compte si aquests tractaments causen canvis organolèptics en els productes a les concentracions letals per als fongs.

Les mesures que es poden utilitzar en cereals i altres productes destinats al consum animal són les següents:

1. Ús de microorganismes atoxígens competitiu per prevenir el creixement del fong: *Rhodotorula glutinis*, *Enterococcus faecium*, espècies dels gèneres *Saccharomyces*, *Monascus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyrovibrio*, etc. (Ruiqian *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2014).
2. Ús de microorganismes atoxígens competitiu per prevenir la formació d'aflatoxines: *Bacillus subtilis* (Ruiqian *et al.*, 2004), *Streptococcus lactis*, espècies d'*Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. chevalieri*), de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. viride*).

Durant la fabricació

1. Ús de tractaments tecnològics antifúngics:
 - a) Rentatge i desinfecció.
 - b) Eliminació de les capes externes del cereal, de les parts afectades de fruita i de la fruita seca danyada o degenerada.
 - c) Altes pressions hidrostàtiques: la combinació amb olis essencials permet un tractament més suau.
 - d) Fermentació: ús de soques de ferments, com ara *Saccharomyces cerevisiae* (Valle-Algarra *et al.*, 2009), que adsorbeixen i/o degraden les micotoxines, especialment d'ocratoxina A. (Els tricotecens de tipus B no semblen afectats pels microorganismes fermentadors usats per la indústria flequera.)
 - e) Cocció: les temperatures de 200 °C poden reduir un 24-75% els tricotecens tipus B i un 33% l'ocratoxina A (Kaushik, 2013; Valle-Algarra *et al.*, 2009). La presència de sucres, com la glucosa, o d'additius, com els bisulfits, afavoreix una major reducció de micotoxines, particularment d'aflatoxines (Kaushik, 2013)

- f) Pasteurització junt amb olis essencials: aquesta combinació permet disminuir la relació temperatura/temps per aconseguir el mateix efecte letal contra fongs (Espina *et al.*, 2011).
- g) Ús d'additius antifúngics: derivats de l'àcid benzoic i parahidroxibenzoic (E 210 a 219), àcid acètic i derivats (E 260 a E 270), àcid propiònic i derivats (E280 a E 282), butilhidroxianisol (E 320) i butilhidroxitoluè (E 321), natamicina (E 235).

2. Control de la temperatura.

3. Control de l'activitat d'aigua del producte.

4. Control del pH.

Envasat en una atmosfera controlada o al buit: atmosferes amb <1% d'oxigen o amb un 60% de diòxid de carboni inhibeixen la proliferació dels fongs i redueixen acusadament la producció de micotoxines (Ruiquian *et al.*, 2004).

5. Selecció de grans per mètodes de flotació: ús d'un líquid amb una gravetat específica entre 0,9 i 1,2 g/cm³ que deixa flotant les llavors atacades pels fongs i en el fons les llavors no afectades (He i Zhou, 2010).

6. No s'ha de fer servir fruita amb signes de podridura per elaborar suc.

Mesures de destoxicació

Els tractaments de destoxicació, a diferència dels processos simples que formen part del procés de fabricació del pinso (refinació, neteja, selecció, extracció mecànica), no estan permesos a la UE. No obstant això, la Directiva 2002/32/CE sobre substàncies indesitjables en l'alimentació animal preveu que la Comissió Europea pugui definir criteris d'acceptabilitat dels processos de destoxicació per als productes destinats a l'alimentació animal. Recentment, aquests criteris s'han establert per mitjà del Reglament (UE) núm. 2015/786 de la Comissió pel qual es defineixen els criteris d'acceptabilitat dels processos de destoxicació aplicats als productes destinats a l'alimentació animal. L'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA) s'ha d'ocupar de l'avaluació científica dels processos químics, físics i biològics de destoxicació per determinar que el procés de destoxicació és eficaç i irreversible, no dona lloc a la presència de substàncies nocives i no afecta negativament les característiques dels pinsos.

La radiació solar s'utilitza per reduir parcialment la contaminació per aflatoxines de productes de zones tropicals, com ara el coco, el cacauet, el panís o el sèsam.

Altres tractaments que s'han provat a nivell de laboratori o que s'utilitzen en països de fora de la UE són:

1. Tractament amb raigs X de cereals: s'ha provat que les aflatoxines B₁ i G₂ són més sensibles.
2. Tractament de cereals amb llum per pulsacions. Aquest tractament simula la radiació solar, amb l'avantatge que no produeix calor sobre el producte (Agro-Hall, 2015).
3. Ús de solvents d'extracció, com ara l'etanol, l'isopropanol o el metoximetà. És efectiu contra aflatoxines i altres micotoxines; però no s'usa industrialment, perquè no és rendible econòmicament.
4. Ús d'àcids orgànics per degradar l'ocratoxina A: àcid fòrmic al 0,25% durant 3 hores d'exposició, d'àcid propiònic i sòrbic a l'1% durant 24 h i àcid benzoic al 0,5% durant 24 h.
5. Tractaments amb peròxid d'hidrogen al 3-6% per a cacauet, panís contaminat (FAO, 1999) amb fumonisines o zearalenona (He i Zhou, 2010); hidròxid de calci (llavors oleaginoses contaminades amb aflatoxines); monometilamina (panís contaminat amb fumonisines); bisulfit de sodi (figues seques, panís contaminat amb aflatoxines i deoxinivalenol); bicarbonat de sodi (panís contaminat amb fumonisines). Aquests tractaments s'utilitzen a Mèxic, Estats Units i Sud-àfrica.

6. Tractament amb amoníac (3-6%) de cereals, cacauets i pinsos per degradar ocratoxina A, aflatoxines i fumonisines. L'amoníac també és antifúngic. Aquest tractament pot tenir efectes negatius sobre la composició nutricional de pinsos per una pèrdua d'aminoàcids sulfurosos i de lisina. A més, convé airejar després del tractament per reduir la concentració d'amoníac i millorar el gust del pinso.

En sucus destinats al consum humà s'ha provat amb èxit:

1. Tractament de sucus i altres aliments líquids amb raigs UV (Agro-Hall, 2015).
2. Tractament de sucus i altres aliments líquids amb resines (He i Zhou, 2010) i altres materials adsorbents com les zeolites (Yang *et al.*, 2014). És molt eficaç per extreure la patulina del suc de poma.

Mesures de prevenció dels efectes de les micotoxines sobre els animals

1. Ús d'additius inorgànics segrestants de micotoxines en el sistema digestiu, com les argiles, zeolites, bentonites, sepiolites (He i Zhou, 2010), polímers de pirrolidona, els silicats de sodi, alumini, calci, hidratats (Devreese *et al.*, 2013), carbó activat i nanodiamants modificats (Kolossova i Stroka, 2011). En general, són eficaces solament contra les aflatoxines, llevat del carbó activat que és eficaç contra totes les micotoxines, però té l'inconvenient que absorbeix vitamines i minerals de la dieta.
2. Ús de colestiramina. Aquesta resina d'intercanvi aniònic absorbeix ocratoxina A, zearalenona i fumonisines en el tracte intestinal d'espècies monogàstriques (Jard *et al.*, 2011; Kolossova i Stroka, 2011).
3. Ús d'additius orgànics segrestants de micotoxines, com ara el glucomannan de konjac, β -glucans i parets cel·lulars de *Saccharomyces cerevisiae*. Els dos primers segresten les micotoxines, fins i tot a la sang (Devreese *et al.*, 2013).
4. Ús d'antídots per contrarestar els efectes tòxics: vitamina C, extracte hidrosoluble de carxofa, extracte d'all i rosa canina i Roxazyme-G (preparació enzimàtica a base d'endoglucanases, xilanases, cel·luloses, amilases i pectinases). Aquestes substàncies s'han provat en avicultura amb èxit contra els efectes de l'ocratoxina A (Devreese *et al.*, 2013). L'ús de glucamannans amb seleni s'ha utilitzat per prevenir els efectes hepatotòxics de la micotoxina T-2 en avicultura (Kolossova i Stroka, 2011)
5. Tractament amb àcids taurocòlic, glucurònic i sulfúric, els quals es conjuguen amb les micotoxines per donar compostos menys tòxics que s'eliminen per la bilis o l'orina.
6. Ús de microorganismes destructors de micotoxines: l'únic autoritzat a Europa és el microorganisme *Eubacterium* DSM 11798, utilitzat per degradar tricotecens (EFSA, 2013). *Trichosporon mycotoxinivorans* és eficaç contra el deoxinivalenol, l'ocratoxina A i la zearalenona (Kolossova i Stroka, 2011) i es comercialitza actualment fora de la UE (Devreese *et al.*, 2013) amb el nom de Mycofix Plus MTV. S'ha demostrat experimentalment in vitro que microorganismes probiòtics d'ús en pinsos com els lactobacils també transformen les micotoxines (Kolossova i Stroka, 2011), així com *Bacillus licheniformis*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (Abrunhosa *et al.*, 2010) i *Enterococcus faecium*. Altres microorganismes no autoritzats com ara additius en pinsos però amb activitat antimicotoxina són: *Flavobacterium aurantiacum*, *Phenyllobacterium immobile*, *Acinetobacter calcoaceticus* i espècies dels

gèneres *Aspergillus*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Phaffia*, *Penicillium* i *Rhizopus* (Devreese et al., 2013; Yang et al., 2014).

7. Ús d'additius per degradar micotoxines: Fumzyme® és un enzim produït pel microorganisme *Komagataella pastoris* (antigament, *Pichia pastoris*, EFSA, 2014) amb gens del bacteri *Sphingopxis* sp. MTA 144. S'utilitza per degradar fumonisines presents en els pinsos.

Models de predicció per a la prevenció de la presència de micotoxines a les matèries primeres

Les bones pràctiques agrícoles sovint no són suficients per garantir un gra amb un contingut de micotoxines per sota del límit establert per les autoritats. És llavors quan l'aplicació d'un model predictiu que integri les variables o factors agronòmics i ambientals pot proporcionar una alerta primerenca per a un nivell de risc inacceptable de micotoxines i pot permetre al productor gestionar el risc mitjançant, per exemple, l'aplicació d'un tractament plaguicida en el moment més efectiu per aconseguir el control de la infecció fúngica o ajudar a la determinació del moment més adequat per realitzar la collita d'aquest gra, entre uns altres.

Els models de predicció per a la prevenció de la presència de micotoxines en cereals i fruita seca al camp s'han anat desenvolupant els darrers anys, centrats principalment en la prevenció d'aflatoxines, deoxinivalenol, fumonisines i ocratoxina A. Aquests models es basen o bé en dades recollides en el passat pel que fa a condicions meteorològiques i agronòmiques (varietats emprades, reg, tractament de plagues...) i de contaminació per micotoxines, i es fan prediccions per al present, o bé es construeixen basats en els coneixements científics del comportament dels fongs productors, de manera que, sabent les condicions meteorològiques i del cultiu, es pot fer la predicció del punt de desenvolupament del fong i del risc de producció de micotoxines.

Mundialment, hi ha alguns models desenvolupats per predir nivells de deoxinivalenol en blat. El DONcast és el model més conegut i que s'ha desenvolupat a Canadà per ajudar els productors a determinar el millor moment per tractar el blat i evitar la contaminació per aquesta micotoxina produïda per espècies de *Fusarium* (Hooker *et al.*, 2002). El model AFLA-maize ha estat desenvolupat per investigadors italians per a blat de moro i aflatoxines produïdes per espècies d'*Aspergillus* secció *Flavi* (*A. flavus*, *A. parasiticus* i *A. nomius*) (Battilani *et al.*, 2008 i 2013). Alguns d'aquests models poden ser utilitzats per predir la contaminació d'aquestes micotoxines en futurs escenaris climàtics.

També s'està treballant en el desenvolupament de models predictius aplicables a les etapes d'emmagatzematge i processament dels cereals i fruita seca. La finalitat d'aquests models és ajudar a definir les condicions d'emmagatzematge segur i el temps màxim controlant bàsicament la temperatura i la humitat del gra. D'altra banda, a les indústries de transformació es poden predir quines condicions de tractament s'haurien d'utilitzar per aconseguir la major reducció possible de la contaminació de micotoxines presents a les matèries primeres amb la finalitat de no superar els objectius de seguretat alimentària per als productes acabats.

Conclusions

La prevenció és l'estratègia clau per evitar o reduir la contaminació de micotoxines al llarg de la cadena alimentària. S'ha de tenir present que els fongs són microorganismes ubiqüitaris i, per tant, no és possible eliminar-los de la cadena alimentària en condicions reals. Però es pot incidir en els factors ambientals que modulen el creixement fúngic per aconseguir que els fongs no es desenvolupin en quantitats que posin en perill el producte.

En el camp, els factors climàtics, sobre els quals no es pot actuar, són els més importants per al desenvolupament del fong. Per això és important utilitzar eines predictives, a fi de decidir a temps aplicar un tractament fúngic o collir el cereal abans no hi creixi el fong. La rotació adequada de cultius, la varietat de cereal resistent i el control de plagues són altres factors importants que cal tenir present. Durant la collita, la retirada del gra i la fruita petita, malmesos o trencats, i l'assecatge fins a un contingut d'humitat òptim són mesures eficients i econòmiques per frenar la contaminació.

Els tres factors més importants sobre els quals es pot incidir en els magatzems per evitar el creixement dels fongs són el contingut d'aigua del gra, la composició de l'atmosfera que envolta els grans i la presència de plagues. L'ús de atmosferes controlades (diòxid de carboni, percentatge d'humitat, temperatura) o de buit permet aturar la formació del fong o de la producció de micotoxines i també permet prevenir l'atac de plagues. És un sistema preventiu idoni per a cereals destinats a l'alimentació humana. Aquest sistema requereix unes sitges modernes i estanques i, consegüentment, el cost pot ser prohibitiu per als cereals destinats als pinsos. L'ús de substàncies (enzims, conservants, microorganismes) que degraden les micotoxines o impedeixen el creixement fúngic ha donat bons resultats experimentalment, però no s'han utilitzat a escala industrial pel cost elevat o la dificultat d'ús. L'ús d'olis essencials en forma de vapor podria ser una forma més econòmica per la menor quantitat necessària i la facilitat d'ús.

Els tractaments de destoxicació en alimentació animal són una altra via prometedora que recentment ha obert la Comissió Europea. Atesa la dependència d'Europa de les importacions de cereals, aquests tractaments permetran obtenir recursos amb la màxima eficiència econòmica i de seguretat.

Bibliografia

Abrunhosa L, Paterson RR, Venâncio A. Biodegradation of ochratoxin A for food and feed decontamination. *Toxins (Basel)*. 2010 ;2(5):1078-99.

Agro-Hall [Internet]. Évreux: Agro-Hall; 2015. Mycotoxine decontamination et destruction; [citad 14 des 2015]. Disponible a: <http://www.agrohall.fr/mycotoxine-decontamination.html>

Battilani P, Barbano C, Piva G. Aflatoxin B1 contamination in maize related to the aridity index in North Italy. *World Mycotoxin J*. 2008;1:449-456.

Battilani P, Camardo Leggieri M, Rossi V, Giorni P. AFLA-maize, a mechanistic model for *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin B1 contamination in maize. *J Comp Electron Agric*. 2013;94:38-46.

Canadian Grain Commission. Fumigation with CO₂ for stored product insect control. Canadian Grain Commission; 2014. [citad 14 des 2015]. Disponible a: http://umanitoba.ca/faculties/engineering/departments/biosystems/pdf/Fumigation_with_CO2.pdf

Champ BR, Highley E, Banks HJ. Fumigation and controlled atmosphere storage of grain. Actes de la International Conference; 1989 Feb 14-18; Singapore. Sponsored by the Australian Centre for International Agriculture Research and National University of Singapore.

Chulze SN. Strategies to reduce mycotoxins levels in maize during storage: a review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2010;27(5):651-7.

Dao T, Dantigny F. Control of food spoilage fungi by ethanol. *Food Control*. 2011;22:360-8.

Devreese M, De Backer P, Croubels S. Different methods to counteract mycotoxin production and its impact on animal health. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 2013;82:181-90.

EFSA. Scientific opinion on the safety and efficacy of micro-organism DSM 11798 when used as a technological feed additive for pigs. EFSA; 2013.

EFSA. Scientific opinion on the safety and efficacy of fumonisin esterase (FUMzyme®) as a technological feed additive for pigs. EFSA; 2014.

Espina L, Somolinos M, Lorán S, Conchello P, García D, Pagán R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their

antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*. 2011;22:896-902.

FAO. Table 3.1 European Community intervention regulations on minimum quality standards. A: Grain storage techniques. Grain standards; 1994. [citat 14 des 2015]. Disponible a: <http://www.fao.org/docrep/t1838e/T1838E0i.htm#Grain%20standards>

FAO. Training manual on-farm mycotoxin control in food and feed Grain; Rome: FAO; 2007. [citat 14 des 2015]. Disponible a: <http://www.fao.org/3/a-a1416e.pdf>

Garcia D. 2012 Predictive mycology and use of natural antifungals to prevent the mycotoxin food hazards. [tesi]. Lleida: Universitat de Lleida; 2012.

García-Cela E, Ramos AJ, Sanchis V, Marín S. Risk management towards food safety objective achievement regarding to mycotoxins in pistachio: The sampling and measurement uncertainty issue. *Food Control*. 2013;31:392-402.

He J, Zhou T. Patented techniques for detoxification of mycotoxins in feeds and food matrices. *Recent Pat Food Nutr Agric*. 2010;2(2):96-104.

Hooker DC, Schaafsma AW, Tamburic-Ilincic L. Using weather variables pre- and post-heading to predict deoxynivalenol content in winter wheat. *Plant Disease*. 2002;86:611-9.

Jard G, Liboz T, Mathieu F, Guyonvarc'h A, Lebrihi A. Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by absorption or transformation. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2011;28(11):1590-609.

Kaushik G. Effect of processing on mycotoxins content in grains. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015;55(12):1672-83.

Kokkonen M, Ojala L, Parika P, Jestoi M. Mycotoxin production of selected *Fusarium* species at different culture conditions. *Int J Food Microbiol*. 2010 Sep 30;143(1-2):17-25.

Kolosova A, Stroka J. Substances for reduction of the contamination of feed by mycotoxins: a review. *World Mycotoxin J*. 2011;4(3):225-56.

Lopez-Reyes JG, Spadaro D, Gullino ML, Garibaldi A. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples in vivo. *Flavour Fragrance J*. 2010;25:171-7.

Maiorano A, Mancini MC. Water relationship and temperature interactions in maize grain during maturation. *Field Crop Res*. 2010;119: 304-7.

Magan N, Lacey J. 1988. Ecological determinants of mould growth in stored grain. *Int J Food Microbiol.* 1988;7(3):245-56.

Magan N, Aldred D. Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. *Int J Food Microbiol.* 2007; 20;119(1-2):131-9.

Maier DE, Channaiah LH, Martinez-Kawas A, Lawrence JS, Chaves EV, Coradi PC, et al. Monitoring carbon dioxide concentration for early detection of spoilage in stored grain. A: Actes de la 10 th International Working Conference on Stored Product Protection; 2010 27 Juny a 2 Jul; Estoril, Portugal. Berlin: Julius-Kühn-Institut; 2010. p. 505-9.

Marín S, Sanchis V, Magan N. 1995. Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Can J Microbiol.* 1995 ;41(12):1063-70.

Marín S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem Toxicol.* 2013 ;60:218-37.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Guía de buenas prácticas de higiene en la producción primaria agrícola. Madrid: Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente; 2015.

[Recomendación 2003/598/CE](#) de la Comisión de 11 de agosto de 2003 relativa a la prevención y la reducción por la contaminación de patulina del zumo de manzana y los ingredientes de zumo de manzana en otras bebidas. DOUE L, n.º 203, (12/8/2003).

[Recomendación 2006/583/CE](#) de la Comisión de 17 de agosto de 2006 sobre la prevención y la reducción de las toxinas de *Fusarium* en los cereales y los productos a base de cereales. DOUE L n.º 234, (29/8/2006).

Reglamento (UE) 2015/786 de la Comisión de 19 de mayo de 2015 por el que se definen los criterios de aceptabilidad de los procesos de detoxificación aplicados a los productos destinados a la alimentación animal, de conformidad con lo dispuesto en la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. DOUE L, n.º 125, (21/5/2015).

Riley RT, Norred WP. Prevención y descontaminación de micotoxinas. Estudio monográfico: el maíz. A: Tercera Conferencia Internacional Mixta FAO/OMS/PNUMA sobre Micotoxinas. MYC/CONF/99/6b.

Ruiqian L, Qian Y, Thanaboripat D, Thansukon P. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *KMITL Sci Technol J.* 2004;4:1685-2044.

Stoev S. Food safety and increasing hazard of mycotoxin occurrence in foods and feeds. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013;53(9):887-901.

Suleiman R, Rosentrater K, Bern C. Effects of deterioration parameters on storage of maize: a review. *J Nat Sci Res.* 2013;3:147-65.

Valle-Algarra FM, Mateo EM, Medina A, Gimeno-Adelantado JV, Jimenez M. 2009. Changes in ochratoxin A and type B trichothecenes contained in wheat flour during dough fermentation and bread-baking. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2009 ;26(6):896-906.

Velázquez-Núñez MJ, Ávila-Sosa R, Palou E, López-Malo A. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. Short Communication. *Food Control.* 2013 31(1):1-4.

Yang J, Li J, Jiang Y, Duan X, Qu H, Yang B, et al. Natural occurrence, analysis and Prevention of Mycotoxins in Fruits and their Processed Products. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014;54(1):64-83.